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

Том 24, № 1. С. 1-210

2022

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

МЕДИЦИНСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

Данный выпуск реализован при финансовой поддержке Правительства Санкт-Петербурга



ТАКЗАЙРО ДАЕТ ВОЗМОЖНОСТЬ ИЗБЕЖАТЬ АТАК НАО, ПОЗВОЛЯЯ ПАЦИЕНТУ ВЕСТИ НОРМАЛЬНЫЙ ОБРАЗ ЖИЗНИ

Профилактика приступов с применением 1 подкожной инъекции для самостоятельного введения каждые 2 недели[1]

87% ОТНОСИТЕЛЬНОЕ СНИЖЕНИЕ ЧАСТОТЫ ПРИСТУПОВ (p<0,001)

В 7 РАЗ ВЫШЕ ВЫШЕ КАЧЕСТВО ЖИЗНИ У ПАЦИЕНТОВ* по сравнению с плацебо

КАЖДЫЕ **2 НЕДЕЛИ** инъекция

3 ВАРИАНТА МЕСТА ИНЪЕКЦИИ: абдоминальная зона, зона бедра или зона плеч

Рекомендуемая начальная доза 300 мг каждые 2 недели. При стабильном отсутствии приступов на фоне терапии можно рассматривать сокращение дозы на 300 мг каждые четыре недели, особенно у пациентов с низким весом. ТАКЗАЙРО показан для профилактики рецидивирующих приступов наследственного ангиоотека (НАО) у пациентов в возрасте 12 лет и старше.[1]

ТАКЗАЙРО может вводиться пациентом самостоятельно или опекуном только после обучения врачом технике подкожной инъекции[1]

*В клинических исследованиях инъекция для самостоятельного введения ТАКЗАЙРО у большинства пациентов занимала от 10 до 60 секунд.[1]

1. TAKHZYRO (lanadelumab) Summary of Product Characteristics. November 2018. 2. TAKHZYRO (lanadelumab-flyo) (prescribing information). Lexington, MA: Shire LLC, 2018. 3. Инструкция по медицинскому применению Такзайро: https://grls.minzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=... Регистрационный номер: П П-006676. **Международное непатентованное название:** ланаделумаб **Лекарственная форма:** раствор для подкожного введения. **Фармакотерапевтическая группа:** наследственного ангионевротического отека (НАО): средство лечения. **Фармакологические свойства.** Ланаделумаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело (иммуноглобулин G1 (IgG1) / κ-легкая цепь), при производстве которого используется технология рекомбинантной ДНК в клетках яичников китайских хомячков (CHO). Ланаделумаб ингибирует протеолитическую активность активированного калликреина в плазме. Повышение активности калликреина в плазме вызывает приступ ангионевротического отека у пациентов с НАО с последующим образованием расщепленного кининогена с высокой молекулярной массой (cleaved High Molecular Weight Kininogen, cHMWK). Ланаделумаб обеспечивает длительный контроль активности калликреина в плазме и тем самым ограничивает образование брадикинина у пациентов с НАО. **Фармакодинамика:** зависимая от концентрации препарата Такзайро степень ингибирования калликреина в плазме, измеренная как снижение концентрации cHMWK, была продемонстрирована после подкожного введения препарата в дозе 150 мг 1 раз в 4 недели (1 раз/4 нед), 300 мг 1 раз в 4 недели (1 раз/4 нед) или 300 мг 1 раз в 2 недели (1 раз/2 нед) пациентам с НАО. **Клиническая эффективность и безопасность.** Эффективность и безопасность ланаделумаба подтверждены, главным образом, результатами исследований HELP, которое представляло собой многоцентровое рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование в параллельных группах с участием 125 пациентов (115 взрослых и 10 подростков) с НАО I или II типа. Среднее снижение частоты атак НАО было стабильно выше в группах терапии препаратом Такзайро по сравнению с группой плацебо, независимо от указания в анамнезе на длительную профилактическую терапию, наличия перинатальных атак или их частоты во время вводного периода. Доля пациентов, у которых отсутствовали приступы в течение последних 16 недель исследования (со дня 70 до дня 182), составила 77% в группе лечения препаратом в дозе 300 мг 1 раз/2 нед по сравнению с 9% пациентов в группе плацебо. 100% пациентов, получавших препарат в дозе 300 мг 1 раз/2 нед или 1 раз/4 нед, и 89% пациентов, получавших препарат в дозе 150 мг 1 раз/4 нед, достигли как минимум 50% снижения частоты приступов НАО по сравнению с вводным периодом. Во всех группах терапии препаратом Такзайро наблюдалось улучшение общей оценки с помощью вопросника «Качество жизни у пациентов с ангионевротическим отеком (AE-QoL)». Долгосрочные безопасность и эффективность профилактической терапии препаратом Такзайро для предупреждения приступов НАО оценивали в открытом продленном исследовании HELP. **Показания к применению:** препарат Такзайро показан для профилактики рецидивирующих приступов наследственного ангионевротического отека у пациентов в возрасте 12 лет и старше. **Противопоказания:** повышенная чувствительность к ланаделумабу или любому из вспомогательных веществ, детский возраст до 12 лет (недостаточно клинических данных), беременность и период грудного вскармливания. **Применение при беременности и в период грудного вскармливания. Беременность.** Данные о применении ланаделумаба у беременных женщин либо отсутствуют, либо крайне ограничены. Исследования, проведенные на животных, не выявили прямого или косвенного токсического влияния препарата на репродуктивную функцию и развитие плода. В исследованиях пре- и постнатального развития у беременных кроликов самок с экспозицией примерно в 12 раза выше, чем после введения препарата пациентам в дозе 300 мг 1 раз/2 нед в пересчете на AUC. В качестве меры предосторожности рекомендуется избегать применения ланаделумаба во время беременности. **Период грудного вскармливания:** отсутствуют данные о выделении ланаделумаба в грудное молоко. **Фертильность.** Оценка влияния ланаделумаба на фертильность человека не проводилась. Установлено, что ланаделумаб не оказывал влияния на фертильность самцов и самок яванских макак. **Способ применения и дозы.** Только для подкожного введения. Каждый флакон препарата Такзайро предназначен только для однократного применения. Препарат необходимо вводить только в рекомендованные области: живот, бедры и верхнюю наружную часть плеча (см. раздел «Фармакокинетика»). Рекомендуется чередовать области проведения инъекции. Перед введением препарата необходимо проверить внешний вид каждого флакона. Раствор должен быть прозрачным или слегка желтоватым. Если раствор изменил окраску или содержит посторонние включения, его нельзя использовать. Следует избегать энергичного перемешивания. **Взрослые.** Применение препарата Такзайро необходимо начинать под наблюдением врача, имеющего опыт лечения пациентов с НАО. Препарат Такзайро может вводить сам пациент или лицо, осуществляющее уход за ним, после обучения правильной технике подкожных инъекций медицинским работником (см. подраздел «Инструкция по применению препарата»). **Режим дозирования.** Рекомендуемая начальная доза составляет 300 мг ланаделумаба (препарата Такзайро) 1 раз/2 нед. Пациентам, у которых на фоне терапии стабильно отсутствуют приступы, дозы ланаделумаба может быть снижена до 300 мг 1 раз/4 нед, особенно пациентам с низкой массой тела. Препарат Такзайро не предназначен для лечения острых приступов НАО (см. раздел «Особые указания»). **Введение пропущенной дозы препарата:** следует особо обратить внимание, что, если введение очередной дозы препарата Такзайро пропущено, следует вести как можно скорее, однако так, чтобы интервал между дозами был не менее 10 суток. **Пожилые.** Ожидается, что возраст пациента не будет влиять на экспозицию ланаделумаба. Не требуется корректировать дозу препарата у пациентов старше 65 лет. **Применение у пациентов с печеночной недостаточностью.** Не проводилось исследование препарата у пациентов с печеночной недостаточностью. Предполагается, что печеночная недостаточность не влияет на экспозицию ланаделумаба. **Пациенты с почечной недостаточностью.** Не проводились исследования препарата у пациентов с почечной недостаточностью тяжелой степени. Предполагается, что почечная недостаточность не влияет на экспозицию ланаделумаба или его профиль безопасности. **Дети:** в связи с отсутствием данных безопасности и эффективность препарата Такзайро у детей младше 12 лет не установлена. **Побочное действие.** Наиболее частыми (52,4%) нежелательными лекарственными реакциями (НЛР), ассоциируемыми с введением препарата Такзайро, были реакции в месте введения, в том числе боль, эритема и кровоподтек в месте введения. Из этих локальных НЛР 97% были слабой степени тяжести, а 90% разрешились в течение 1 суток (средняя продолжительность локальной НЛР составила 6 минут). Реакции гиперчувствительности (чувствительность легкой и средней степени тяжести, дискомфорт и ощущение локальными взвы) отмечались у 1,2% пациентов (см. раздел «Особые указания»). **Дети.** безопасность применения препарата Такзайро оценивали в подгруппе из 23 пациентов в возрасте от 12 до 18 лет. Результаты анализа в подгруппе соответствовали результатам анализа данных всех пациентов. **Иммуногенность.** Терапия ланаделумабом ассоциировалась с выработкой антител к препарату у 11,9% (10/84) пациентов. У всех пациентов титры антител были низкими. У 20% (2/10) пациентов присутствие антител в крови было кратковременным. Нейтрализующие антитела к ланаделумабу были обнаружены у 2,4% (2/84) пациентов, получавших лечение препаратом Такзайро. Выработка антител к ланаделумабу, в том числе нейтрализующих антител, не оказывала неблагоприятного влияния на профили фармакокинетики и фармакодинамики препарата или на его клинический ответ. Перечень всех побочных эффектов представлен в инструкции по медицинскому применению. **Передозировка.** Случаев передозировки не зарегистрировано. Доступная информация для идентификации признаков и симптомов передозировки отсутствует. В случае появления симптомов рекомендуется проводить симптоматическую терапию. Доступный антидот отсутствует. **Взаимодействие с другими лекарственными средствами.** Не проводилось исследований лекарственного взаимодействия. Сопутствующее применение ингибитора С1 эстеразы в качестве неотложной терапии оказывает аддитивное действие на индуцированный ланаделумабом cHMWK-ответ. **Особые указания. Прослеживаемость.** С целью улучшения прослеживаемости применения биологических лекарственных средств необходимо точно регистрировать название и номер серии применяемого лекарственного препарата. **Реакции гиперчувствительности:** были отмечены реакции гиперчувствительности. В случае развития тяжелой реакции гиперчувствительности необходимо немедленно прекратить введение препарата Такзайро и начать соответствующую терапию. **Общие указания.** Препарат Такзайро не предназначен для лечения острых приступов НАО. В случае развития острого приступа НАО необходимо начать индивидуально подобранную неотложную терапию другими зарегистрированными препаратами. Клинические данные о применении ланаделумаба у пациентов с НАО и нормальной активностью С1-ингибитора отсутствуют. **Влияние на показатели свертывающей системы крови.** Ланаделумаб может повышать значения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) в результате взаимодействия ланаделумаба с методом определения АЧТВ. Реагенты, применяемые для определения АЧТВ, инициируют внутренний путь коагуляции посредством активации плазменного калликреина в контактной системе. Ингибирование плазменного калликреина ланаделумабом может увеличить АЧТВ, определяемое с помощью этого метода. На одно из повышений АЧТВ у пациентов, получавших препарат Такзайро, не ассоциировалось с патологическим кровотечением. Не наблюдалось различий в значениях международного нормализованного отношения (МНО) между группами терапии. **Содержание натрия:** лекарственный препарат Такзайро содержит менее 1 ммоль натрия (23 мг) на один флакон, то есть фактически является препаратом, не содержащим натрия. **Влияние на способность управления транспортными средствами, механизмами:** препарат Такзайро не обладает каким-либо значимым влиянием на способность к управлению транспортными средствами и механизмами. **Условия отпуска:** Отпускают по рецепту. **Претензии потребителей направлять по адресу:** ООО «Такеда Фармасьютикалс», 119048, г. Москва, ул. Усачева, д. 2, стр. 1, телефон: +7 (495) 933 55 11, факс: +7 (495) 502 16 25. Полная информация по препарату представлена в инструкции по медицинскому применению препарата (ИМП). Настоящая сокращенная инструкция по применению (СИП) представлены исключительно в информационных целях и не может служить в качестве исчерпывающего руководства при назначении и применении препарата.

ООО «Такеда Фармасьютикалс»:
ул. Усачева, 2, стр. 1, 119048, Москва, Россия
Тел.: (495) 933 5511, факс: (495) 502 1625
www.takeda.com.ru

ТАКЗАЙРО
подкожная инъекция ланаделумаба
НОВЫЙ ПОДХОД В ПРОФИЛАКТИКЕ

Только для специалистов здравоохранения | C-APROM/RU/TAKH/0109 | Дата выхода материала: декабрь 2021 г.

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

МЕДИЦИНСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

январь-февраль
2022, том 24 **№ 1**
Основан в марте 1999 года

Главный редактор

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

Заместитель главного редактора

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

Редакционная коллегия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Хаитов Рахим Мусаевич – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, научный руководитель ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия

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

Редакционный совет

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

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

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

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

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

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

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

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

Ответственный секретарь:
Ракитянская Н.В.
E-mail: medimmun@spbraaci.ru

Редактор перевода:
д.м.н. Чухловин А.Б.

Редактор электронной версии:
Ерофеева В.С.

Редакция: тел./факс (812) 233-08-58
Адрес для корреспонденции:
197101, Санкт-Петербург, а/я 130.
Электронная версия: www.mimmun.ru; www.elibrary.ru

© Медицинская иммунология

Журнал зарегистрирован Северо-Западным региональным управлением Государственного комитета РФ по печати 26 марта 1999 г.
Свидетельство о регистрации № П 3612.
Министерством РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций 30 июня 2003 г.
Свидетельство о регистрации ПИ № 77-15892.
Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ №ФС77-60436 30 декабря 2014 г.

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 10.01.2022 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 26,25. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.) Заказ № 012
Напечатано в ООО «АРТЕМИДА».
199178, Санкт-Петербург, 8-я линия В.О., 83, корп. 1, Литер А
Тел.: (812) 950-10-99.

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

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

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

MEDICAL IMMUNOLOGY/ MEDITSINSKAYA IMMUNOLOGIYA

January-February
2022, volume 24 **No. 1**
Published since March 1999

Editor-in-Chief

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

Deputy Editor-in-Chief

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

Editorial Board

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Rahim M. Khaitov – PhD, MD, Professor, RAS full member, Institute of Immunology, Scientific Director, Moscow, Russian Federation

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

Editorial Council

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

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

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

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

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

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

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

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

Managing Editor:
Natalia Rakitianskaia
E-mail: medimmun@spbraaci.ru

Translation editor:
Alexey B. Chukhlovin, PhD, MD

Online version editorial manager:
Erofeeva V.S.

Editorial Office: phone/fax +7 812 233-08-58
Address for correspondence:
197101, St. Petersburg, P.O. Box 130.
Electronic version: www.mimmun.ru; www.elibrary.ru

© Medical Immunology

The Journal is registered at the North Western Regional Administration for the Press Affairs of the Russian Federation, March 26, 1999.
Certificate of registration PI № 77-15892 by the Ministry of Press, Television, Broadcasting and Mass media of the Russian Federation, June 30, 2003.
Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (ROSKOMNADZOR)
Certificate on registration of mass media PI №FS77-60436, December 30, 2014

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 10.01.2022. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing.
Printed sheets 26.25. Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies.)

Print in LLC «ARTEMIDA»
199178, Russian Federation, St. Petersburg, 8 line of Vasilievsky Island, 83/1-A
Phone: (812) 950-10-99

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

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

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 5-6
© 2022, СПб РО РААКИ

Содержание
Contents

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 5-6
© 2022, SPb RAACI

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Яцков И.А., Белоглазов В.А., Ряпова Э.И.
ЛИПОПОЛИСАХАРИД И ОРДС, ВЫЗВАННЫЙ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ: ГИПОТЕЗЫ И ФАКТЫ 7

Казачинская Е.И., Шаньшин Д.В., Щербаков Д.Н., Шестопалов А.М.
ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ ПРИ РАЗРАБОТКЕ СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ 19

Татарникова Е.Б., Кривошеина О.И., Иванова Е.В.
СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО УВЕИТА 31

Оригинальные статьи

Бурмистрова А.Л., Вавилов М.Н., Сташкевич Д.С., Суслова Т.А.
ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ЛОКУСОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ГЛАВНЫМ КОМПЛЕКСОМ ТКАНЕВОЙ СОВМЕСТИМОСТИ MHC (HLA) – MIC (MICA, MICB) У РУССКИХ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ 41

Корженевский А.А., Корженевская Н.П.
ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ HLA У ПАЦИЕНТОВ, СОСТОЯЩИХ В ЛИСТЕ ОЖИДАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН 53

Зыблева С.В., Зыблев С.Л.
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КЛАСТЕРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ 69

Мякошина Е.Б., Куликова И.Г., Балацкая Н.В., Катаргина Л.А., Саакян С.В.
ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ТЕЧЕНИЯ НАЧАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ ХОРИОИДЕИ ПОСЛЕ ОРГАНОСОХРАННОГО ЛЕЧЕНИЯ, ОСНОВАННАЯ НА КЛИНИКО-МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЯХ 81

Смирнова О.В., Губанов Б.Г., Каспаров Э.В., Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.Н.
ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХОЙ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ХОЛАНГИОКАРЦИНОМОЙ 89

Куликова О.А., Орлова Е.А., Баранова Н.И., Костина Е.М., Левашова О.А.
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА В СОЧЕТАНИИ С ХРОНИЧЕСКИМ РИНОСИНУСИТОМ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ 97

Антонюк М.В., Минеева Е.Е., Кнышова В.В., Юренко А.В., Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Гвозденко Т.А.
ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ФЕНОТИПАХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ 109

Златник Е.Ю., Новикова И.А., Бондаренко Е.С., Ульянова Е.П., Ситковская А.О.
ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМНОГО И ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ С РАЗЛИЧНОЙ РАСПРОСТРАНЕННОСТЬЮ, ДИНАМИКОЙ И ПРОГНОЗОМ 121

Тугуз А.Р., Шумилов Д.С., Муженя Д.В., Лысенков С.П., Смольков И.В., Татаркова Е.А., Хацац Д.З., Ашханова Т.М.
ДИСБАЛАНС СУБПОПУЛЯЦИЙ NK-КЛЕТОК И ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА 135

Савлевич Е.Л., Зурочка А.В., Курбачева О.М., Егоров В.И., Гаганов Л.В., Любимова Е.В.
ТРАНСФОРМИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ РОСТА TGF-β1, TGF-β2 И TGF-β3 В ТКАНИ НОСОВЫХ ПОЛИПОВ ПРИ РАЗНЫХ ФЕНОТИПАХ ПОЛИПОЗНОГО РИНОСИНУСИТА 147

Героев В.В., Балацкая Н.В., Героева Н.В., Кармокова А.Г., Рябина М.В., Куликова И.Г.
СКРИНИНГ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ВЛАЖНОЙ И АТРОФИЧЕСКОЙ ФОРМАХ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ 157

Абакумова Т.В., Генинг Т.П., Генинг С.О., Антонеева И.И., Песков А.Б.
ВЛИЯНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ НА РИГИДНОСТЬ МЕМБРАНЫ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ 171

Краткие сообщения

Микрюкова Н.В., Капинина Н.М.
РОЛЬ ДИАМИНОКСИДАЗЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОЙ КРАПИВНИЦЫ 181

Евсеева Г.П., Книжникова Е.В., Супрун Е.Н., Супрун С.В., Кудерова Н.И., Пичугина С.В., Полубарцева В.В., Евдокимова Т.С., Лебедько О.А.
ОСОБЕННОСТИ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ, СОПРОВОЖДАЕМЫМИ ЯВЛЕНИЯМИ ПНЕВМОФИБРОЗА 187

Новикова И.А., Прокопович С.С., Саливончик А.П., Романива О.А.
КЛИНИКО-ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОБЩЕГО ВАРИАБЕЛЬНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА У ВЗРОСЛЫХ 195

Щелкунов С.Н., Сергеев А.А., Титова К.А., Пьянков С.А., Якубицкий С.Н.
УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООСПЕННОЙ ВАКЦИНЫ 201

Правила для авторов 207

Авторский указатель 210

Предметный указатель 210

CONTENTS

Reviews

Yatskov I.A., Beloglazov V.A., Ryapova E.I.
LIPOPOLYSACCHARIDE AND ARDS CAUSED BY NEW CORONAVIRUS INFECTION: HYPOTHESES AND FACTS 7
Kazachinskaya E.I., Shanshin D.V., Shcherbakov D.N., Shestopalov A.M.
PROBLEMATIC QUESTIONS IN THE DEVELOPMENT OF SPECIFIC PREVENTION OF DENGUE FEVER 19
Tatarnikova E.B., Krivosheina O.I., Ivanova E.V.
MODERN ETIOLOGICAL AND PATHOGENETIC ASPECTS OF CHRONIC PERIPHERAL UVEITIS 31

Original articles

Burmistrova A.L., Vavilov M.N., Stashkevich D.S., Suslova T.A.
IMMUNOGENETIC PROFILE OF MIC (A, B) HLA LOCI LINKED TO MHC ANTIGENIC COMPLEX IN RUSSIANS OF THE CHELYABINSK REGION 41
Korzhenevsky A.A., Korzhenevskaya N.P.
HLA SYSTEM FEATURES IN PATIENTS ON WAITING LIST FOR KIDNEY TRANSPLANTATION IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN 53
Zybleva S.V., Zyblev S.L.
IMMUNOLOGICAL CLUSTER COMPLEXES IN KIDNEY TRANSPLANTATION 69
Myakoshina E.B., Kulikova I.G., Balatskaya N.V., Katargina L.A., Saakyan S.V.
PREDICTIVE MODEL OF SMALL CHOROIDAL MELANOMA PROGRESSION AFTER EYE-SAVING TREATMENT BASED ON CLINICAL, MORPHOMETRIC AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS 81
Smirnova O.V., Gubanov B.G., Kasparov E.V., Darenskaya M.A., Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I.
CHARACTERISTICS OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH MECHANICAL JAUNDICE CAUSED BY CHOLANGIOCARCINOMA 89
Kulikova O.A., Orlova E.A., Baranova N.I., Kostina E.M., Levashova O.A.
IMMUNOLOGICAL FEATURES OF ALLERGIC RHINITIS IN COMBINATION WITH CHRONIC RHINOSINUSITIS OF BACTERIAL ETIOLOGY 97
Antonyuk M.V., Mineeva E.E., Knyshova V.V., Yurenko A.V., Vitkina T.I., Novgorodtseva T.P., Gvozdenko T.A.
FEATURES OF IMMUNE RESPONSE IN DIFFERENT PHENOTYPES OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE 109
Zlatnik E.Yu., Novikova I.A., Bondarenko E.S., Ulyanova E.P., Sitkovskaya A.O.
CHARACTERISTICS OF LOCAL AND SYSTEM IMMUNITY, AND FEATURES OF CANCER STEM CELLS IN PATIENTS WITH DIFFERENT STAGE, DYNAMICS AND PROGNOSIS OF COLORECTAL CARCINOMA 121
Tuguz A.R., Shumilov D.S., Muzhenya D.V., Lysenkov S.P., Smolkov I.V., Tatarkova E.A., Khatsats D.Z., Ashkanova T.M.
IMBALANCE OF NK CELL SUBPOPULATIONS AND POLYMORPHISMS OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE GENES IN THE PATHOGENESIS OF ATHEROSCLEROSIS 135
Savlevich E.L., Zurochka A.V., Kurbacheva O.M., Egorov V.I., Gaganov L.E., Lyubimova E.V.
TRANSFORMING GROWTH FACTORS TGF-β1, TGF-β2 AND TGF-β3 IN THE TISSUE OF NASAL POLYPS IN DIFFERENT PHENOTYPES OF CHRONIC RHINOSINUSITIS WITH NASAL POLYPS 147
Neroev V.V., Balatskaya N.V., Neroeva N.V., Karmokova A.G., Ryabina M.V., Kulikova I.G.
SCREENING OF CYTOKINES IN BLOOD SERUM AND LACRIMAL LIQUID IN WET AND ATROPHIC FORMS OF AGERELATED MACULAR DEGENERATION 157
Abakumova T.V., Gening T.P., Gening S.O., Antoneeva I.I., Peskov A.B.
INFLUENCE OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES ON MEMBRANE RIGIDITY AND MORPHOFUNCTIONAL STATE OF CIRCULATING NEUTROPHILS IN OVARIAN TUMORS 171

Short communications

Mikryukova N.V., Kalinina N.M.
ROLE OF DIAMINE OXIDASE IN THE PATHOGENESIS OF CHRONIC URTICARIA 181
Evseeva G.P., Knizhnikova E.V., Suprun E.N., Suprun S.V., Kuderova N.I., Pichugina S.V., Polubentseva V.V., Evdokimova T.S., Lebedko O.A.
FEATURES OF MITOCHONDRIAL MEMBRANE POTENTIAL OF IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS IN CHILDREN WITH CHRONIC NONSPECIFIC LUNG DISEASES ACCOMPANIED BY PNEUMOFIBROSIS 187
Novikova I.A., Prokopovich S.S., Salivonchik A.P., Romaniva O.A.
CLINICAL AND IMMUNOPHENOTYPIC ASPECTS OF COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY IN ADULTS 195
Shchelkunov S.N., Sergeev A.A., Titova K.A., Pyankov S.A., Yakubitskiy S.N.
IINCREASING PROTECTIVITY OF THE SMALLPOX VACCINE 201

Instructions to Authors 207

Author index 210

Subject index 210

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 7-18
© 2022, СПб РО РААКИ

Обзоры
Reviews

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 7-18
© 2022, SPb RAACI

ЛИПОПОЛИСАХАРИД И ОРДС, ВЫЗВАННЫЙ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ: ГИПОТЕЗЫ И ФАКТЫ

Яцков И.А., Белоглазов В.А., Ряпова Э.И.

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского – структурное подразделение ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия

Резюме. В данном обзоре представлены данные из литературных источников, которые дают представление о роли липополисахарида (LPS) грамнегативной флоры в патогенезе острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), вызванного новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2. ОРДС – это синдром тяжелой недостаточности дыхания, остро возникающее диффузное воспалительное поражение легких, развивающееся как неспецифическая реакция на различные прямые (аспирация, ингаляция токсичных газов) и системные (сепсис, политравма) повреждающие факторы и приводящее к формированию острой дыхательной недостаточности (ОДН) вследствие нарушения структуры паренхимы легких, нарушения сосудистой проницаемости, уменьшения площади вентилируемой легочной ткани.

ОРДС при коронавирусной инфекции, по-видимому, имеет худшие результаты, чем ОРДС, вызванный другими причинами. Смертность в отделении интенсивной терапии и больнице от типичного ОРДС составляет 35,3% и 40,0% соответственно, тогда как для вызванного COVID-19 ОРДС смертность варьировалась от 26% до 61,5%, а у пациентов, которым была проведена искусственная вентиляция легких, смертность может колебаться от 65,7% до 94%. Факторы риска неблагоприятных исходов включают пожилой возраст; наличие сопутствующих заболеваний, таких как гипертония, сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет; снижение количества лимфоцитов; травма почек; и повышенный уровень D-димера. Смерть от ОРДС при COVID-19 наступает в результате дыхательной недостаточности (53%), дыхательной недостаточности в сочетании с сердечной недостаточностью (33%), повреждения миокарда и недостаточности кровообращения (7%) или смерти по неизвестной причине.

Большое количество исследований показывают, что ЛПС прямо или косвенно участвует во всех патогенетических звеньях ОРДС, вызванного вирусом SARS-CoV-2, а именно: ухудшает течение воспалительных заболеваний легких на фоне снижения уровня ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2); увеличивает генерацию активных форм кислорода (АФК) посредством НАДФН-оксидазы и последующую дезактивацию эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и снижение биодоступности эндотелиального NO, что приводит к эндотелиальной дисфункции; взаимодействует с белками сурфактантов. SP-A и SP-D, способствуя раннему разрушению монослоя и снижению поверхностного натяжения; взаимодействует с растворимой формой CD14-рецептора, что

Адрес для переписки:

*Яцков Игорь Анатольевич
Медицинская академия имени С.И. Георгиевского
295491, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, пгт Аэрофлотский, ул. Мальченко, 7, кв. 28.
Тел.: 8 (978) 709-40-15.
E-mail: egermd@yandex.ru*

Address for correspondence:

*Yatskov Igor A.
S. Georgievsky Medical Academy
295491, Russian Federation, Republic of Crimea, Simferopol, Aeroflotsky smt, Malchenko str., 7, apt. 28.
Phone: 7 (978) 709-40-15.
E-mail: egermd@yandex.ru*

Образец цитирования:

И.А. Яцков, В.А. Белоглазов, Э.И. Ряпова «Липополисахарид и ОРДС, вызванный новой коронавирусной инфекцией: гипотезы и факты» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 7-18. doi: 10.15789/1563-0625-LAA-2229

© Яцков И.А. и соавт., 2022

For citation:

I.A. Yatskov, V.A. Beloglazov, E.I. Ryapova "Lipopolysaccharide and ARDS caused by new coronavirus infection: hypotheses and facts", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 7-18. doi: 10.15789/1563-0625-LAA-2229

DOI: 10.15789/1563-0625-LAA-2229

также оказывает провоспалительное воздействие на эпителиальные и эндотелиальные клетки; через рецепторы TLR4 приводит к активации p38MAPK, деградации белка IκBα и последующей транслокации p65 NF-κB в ядро, что приводит к транскрипции IL-6 и молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1 и E-селектин); а также, как показано в исследовании Petruk и соавт. (2020), непосредственно связываясь с S-белком вируса в сочетании с LPS усиливает активацию ядерного фактора-каппа B (NF-κB) в моноцитарных клетках THP-1 и цитокиновые ответы в мононуклеарных клетках крови. Данные патофизиологические механизмы требуют дальнейшего глубокого изучения с целью понимания природы изменений, возникающих на фоне новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2.

Ключевые слова: COVID-19, LPS, ОРДС, коронавирус, эндотоксин, воспаление

LIPOPOLYSACCHARIDE AND ARDS CAUSED BY NEW CORONAVIRUS INFECTION: HYPOTHESES AND FACTS

Yatskov I.A., Beloglazov V.A., Ryapova E.I.

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

Abstract. This review presents data from the literature that provide insight into the role of the lipopolysaccharide (LPS) of the Gram-negative bacteria in pathogenesis of acute respiratory distress syndrome (ARDS) caused by the novel SARS-CoV-2 coronavirus infection. ARDS is a syndrome of severe respiratory failure, an acutely occurring diffuse inflammatory lesion of lung tissue that develops as a nonspecific reaction to various direct (aspiration, inhalation of toxic gases), and systemic (sepsis, polytrauma) damaging factors and leading to development of acute respiratory failure (ARF), due to impaired structure of the lung parenchyma, disturbances in vascular permeability, decreased area of ventilated lung tissue. ARDS from coronavirus infection appears to have worse outcomes than ARDS from other causes. Mortality from typical ARDS at the intensive care units and hospitals is 35.3% and 40.0%, respectively, while the lethality rates for COVID-19-associated ARDS, ranged from 26% to 61.5%. Among patients who underwent artificial ventilation of the lungs, the mortality rates can range from 65.7% to 94%. Risk factors for poor outcomes include, e.g., older age, presence of concomitant diseases such as hypertension, cardiovascular disease and diabetes mellitus; decreased number of lymphocytes, kidney injury, and increased D-dimer levels. Death with ARDS in COVID-19 occurs as a result of respiratory failure (53%), respiratory failure combined with heart failure (33%), myocardial damage and circulatory failure (7%), or death from an unknown cause. A large number of studies show that bacterial LPS is directly or indirectly involved in all pathogenetic links of ARDS caused by the SARS-CoV-2 virus, i.e., worsening the course of inflammatory lung diseases due to decreased level of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2); increasing generation of reactive oxygen species (ROS) via NADPH oxidase and subsequent inactivation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and decreasing bioavailability of endothelial NO, thus leading to endothelial dysfunction; interacting with proteins of surfactants. SP-A and SP-D, promoting early destruction of the cellular monolayers and lowering surface tension, interact with soluble CD14 receptor, which also has a pro-inflammatory effect on epithelial and endothelial cells, leading to p38MAPK activation via TLR4 receptors, causing degradation of IκBα protein and subsequent translocation of p65 NF-κB into the nucleus, thus inducing transcription of IL-6 and adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin), and, as shown by Petruk et al. (2020), causing direct binding to the viral S protein in combination with LPS, thus enhancing activation of nuclear factor-kappa B (NF-κB) in monocytic THP-1 cells and cytokine responses in mononuclear blood cells. These pathophysiological mechanisms require further in-depth study in order to understand the nature of changes that occur in the patients with new SARS-CoV-2 infection.

Keywords: COVID-19, LPS, ARDS, coronavirus, endotoxin, inflammation

Острый респираторный дистресс – синдром (ОРДС) – это синдром тяжелой недостаточности дыхания, остро возникающее диффузное воспалительное поражение легких, развивающееся как неспецифическая реакция на различные прямые (аспирация, ингаляция токсичных газов) и системные (сепсис, политравма) повреждающие факторы и приводящее к формированию острой дыхательной недостаточности (ОДН) вследствие нарушения структуры паренхимы легких, нарушения сосудистой проницаемости, уменьшения площади вентилируемой легочной ткани [2]. По данным "The National Heart Lung and Blood Institute ARDS Clinical Trials Network" (NHLBI ARDS Network), частота ОРДС составляет от 79,0 до 86,2 случаев на 100 000 человек в год [2, 5, 44]. Летальность пациентов с ОРДС в конце 80-х годов XX века достигала 60-70%, за последние три десятилетия снизилась, но все еще остается ну уровне 30-40% [44]. Факторами риска летального исхода являются коморбидная патология, пожилой возраст, значительное снижение индекса оксигенации (отношение PaO_2/FiO_2), септический шок, заболевания печени, низкий балл по шкалам APACHE, SOFA и Glasgo [2, 44].

В настоящее время данный патологический синдром является очень актуальной проблемой, в связи с распространением новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, которая приводит к развитию тяжелого респираторного дистресс-синдрома [29].

ОРДС при коронавирусной инфекции, по-видимому, имеет худшие результаты, чем ОРДС, вызванный другими причинами. Смертность в отделении интенсивной терапии и больнице от типичного ОРДС составляет 35,3% и 40,0% соответственно [10]. Для вызванного COVID-19 ОРДС смертность варьировалась от 26% до 61,5%, а у пациентов, которым была проведена искусственная вентиляция легких, смертность может колебаться от 65,7% до 94% [71]. Факторы риска неблагоприятных исходов включают пожилой возраст; наличие сопутствующих заболеваний, таких как гипертония, сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет; снижение количества лимфоцитов; травма почек; и повышенный уровень D-димера. Смерть от ОРДС при COVID-19 наступает в результате дыхательной недостаточности (53%), дыхательной недостаточности в сочетании с сердечной недостаточностью (33%), повреждения миокарда и недостаточности кровообращения (7%) или смерти по неизвестной причине [29].

В данном обзоре мы бы хотели сконцентрировать внимание на влиянии липополисахарида грамнегативной флоры на элементы патогенеза ОРДС, возникающего на фоне новой коронавирусной инфекции.

LPS как провоспалительный агент

Липополисахарид, также называемый эндотоксином, является неотъемлемой частью внешней мембраны грамотрицательных бактерий, таких как *Escherichia coli* и *Salmonella enterica*. Он состоит из гидрофильного полисахарида (О-антигена), основного олигосахарида и липида А эндотоксина, высокотоксичной части [50]. LPS обладает провоспалительной активностью и играет важную роль в патогенезе инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями. На основании морфологии колоний бактерии идентифицируются как гладкие штаммы, экспрессирующие LPS с коровым олигосахаридом и О-антигеном (S-LPS), или грубые штаммы, которые не имеют О-антигена и могут экспрессировать либо полный, либо усеченный сердцевинный олигосахарид (Re-LPS) [72].

Способность запускать провоспалительный каскад определяет классификацию LPS как агониста или антагониста комплекса TLR4/MD-2 (состоящий из толл-подобного рецептора 4 и лимфоцитарного антигена 96) и позволяет разделить LPS на иммуноингибирующий и провоспалительный типы [48]. Во многих статьях описаны соединения LPS, действующие как агонисты комплекса TLR4/MD-2 с определенной иммуностимулирующей способностью, что привело к пониманию того, что самая высокая известная активность в отношении клеток человека имеет бисфосфорилированный гексаацилированный липид А с распределением 4+2 фрагментов ацильной цепи (такой как липид А *E. coli*) [18, 46]. Эта активность коррелирует со способом связывания липида А с комплексом TLR4/MD-2, который был широко изучен и описан в других исследованиях [46, 52]. До сих пор имеются лишь ограниченные данные о нескольких соединениях LPS с антагонистическим действием, которые способны конкурировать с токсичным LPS за связывание с TLR4/MD-2, таким образом предотвращая передачу нижестоящего сигнала, ответственного за индукцию воспалительного ответа [18]. Было замечено, что виды гипоацилированного липида А (а именно, содержащие менее шести жирных кислот), те, которые имеют симметричное 3+3 распределение ацильных фрагментов (например Neisseria meningitidis), или те, которые обладают нефосфорилированным сахарным каркасом (наприме, Bradyrhizobium spp. и Acetobacter pasteurianus или Rhodopseudomonas palustris), вызывают снижение или отсутствие

иммуностимулирующей активности на человеческие клетки [18]. Классический пример – это биосинтетический предшественник липида А *E. coli*, тетраацилированный липид IVA, который в значительной степени исследовался в комплексе с человеческим TLR4/MD-2, демонстрируя, что все четыре ацильные цепи размещены внутри MD-2 таким образом, чтобы не допустить димеризации и последующей активации. Это примерно объясняет отсутствие иммуноактивности в отношении человеческих клеток не только для липида IVA, но и для других тетраацилированных и некоторых пентаацилированных форм липида А [46, 52].

В исследовании Petruk и соавт. получены данные о взаимодействии между белком SARS-CoV-2 Spike (S) и LPS, которое приводит к усилению воспаления *in vitro* и *in vivo*. Белок S в сочетании с LPS усиливал активацию ядерного фактора-каппа B (NF-κB) в моноцитарных клетках THP-1 и цитокиновые ответы в мононуклеарных клетках крови человека и периферической крови соответственно. Динамическое рассеяние света, просвечивающая электронная микроскопия и анализ LPS-FITC продемонстрировали, что белок S модулирует состояние агрегации LPS, обеспечивая молекулярное объяснение наблюдаемого эффекта усиления. Эти результаты обеспечивают интересную молекулярную связь между чрезмерным воспалением во время инфекции SARS-CoV-2 и сопутствующими заболеваниями, связанными с повышенным уровнем бактериальных эндотоксинов [53].

Дисфункция и повреждение эндотелия при ОРДС

Первым звеном в патогенезе ОРДС является дисфункция эндотелия и развитие некардиального отека легких. Данные изменения обусловлены задержкой легочным эндотелием микроагрегатов со снижением легочной капиллярной перфузии, деструкцией задержанных продуктов с образованием медиаторов воспаления, повреждающих интерстиций и ингаляцией токсических веществ или микробной флоры, повреждающих альвеолоциты и воздействующих на легочный сурфактант [4].

В случае новой коронавирусной инфекции велика роль снижения количества ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2), который в норме превращает ангиотензин II в ангиотензин 1-7, который стимулирует эндотелиальные клетки к выработке оксида азота (NO). NO помогает сосудам расширять сосуды и подавляет агрегацию тромбоцитов. При COVID-19 SARS-CoV-2 занимает ACE2, и уровень ангиотензина II увеличивается, что приводит к сужению сосудов и снижению кровотока. Моноциты и другие клетки поле активации SARS-CoV-2 экспрессируют тканевой фактор и фосфатидилсерин на своей поверхности и инициируют прокоагуляционные изменения в сосудистом русле легких [7].

В исследовании Sodhi и соавт. на мышах было протестировано действие ACE2 на дез-Arg9 брадикинин (DABK) в эпителиальных клетках дыхательных путей на основе гипотезы о том, что DABK является биологическим субстратом ACE2 в легких, а ACE2 играет роль играет важную роль в патогенезе острого воспаления легких, частично за счет модуляции передачи сигналов оси DABK/брадикининового рецептора B1 (BKB1R). Авторы обнаружили, что потеря функции ACE2 в легких мыши в условиях ингаляции LPS приводит к активации оси DABK/BKB1R, высвобождению провоспалительных хемокинов, таких как хемокин 5 (CXCL5), воспалительный белок макрофагов-2 (MIP2) и TNFα из эпителия дыхательных путей, усиление нейтрофильной инфильтрации и усиление воспаления и повреждения легких. Эти результаты показывают, что снижение активности ACE2 в легких на фоне нагрузки эндотоксином способствует патогенезу воспаления легких, отчасти из-за нарушения способности подавлять опосредованную осью DABK/BKB1R передачу сигналов, что приводит к более быстрому началу инфильтрации нейтрофилов и более серьезному воспалению в легких [64].

Другим ключевым игроком в врожденном иммунном ответе является система комплемента, действующая как система быстрого иммунного надзора против вторжения патогенов, соединяющая врожденный и адаптивный иммунитет [54]. В случае COVID-19 активация комплемента является избыточной, что приводит к опасным острым воспалительным процессам, повреждению эндотелиальных клеток и способствует внутрисосудистой коагуляции [51]. LPS также является мощным активатором системы комплемента, запуская лектин-опосредованный каскад, который описан и при COVID-19 [24, 58].

Анализ данных многочисленных исследований, направленных на изучение роли LPS в развитии дисфункции эндотелия, указывает на активацию TLR4-опосредованного окислительного пути после воздействия LPS. Данный механизм включает в себя генерацию активных форм кислорода (АФК) посредством НАДФН-оксидазы и последующую дезактивацию eNOS и снижение биодоступности эндотелиального NO, что приводит к эндотелиальной дисфункции [30].

Провоспалительное действие LPS на эндотелий сосудов включает активацию опосредованного TLR4 воспалительного пути. Предлагаемый механизм включает активацию p38MAPK, зависимую и независимую деградацию белка IκBα и последующую транслокацию p65 NF-κB в ядро, что приводит к транскрипции маркера воспаления (IL-6) и молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1 и E-селектин) [30].

Кроме этого, комплекс LPS и липополисахаридсвязывающего белка (LBP) способен к взаимодействию с растворимой формой CD14 рецептора (sCD14), что также определяет его провоспалительное воздействие на немакрофагальные клетки (эпителиальные, эндотелиальные и др.) [3, 40].

В дальнейшем из-за дисфункции эндотелия, формируется синдром капиллярной утечки с выходом в интерстициальное и альвеолярное пространство жидкости и белков плазмы крови и развитием некардиогенного отека легких, что является проявлением острого повреждения легких (ОПЛ) [4].

Дисфункция альвеолоцитов и коллапсирование альвеол

Легочный сурфактант представляет собой липидно-белковый комплекс, который снижает поверхностное натяжение на границе раздела воздух/жидкость, тем самым предотвращая коллапс легких. Он продуцируется клетками альвеолярного типа II (ATII) и хранится в форме ламеллярных телец (ЛТ) [22].

Около 80% альвеолярного поверхностно-активного вещества – это фосфолипиды, которые относятся как минимум к 50 различным видам [16]. Из них фосфатидилхолин (PC) составляет около 70-80%, а дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC) составляет наиболее важный поверхностно-активный компонент. Примерно 10% поверхностно-активного вещества представляют собой нейтральные липиды, особенно холестерин. Около 8-10% молекул поверхностно-активного вещества образуют специфические белки. Гидрофильные белки SP-A и SP-D важны для местной защиты, а гидрофобные белки SP-B и SP-C способствуют быстрой адсорбции фосфолипидов на границе раздела воздух/жидкость и стабилизируют пленку поверхностно-активного вещества во время дыхательного цикла [15, 17].

После связывания белка шипа (S) с ACE2, SARS-CoV-2 может проникать в клетку либо посредством эндоцитоза, либо через катепсин L (CTSL)-зависимый вирусный выход из эндосомы, который усиливается трансмембранной сериновой протеазой 2 (TMPRSS2) – или за счет TMPRSS2-зависимого прямого слияния вирусной оболочки с клеточной мембраной [47]. После проникновения вируса в клетки с высокой экспрессией ACE2, а именно альвеолоциты 1 и 2 типов, происходит высвобождение вирусной РНК в цитоплазму, с которой транслируются два полипротеина, структурные протеины и начинается репликация вирусного генома [47].

Интерфероны альфа и бета обычно вызывают антивирусный иммунный ответ в инфицированных клетках, который ограничивает репликацию вируса и индуцирует апоптоз инфицированных клеток для защиты хозяина от распространения вируса. Однако было показано, что несколько белков SARS-CoV-2 (например белки «открытой рамки считывания» 6 (ORF6) и ORF3b) подавляют выработку и передачу сигналов противовирусного IFN типа I (IFN-I) [38]. Первоначальная задержка ответа IFN-I сопровождается неограниченной репликацией и распространением вируса в инфицированном организме, тем самым способствуя возможному увеличению IFN-I, что может усугубить гипервоспаление при прогрессировании до тяжелого заболевания [66].

Нарушение синтеза необходимых клетке структурных белков, как и индуцированный апоптоз в ответ на воздействие итерферона, неминуемо приводит к гибели клеток и высвобождения молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждениями (DAMP). DAMP в последующем захватываются клетками макрофагальной системы. Активированные макрофаги начинают продуцировать целый спектр провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-6, TNFα, CXCL8) [22]. Дисфункция альвеолоцитов 1-го типа приводит к нарушению газообмена, тогда как дисфункция клеток 2-го типа сопровождается снижением продукции сурфактанта, проявляющееся в изменении поверхностного натяжения в альвеолах и их последующем коллапсировании [2].

При инфицировании молекулярные паттерны, связанные с вирусными патогенами (PAMP), воспринимаются рецепторами распознавания эндосомных паттернов (PRR), такими как TLR. Это приводит к внутриклеточным сигнальным каскадам, которые включают активацию факторов транскрипции, таких как NF-κB и факторы регуляции интерферона (IRF). Эти события в конечном итоге приводят к выработке интерферонов типа I и провоспалительных цитокинов [6].

Продемонстрировано, что TLR-4, распознав S-белок вируса SARS-CoV-2, через MyD88-зависимый сигнальный путь активирует продукцию многочисленных провоспалительных

цитокинов. Активация TLR2, TLR4 индуцирует продукцию про-IL-1β, IL-6, IL-8, IL-21, TNFβ, CCL2 эпителиальными клетками и макрофагами, а последующая активация инфламмасом приводит к высвобождению активного зрелого IL-1β, который рекрутирует нейтрофилы в зону повреждения [67].

Комплексообразование LPS с сурфактантом также может вносить вклад в патофизиологически механизм ОРДС при новой коронавирусной инфекции.

В модели LPS/поверхностно-активное вещество, взаимодействие гладкого LPS с синтетическими липидными монослоями значительно разжижало эти пленки, способствуя раннему разрушению и снижению поверхностного натяжения [13].

С иммунологической точки зрения наиболее важным является взаимодействие LPS с белками сурфактантов. SP-A и SP-D принадлежат к коллектинам, и они играют важную роль во врожденной защите хозяина, связываясь и элиминируя вторгающиеся микробы из легких [33]. SP-A, вероятно, связывается с LPS грубого типа кальций-зависимым образом. Он специфически связывается с липидом A LPS, но не со всей молекулой LPS. SP-D связывается с LPS через домен CRD, особенно с грубым LPS, узнавая L-глицеро-D-манногептозу внутреннего ядра LPS [68].

SP-A снижает высвобождение TNFα из LPS-стимулированных альвеолярных макрофагов у крыс и людей [28]. Эксперименты *in vivo* продемонстрировали, что мыши с дефицитом SP-A продуцируют значительно больше TNFα, чем мыши дикого типа, после интратрахеального введения LPS. Напротив, SP-D умеренно увеличивает продукцию TNFα в альвеолярных макрофагах, стимулированных LPS [12].

Пути поступления LPS

LPS и ожирение

Кишечный микробиом представляет собой совокупность микроорганизмов (бактерий, архей, вирусов и эукариотических микробов), колонизирующих желудочно-кишечный тракт. Микробиота кишечника человека в основном состоит из двух доминирующих (составляют > 90% всего сообщества) бактериальных типов – *Bacteroidetes* (грамотрицательные бактерии) и *Firmicutes* (в основном грамположительные бактерии) [56]. Более того, Eva d'Hennezel и соавт. сообщили, что именно *Bacteroidetes* отвечают за биосинтез 79% LPS у здоровых добровольцев и 92,4% в образцах, собранных в рамках проекта «Микробиом человека», и что общий LPS, продуцируемый в кишечнике здорового взрослого человека, является иммуноингибирующим (имеет очень ограниченную способность активировать TLR4 – NF-κB и вызывать выработку воспалительных цитокинов). Кроме того, структура гипоацилированного липида A отряда Bacteroidales, вероятно, являются основным обоснованием иммуноингибирующих свойств данного типа LPS [31].

Люди с ожирением имеют значительно более высокий уровень *Firmicutes* и более низкий уровень *Bacteroidetes* (повышенное соотношение *Firmicutes*/*Bacteroidetes* (F/B)) по сравнению с людьми с нормальным весом/худыми [36]. Следовательно, состав кишечного LPS у лиц с ожирением может быть смещен с иммуноингибирующих подтипов LPS *Bacteroidetes* в пользу различных провоспалительных подтипов LPS из-за дисбиоза микробиома кишечника [31]. Кроме того, известно, что диета с высоким содержанием жиров увеличивает проницаемость кишечника с помощью различных механизмов: изменяет распределение и экспрессию плотных контактов, стимулирует переход к разрушающим барьер гидрофобным желчным кислотам, индуцирует оксидативный стресс и апоптоз эпителиального слоя кишечника; прямо и косвенно стимулирует провоспалительные сигнальные каскады, увеличивая разрушающие барьер цитокины и уменьшая барьерные цитокины; отрицательно модулируя состав кишечной слизи и обогащая микрофлору кишечника видами, разрушающими барьер [54]. Nagpal и соавт. даже сообщили о тесной связи между связанным с ожирением дисбиозом микробиома кишечника, вызывающим нарушения гомеостаза клеточного обновления кишечника, и функциями по регулированию проницаемости кишечника, независимо от пищевых ингредиентов, таких как высокое содержание жиров [49]. Таким образом, LPS могут перемещаться в систему кровообращения посредством прямой диффузии из-за кишечной парацеллюлярной проницаемости или посредством поглощения энтероцитами во время секреции хиломикронов [47], что в последующем приводит к развитию эндотоксемии. Сокращение потребления калорий (особенно потребления трансжиров и насыщенных жиров) и регулирование микробиоты кишечника (с помощью пребиотиков/пробиотиков/синбиотиков и противовоспалительного режима питания) может снизить эндотоксемию и, следовательно, связанный с этим риск более тяжелых форм ОРДС с сопутствующим ожирением [8].

Некоторые авторы считают, что дисбиоз кишечного микробиома и эндотоксемия являются дополнительным объяснением более тяжелых

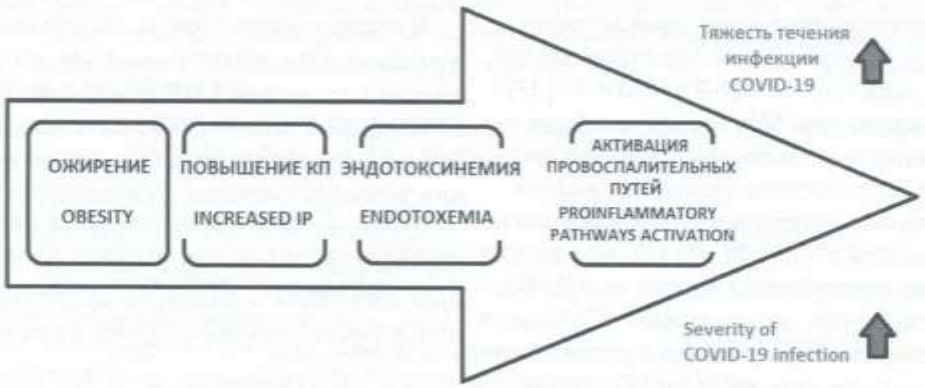


Рисунок 1. Ожирение в патогенезе COVID-19

Figure 1. Obesity in the pathogenesis of COVID-19

форм инфекции COVID-19 среди людей с ожирением, что также может подтверждать влияние LPS на поддержание и усиление воспалительных реакций (рис. 1) [9].

Поступление LPS из дыхательных путей

В легких здоровых людей и пациентов с легочными заболеваниями содержится множество бактерий, которые составляют легочный микробиом, а средний квадратный сантиметр бронха содержит 2000 бактерий [34]. У здоровых людей легочные бактерии в основном состоят из *Proteobacteria, Firmicutes* и *Bacteroidetes* [11]. Основная масса бактерий в легких происходит из верхних дыхательных путей, а количество бактерий в верхних дыхательных путях в 2-4 раза больше, чем в легких [14].

Исследование микробиологии легких у стабильных пациентов с ХОБЛ продемонстрировало, что основными потенциальным источником LPS в легких являются представители таких бактериальных родов, как: *Prevotella, Haemophilus* и *Neisseria* [34, 55, 59], и вне фазы обострения микробный состав легких практически не изменяется [63]. В период обострений легочный микробиом в основном состоит из *Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumonia* и *Moraxella catarrhalis*, а микробный состав отличается от микробного состава легких у стабильных пациентов [25, 37, 61]. По сравнению со здоровыми людьми уровни *Moraxella, Pseudomonas* и *Haemophilus* были увеличены у пациентов с ХОБЛ, тогда как уровни *Bacteroides* и *Prevotella* были выше у здоровых людей [23, 60].

Легочный микробный дисбаланс в фазе обострения в основном включает изменения микробного состава, численности и разнообразия. Исследование Sethi S. и соавт. показало, что увеличение бактериальной нагрузки не было основной причиной обострений и не было значительных изменений в численности H. influenzae между острой и стабильной фазами [61]. Однако другие исследования подтвердили, что *Moraxella* и *Haemophilus* положительно коррелировали с обострением [43, 69, 70]. Более того, распространенность *Moraxella* и *Haemophilus* у пациентов с частыми обострениями ХОБЛ была выше, чем у пациентов с нечастыми обострениями. Кроме того, *Haemophilus* и *Moraxella* тесно связаны с экспрессией иммунных и воспалительных генов макроорганизма. *Haemophilus* способствует нейтрофильному воспалению, а *Moraxella* усугубляет течение заболевание через сигнальный путь интерферона хозяина [70].

Также было обнаружено, что состав флоры легких позволяет прогнозировать количество дней без искусственной вентиляции легких путем сбора образцов бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) пациентов ОИТ [21]. Кроме того, в стадии обострения снизилось микробное разнообразие легких [55], которое отрицательно коррелирует со степенью эмфизематозных изменений и инфильтрации CD4 Т-лимфоцитов [65]. Более того, снижение количества *Treponema* и увеличение численности *Pseudomonas* может привести к усилению ограничения воздушного потока. Также наблюдалась положитель-

ная корреляция между уровнем эозинофилов и *Bacteroides* и *Spirochetes* [45].

Бактериальные инфекции также могут повышать уровень металлопротеиназ внеклеточного матрикса (MMP), продуцируемых нейтрофилами и макрофагами, таких как MMP-9 и MMP-12 [27]. *In vivo* было показано, что MMP могут разрушать различные компоненты матрикса, включая коллаген и эластин, способствуя развитию эмфиземы, а MMP-12 может поддерживать и усиливать воспалительный ответ [19, 35]. Также бактериальная инфекция способствует выработке IL-8 и миграции нейтрофилов, вызывающих воспаление [60]. Нейтрофилы продуцируют различные протеазы, включая эластазу, катепсин G и протеазу 3, которые ингибируют клиренс бактерий иммунными клетками дыхательных путей и приводят к разрушению альвеолярной ткани [1, 59, 61].

Кишечная траслокация LPS

Кишечный биологический барьер представляет собой бактериальный мембранный барьер, образованный тесной адгезией симбиотических бактерий (таких как *Biofondacterium* и *Lactobacillus*) к поверхности слизистой оболочки кишечного эпителия, которая может противостоять патогенным бактериям [39]. Симбиотические бактерии играют решающую роль в регулировании функции кишечного барьера и здоровья макроорганизма. Они способствуют образованию слизистого слоя кишечника и секреции секреторного иммуноглобулина А (sIgA), который поддерживает иммунный ответ кишечника; адгезируются на энтероцитах, формируя бактериальный мембранный барьер против чужеродных патогенов, увеличивают количество плотных контактов, тем самым поддерживая кишечную проницаемость (КП) на должном уровне, содействуют экспрессии противовоспалительных генов, уменьшая воспаление энтероцитов [26].

При инфекции, вызванной COVID-19, было показано, что заболевание поражает и желудочно-кишечный тракт, а такие симптомы, как диарея, наблюдаются примерно в трети случаев [41]. Энтероциты в подвздошной и толстой кишке экспрессируют рецептор ACE2, и вирус был обнаружен в стуле. Таким образом, существует вероятность того, что бактериальная транслокация из желудочно-кишечного тракта может осложнить тяжелую болезнь COVID-19 [28, 73]. Не только бактериальный токсин, но и прямая бактериальная инвазия могут играть роль в тяжелой форме COVID-19. В исследовании Sirivongrangson и соавт. бактериальная ДНК и эндотоксины были обнаружены практически у всех тяжело больных COVID-19. Это вызывает ранее не осознаваемую озабоченность по поводу значительного вклада бактериальных продуктов в патогенез этого заболевания [62].

В исследовании Hoel H. пациенты с COVID-19 по равнению с контрольной группой, имели повышенные уровни LBP и хемокинового лиганда 25 (CCL25) в плазме, что свидетельствует о нарушении барьерной функции кишечника и усилении хоминга Т-клеток в кишечнике [32].

Следовательно, транслокация LPS, вызванная нарушением кишечного барьера, является важным фактором в развитии системного воспаления, а также косвенно влияет на развитие ОРДС.

Заключение

Таким образом, все вышеизложенные факты и гипотезы свидетельствуют о том, что липополисахарид грамнегативной флоры является мощным кофактором провоспалительных реакций, наблюдаемых у больных новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2; прямо или косвенно участвует во всех патогенетических звеньях ОРДС, вызванного вирусом SARS-CoV-2, а именно: увеличивает генерацию активных форм кислорода (АФК) посредством НАДФН-оксидазы и последующую дезактивацию eNOS и снижение биодоступности эндотелиального NO, что приводит к эндотелиальной дисфункции; взаимодействует с белками сурфактантов. SP-A и SP-D, способствуя раннему разрушению монослоя и снижению поверхностного натяжения; взаимодействует с растворимой формой CD14-рецептора, что также оказывает провоспалительное воздействие на эпителиальные и эндотелиальные клетки; через рецепторы TLR4 приводит к активации p38MAPK, деградации белка IκBα и последующей транслокации p65 NF-κB в ядро, что приводит к транскрипции IL-6 и молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1 и E-селектин); а также, непосредственно связываясь с S-белком вируса в сочетании с LPS, усиливает активацию ядерного фактора-каппа B (NF-κB) в моноцитарных клетках THP-1 и цитокиновые ответы в мононуклеарных клетках крови.

Дальнейшее более глубокое изучение влияния ЛПС на развитие патологических реакций на фоне новой коронавирусной инфекции может помочь выработать новые стратегии ведения пациентов с новой коронавирусной инфекцией, а также пролить свет на механизмы, приводящие к отдаленным осложнениям и формированию постковидного синдрома (Post-COVID-19 syndrome, Long Covid).

Список литературы / References

1. Белоглазов В.А., Яцков И.А. Роль катепсина G в патогенезе хронической обструктивной болезни легких: возможные пути регуляции // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 3. С. 443-448. [Beloglazov V.A., Yatskov I.A. Role of cathepsin G in pathogenesis of chronic obstructive lung disease: possible ways of regulation. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2020, Vol. 22, no. 3, p. 443-448.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-ROC-1769.

2. Заболотских И.Б., Шифман Е.М. Анестезиология-реаниматология. Клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 960 с. [Zabolotskikh I.B., Shifman E.M. Anesthesiology – resuscitation science: clinical guidelines]. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 960 p.

3. Конев Ю.В. Роль эндотоксина (ЛПС) в патогенезе метаболического синдрома и атеросклероза // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2012. № 11. С. 11-22. [Konev Yu.V. The role of endotoxin in pathogenesis of metabolic syndrome and atherosclerosis. *Eksperimentalnaya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology, 2012, no. 11, p. 11-22.* (In Russ)].

4. Миллер Р. Анестезия Рональда Миллера: руководство в 4-х томах. СПб.: Человек, 2015. 3328 с. [Miller R. Ronald Miller's Anesthesiology]. St. Petersburg: Chelovek, 2015. 3328 p.

5. Рябов Г.Л. Гипоксия критических состояний. М.: Медицина, 1988. 288 с. [Ryabov G.L. Hypoxia of critical conditions]. Moscow: Meditsina, 1988. 288 p.

6. Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell, 2006, Vol. 124, no. 4, pp. 783-801.*

7. Alenina N., Bader M. ACE2 in bvrain physiology and pathophysiology: evidence from transgenic animal models. *Neurochem. Res., 2019, Vol. 44, no. 6, pp. 1323-1329.*

8. Belančić A., Jovanović G.K., Majanović S.K. Obesity-related low-grade chronic inflammation: implementation of the dietary inflammatory index in clinical practice is the milestone? *Medicina Fluminensis, 2018, Vol. 54, no. 4, pp. 373-378.*

9. Belančić A. Gut microbiome dysbiosis and endotoxemia – Additional pathophysiological explanation for increased COVID-19 severity in obesity. *Obes. Med., 2020, Vol. 20, 100302.* doi: 10.1016/j.obmed.2020.100302.

10. Bellani G., Laffey J.G., Pham T. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries. *JAMA, 2016, Vol. 315, pp. 788-800.*

11. Blakeway L.V., Tan A., Peak R.A., Seib K.L. Virulence determinants of Moraxella catarrhalis: distribution and considerations for vaccine development. *Microbiology, 2017, Vol. 163, pp. 1371-1384.*

12. Bufler P., Schmidt B., Schikor D., Bauernfeind A., Crouch E.C., Griese M. Surfactant protein A and D differently regulate the immune response to nonmucoid Pseudomonas aeruginosa and its lipopolysaccharide. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 2003, Vol. 28, pp. 249-256.*

13. Cañadas O., Keough K.M., Casals C. Bacterial lipopolysaccharide promotes destabilization of lung surfactant-like films. *Biophys. J., 2011, Vol. 100, no. 1, pp. 108-116.*

14. Choi K.J., Cha S.I., Shin K. M., Lee J., Hwangbo Y., Yoo S.S., Lee J., Lee S.Y., Kim C.H., Park J.Y. Prevalence and predictors of pulmonary embolism in Korean patients with exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration, 2013, Vol. 85, no. 3, pp. 203-209.*

15. Chroneos Z.C., Sever-Chroneos Z., Shepherd V.L. Pulmonary surfactant: an immunological perspective. *Cell. Physiol. Biochem., 2010, Vol. 25, no. 1, pp. 13-26.*

16. Curstedt T., Calkovska A., Johansson J. New generation synthetic surfactants. *Neonatology, 2013, Vol. 103, no. 4, pp. 327-330.*

17. Curstedt T., Johansson J. Different effects of surfactant proteins B and C – implications for development of synthetic surfactants. *Neonatology, 2010, Vol. 97, no. 4, pp. 367-372.*

18. Di Lorenzo F., Palmigiano A., Al Bitar-Nehme S. The lipid A from rhodopseudomonas palustris strain bisa53 lps possesses a unique structure and low immunostimulant properties. *Chemistry, 2017, Vol. 23, no. 15, pp. 3637-3647.*

19. Dickson R.P., Schultz M.J., Poll T.V., Schouten L.R., Falkowski N.R., Luth J.E., Sjoding M.W., Brown C.A., Chanderraj R., Huffnagle G.B. Biomarker Analysis in Septic ICU Patients (BASIC) Consortium. Lung microbiota predict clinical outcomes in critically ill Patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2020, Vol. 201, no. 5, pp. 555-563.*

20. Echaide M., Autilio C., Arroyo R., Perez-Gil J. Restoring pulmonary surfactant membranes and films at the respiratory surface. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr., 2017, Vol. 1859, no. 9, Pt B, pp. 1725-1739.*

21. Einarsson G.G., Comer D.M., Mcilreavey L., Parkhill J., Ennis M., Tunney M.M., Elborn J.S. Community dynamics and the lower airway microbiota in stable chronic obstructive pulmonary disease, smokers and healthy non-smokers. *Thorax, 2016, Vol. 71, no. 9, pp. 795-803.*

22. Engelmann B., Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol., 2013 Vol. 13, no. 1, pp. 34-45.*

23. Erb-Downward J.R., Thompson D.L., Han M.K., Freeman C.M., McCloskey L., Schmidt L.A., Young V.B., Toews G.B., Curtis J.L., Sundaram B. Analysis of the lung microbiome in the "healthy" smoker and in COPD. *PLoS One, 2011, Vol. 6, no. 2, e16384.* doi: 10.1371/journal.pone.0016384.

24. Eriksson O., Hultström M., Persson B., Lipcsey M., Ekdahl K.N., Nilsson B., Frithiof R. Mannose-Binding Lectin is Associated with Thrombosis and Coagulopathy in Critically Ill COVID-19 Patients. *Thromb. Haemost., 2020, Vol. 120, no. 12, pp. 1720-1724.*

25. Fan V.S., Gharib S.A., Martin T.R. Wurfel M.M. COPD disease severity and innate immune response to pathogen-associated molecular patterns. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis., 2016, Vol. 11, pp. 467-477.*

26. Galdeano C.M., Cazorla S.I., Lemme Dumit J.M., Vélez E., Perdigón G. Beneficial effects of probiotic consumption on the immune system. *Ann. Nutr. Metab., 2019, Vol. 74, no. 2, pp. 115-124.*

27. Gallo M.C., Kirkham C., Eng S., Bebawee R.S., Kong Y., Pettigrew M.M., Tettelin H., Murphy T.F. Changes in IgA protease expression are conferred by changes in genomes during persistent Infection by nontypeable Haemophilus influenzae in chronic obstructive pulmonary disease. *Infect. Immun., 2018, Vol. 86, no. 8, e00313-18.* doi: 10.1128/IAI.00313-18.

28. Gardai S.J., Xiao Y.Q., Dickinson M., Nick J.A., Voelker D.R., Greene K.E., Henson P.M. By binding SIRPalpha or calreticulin/CD91, lung collectins act as dual function surveillance molecules to suppress or enhance inflammation. *Cell, 2003, Vol. 115, no. 1, pp. 13-23.*

29. Gibson P.G., Qin L., Puah S.H. COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS. *Med. J. Aust., 2020, Vol. 213, no. 2, pp. 54-56.*

30. Grylls A., Seidler K., Neil J. Link between microbiota and hypertension: Focus on LPS/TLR4 pathway in endothelial dysfunction and vascular inflammation, and therapeutic implication of probiotics. *Biomed. Pharmacother., 2021, Vol. 137, 111334.* doi: 10.1016/j.biopha.2021.111334.

31. Hennezel E., Abubucker S., Murphy L.O., Cullen T.W. Total lipopolysaccharide from the human gut microbiome silences toll-like receptor signaling. *Systems, 2017, Vol. 2, no. 6, e00046-17.* doi: 10.1128/mSystems.00046-17 e00046-17.

32. Hoel H., Heggelund L., Reikvam D.H., Stiksrud B., Ueland T., Michelsen A.E., Otterdal K., Muller K.E., Lind A., Muller F., Dudman S., Aukrust P., Dyrhol-Riise A.M., Holter J.C., Troseid M. Elevated markers of gut leakage and inflammasome activation in COVID-19 patients with cardiac involvement. *J. Intern. Med., 2020, Vol. 25, no. 10, joim.13178.* doi: 10.1111/joim.13178.

33. Holmskov U., Thiel S., Jensenius J.C. Collections and ficolins: humoral lectins of the innate immune defense. *Annu. Rev. Immunol., 2003, Vol. 21, pp. 547-578.*

34. Hou H.H., Wang H.C., Cheng S.L., Chen Y.F., K.Z. Lu, Yu C.J. MMP-12 activates protease-activated receptor-1, upregulates placenta growth factor, and leads to pulmonary emphysema. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol., 2018, Vol. 315, no. 3, pp. L432-L442.*

35. Huang Y.J., Kim E., Cox M.J., Brodie E.L., Brown R., Wiener-Kronish J.P., Lynch S.V. A persistent and diverse airway microbiota present during chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *OMICS, 2010, Vol. 14, no. 1, pp. 9-59.*

36. Koliada A., Syzenko G., Moseiko V. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiol., 2017, Vol. 17, no. 1, 120.* doi: 10.1186/s12866-017-1027-1.

37. Kramer C.D., Genco C.A. Microbiota, immune subversion, and chronic inflammation. *Front. Immunol., Vol. 8, 255.* doi: 10.3389/fimmu.2017.00255.

38. Lei X., Dong X., Ma R. Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2. *Nat. Commun., 2020, Vol. 11, no. 1, 3810.* doi: 10.1038/s41467-020-17665-9.

39. Li X.Y., He C., Zhu Y. Role of gut microbiota on intestinal barrier function in acute pancreatitis. *World J. Gastroenterol., 202, Vol. 26, no. 18, pp. 2187-2193.*

40. Lu Y.C., Yen W.C., Ohashi P.S. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine, 2008, Vol. 42, pp. 145-151.*

41. Luo S., Zhang X., Xu H. Don't overlook digestive symptoms in patients with 2019 novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin. Gastroenterol. Hepatol., 2020, Vol. 18, pp. 1632-1633.*

42. Mahmoud I.S., Jarrar Y.B., Alshaer W. SARS-CoV-2 entry in host cells-multiple targets for treatment and prevention. *Biochimie, 2020, Vol. 175, pp. 93-98.*

43. McGuinness A.J., Sapey E. Oxidative stress in COPD: sources, markers, and potential mechanisms. *J. Clin. Med., 2017, Vol. 6, no. 2, 21.* doi: 10.3390/jcm6020021.

44. Miller R. Miller's Anesthesia, 6th Edition. New York: Churchill Livingston, 2005. 3198 p.

45. Moffatt M.F., Cookson W.O. The lung microbiome in health and disease. *Clin. Med., 2017, Vol. 17, pp. 525-529.*

46. Molinaro A., Holst O., Di Lorenzo F. Chemistry of lipid A: At the heart of innate immunity. *Chem. Eur. J., 2015, Vol. 21, pp. 500-519.*

47. Moreira A.P., Texeira T.F., Ferreira A.B., Peluzio M., Alfenas R.C. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxemia. *Br. J. Nutr., Vol. 108, no. 5, pp. 801-809.*

48. Munford R.S. Sensing Gram-Negative Bacterial Lipopolysaccharides: a Human Disease Determinant? *Infect. Immun., 2008, Vol. 76, pp. 454-465.*

49. Nagpal R., Newman T.M., Wang S., Jain S., Lovato J.F., Yadav H. Obesity-linked gut microbiome dysbiosis associated with derangements in gut permeability and intestinal cellular homeostasis independent of diet. *J. Diabetes Res., 2018, Vol. 2018, 3462092.* doi: 10.1155/2018/3462092.

50. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev., 2003, Vol. 67, pp. 593-656.*

51. Noris M., Benigni A., Remuzzi G. The case of complement activation in COVID-19 multiorgan impact. *Kidney Int., 2020, Vol. 98, no. 2, pp. 314-322.*

52. Park B.S., Song D.H., Kim H.M., Choi B.S., Lee H., Lee J.O. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature, 2009, Vol. 458, pp. 1191-1195.*

53. Petruk G., Puthia M., Petrlova J., Strömdahl A., Kjellström S., Schmidtchen A. SARS-CoV-2 Spike protein binds to bacterial lipopolysaccharide and boosts proinflammatory activity. *J. Mol. Cell Biol., 2021, Vol. 12, no. 12, pp. 916-932.*

54. Popkin B.M., Du S., Green W.D. Individuals with obesity and COVID-19: a global perspective on the epidemiology and biological relationships. *Obes. Rev., 2020, Vol. 71, no. 15, pp. 896-897.*

55. Pragman A.A., Knutson K.A., Gould T.J., Isaacson R.E., Reilly C.S., Wendt C.H. Chronic obstructive pulmonary disease upper airway microbiota alpha diversity is associated with exacerbation phenotype: a case-control observational study. *Respir. Res., 2019, Vol. 20, 114.* doi: 10.1186/s12931-019-1080-4.

56. Qin J., Li R., Raes J. A human gut microbial gene catalog established by metagenomic sequencing. *Nature, 2010, Vol. 464, no. 7285, pp. 59-65.*

57. Ricklin D., Hajishengallis G., Yang K. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat. Immunol., 2010, Vol. 11, no. 9, pp. 785-797.*

58. Roos A., Bouwman L.H., Munoz J. Functional characterization of the lectin pathway of complement in human serum. *Mol. Immunol., 2003, Vol. 39, pp. 655-668.*

59. Russo A.J., Behl B., Banerjee I., Rathinam V. Emerging insights into noncanonical inflammasome recognition of microbes. *J. Mol. Biol., 2018, Vol. 430, no. 2, pp. 207-216.*

60. Sethi S., Maloney J., Grove L., Wrona C., Berenson C. S. Airway inflammation and bronchial bacterial colonization in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2006, Vol. 173, pp. 991-998.*

61. Sethi S., Sethi R., Eschberger K., Lobbins P., Cai X., Grant B.J., Murphy T.F. Airway bacterial concentrations and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2007, Vol. 176, pp. 356-361.*

62. Sirivongrangson P., Kulvichit W., Payungporn S. Endotoxemia and circulating bacteriome in severe COVID-19 patients. *Intensive Care Med. Exp., 2020, Vol. 8, no. 1, 72.* doi: 10.1186/s40635-020-00362-8.

63. Skelly A.N., Sato Y., Kearney S., Honda K. Mining the microbiota for microbial and metabolite-based immunotherapies. *Nat. Rev. Immunol., 2019, Vol. 19, pp. 305-323.*

64. Sodhi C.P., Wohlford-Lenane C., Yamaguchi Y., Prindle T., Fulton W.B., Wang S., McCray P.B., Chappell M., Hackam D.J., Jia H. Attenuation of pulmonary ACE2 activity impairs inactivation of des-Arg bradykinin/BKB1R axis and facilitates LPS-induced neutrophil infiltration. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol., 2018, Vol. 314, no. 1, pp. 17-31.*

65. Thomson N.C. Targeting oxidant-dependent mechanisms for the treatment of respiratory diseases and their comorbidities. *Curr. Opin. Pharmacol., 2018, Vol. 40, pp. 1-8.*

66. Tian W., Zhang N., Jin R. Immune suppression in the early stage of COVID-19 disease. *Nat. Commun., 2020, Vol. 11, no. 1, pp. 58-59.*

67. van Eijk L. E., Binkhorst M., Bourgonje A.R., Offringa A.K., Mulder D.J., Bos E.M., Kolundzic N., Abdulle A.E., van der Voort P.H., Olde Rikkert M.G., van der Hoeven J.G., Den Dunnen W.F., Hillebrands J.L., van Goor H. COVID-19: immunopathology, pathophysiological mechanisms, and treatment options. *J. Pathol., 2021, Vol. 254, no. 4, pp. 307-331.*

68. Wang C., Xu J., Yang L., Xu Y., Zhang X., Bai C., Kang J., Ran P., Shen H., Wen F. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study. *Lancet, 2018, Vol. 391, pp. 1706-1717.*

69. Wang H., Head J., Kosma P., Brade H., Müller-Loennies S., Sheikh S., Mcdonald B., Smith K., Cafarella T., Seaton B., Crouch E. Recognition of heptoses and the inner core of bacterial lipopolysaccharides by surfactant protein D. *Biochemistry, 2008, Vol. 47, pp. 710-720.*

70. Weiss J., Barker J. Diverse pro-inflammatory endotoxin recognition systems of mammalian innate immunity. *F1000Res, 2018, Vol. 7, F1000 Faculty Rev-516.* doi: 10.12688/f1000research.13977.1.

71. Wu C., Chen X., Cai Y. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern. Med., 2020, Vol. 180, no. 7, pp. 934-943.*

72. Zhang G., Meredith T.C., Kahne D. On the essentiality of lipopolysaccharide to Gram-negative bacteria. *Curr. Opin. Microbiol., 2013, Vol. 16, pp. 779-785.*

73. Zhang H., Kang Z., Gong H., Xu D., Wang J., Li Zh., Li Z., Cui X., Xiao J., Zhan J., Meng T., Zhou W., Liu J., Xu H. Digestive system is a potential route of COVID-19: an analysis of single-cell coexpression pattern of key proteins in viral entry process. *Gut, 2020, Vol. 69, pp. 1010-1018.*

Авторы:

Яцков И.А. *– ассистент кафедры внутренней медицины № 2, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского – структурное подразделение ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия*

Белоглазов В.А. *– д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренней медицины № 2, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского – структурное подразделение ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия*

Рябова Э.И. *– студентка кафедры внутренней медицины № 2, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского – структурное подразделение ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия*

Authors:

Yatskov I.A., *Assistant Professor, Department of Internal Medicine No. 2, S. Georgievsky Medical Academy, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation*

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

Ryapova E.I., *Student, Department of Internal Medicine No. 2, S. Georgievsky Medical Academy, V. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation*

Поступила 07.03.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 07.03.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 19-30
© 2022, СПб РО РААКИ

Обзоры
Reviews

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 19-30
© 2022, SPb RAACI

ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ ПРИ РАЗРАБОТКЕ СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ

Казачинская Е.И.[1,2], Шаньшин Д.В.[2], Щербаков Д.Н.[2], Шестопалов А.М.[1]

[1] *ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия*
[2] *ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Резюме. Лихорадка денге, известная, по литературным источникам, с эпохи династии Цинь (265-420 гг.), развивается у человека при укусе комарами рода Aedes, инфицированных вирусом денге (dengue virus, DENV) и проявляется как гриппоподобное заболевание. Лихорадочное состояние может сопровождаться диспепсическими расстройствами (тошнотой, рвотой, диареей) и сыпью. Приблизительно 1-2% случаев инфекции клинически представлены как наиболее тяжелая форма – это геморрагическая лихорадка денге/синдром шока денге (dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS), приводящие в эндемичных районах к 500 тыс. ежегодных госпитализаций с летальностью около 5%. Четыре генетически удаленных серотипа DENV (1, 2, 3 и 4), открытые в середине XX в., классифицируются как разные виды вирусов внутри одного антигенного комплекса и имеют почти идентичную эпидемиологическую картину вызываемых ими заболеваний. В 2013 г. был выделен новый серотип DENV-5. До 1980-х гг. в большинстве географических регионов мира, где регистрировалась лихорадка денге, выявлялся вирус, относящийся только к одному или двум серотипам. С течением времени наблюдается увеличение ко-циркуляции четырех видов вирусов, что может служить ключевым индикатором их глобального распространения. По мере того, как «следы» четырех видов DENV все больше пересекаются, угроза развития тяжелой болезни возрастает из-за феномена антитело-зависимого усиления инфекции при повторном инфицировании гетерологичным вирусным серотипом.

Разработка средств специфической профилактики лихорадки денге ведется с 1944 г. (с момента выделения этиологического возбудителя этой болезни), но первая и пока единственная лицензированная в 2015 г. четырехвалентная вакцина – Dengvaxia, разработанная французской фармацевтической компанией Sanofi Pasteur, оказалась в разной степени эффективна при инфицировании каждым из вирусных серотипов и, кроме того, опасной для ранее серонегативных людей. Исследования, направленные на получение безопасной и эффективной вакцины, продолжаются. Нейтрализующие моноклональные антитела являются необходимым инструментом изучения антигенной структуры вирусных иммуногенов – основы профилактических препаратов против лихорадки денге.

Ключевые слова: лихорадка денге, вирус денге, вакцина

Адрес для переписки:
Казачинская Елена Ивановна
ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора
630559, Россия, Новосибирская обл., р. п. Кольцово, 32-1.
Тел.: 8 (909) 530-74-41.
E-mail: lena.kazachinskaia@mail.ru

Address for correspondence:
Kazachinskaya Elena I.
State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector"
630559, Russian Federation, Novosibirsk Region, Koltsovo, 32-1.
Phone: 7 (909) 530-74-41.
E-mail: lena.kazachinskaia@mail.ru

Образец цитирования:
Е.И. Казачинская, Д.В. Шаньшин, Д.Н. Щербаков, А.М. Шестопалов «Проблемные вопросы при разработке средств специфической профилактики лихорадки денге» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 19-30.
doi: 10.15789/1563-0625-PQI-2346
© Казачинская Е.И. и соавт., 2022

For citation:
E.I. Kazachinskaya, D.V. Shanshin, D.N. Shcherbakov, A.M. Shestopalov "Problematic questions in the development of specific prevention of dengue fever", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 19-30.
doi: 10.15789/1563-0625-PQI-2346
DOI: 10.15789/1563-0625-PQI-2346

PROBLEMATIC QUESTIONS IN THE DEVELOPMENT OF SPECIFIC PREVENTION OF DENGUE FEVER

Kazachinskaya E.I.[a, b], Shanshin D.V.[b], Shcherbakov D.N.[b], Shestopalov A.M.[a]

[a] *Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation*
[b] *State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Abstract. Dengue fever known from literary sources since the Qin dynasty (265-420) is caused in humans when bitten by Aedes mosquitoes infected with the dengue virus (DENV) and manifests as a flu-like disease. A feverish state can be accompanied by dyspeptic disorders (nausea, vomiting, diarrhea) and a rash. Approximately 1-2% of infections are clinically presented as the most severe form – it is dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) leading to 500 thousand annual hospitalizations with a mortality rate of about 5% in endemic areas.

Four genetically removed DENV serotypes (1, 2, 3, and 4) are classified as different types of viruses within the same antigen complex and have almost identical epidemiological features. In 2013 a new serotype DENV-5 was isolated.

Until the 1980s in most geographical regions of the world where dengue fever was registered only one or two viral serotypes were detected as an etiological agent of the disease. Over time there is an increase in the co-circulation of four types of viruses which can serve as a key indicator of their global spread. As the "traces" of the four DENV species overlap more and more the threat of severe disease increases due to the phenomenon of antibody-dependent of infection when re-infected with a heterologous viral serotype.

Development of specific dengue fever prevention has been underway since 1944 (since the discovery of viral agents of this disease) but the first and so far only licensed in 2015 tetravalent vaccine-Dengvaxia developed by the French pharmaceutical company Sanofi Pasteur has been effective in varying degrees of protection against infection with each of the viral serotypes and in addition dangerous for previously seronegative people. Research aimed at obtaining a safe and effective vaccine is continuing. Neutralizing monoclonal antibodies are a necessary tool for studying the antigenic structure of viral immunogens as base of prevention preparates against dengue fever.

Keywords: dengue fever (DF), dengue virus (DENV), vaccine

Введение

Еще до недавнего времени, т.е. до распространения в 2020 г. по всему миру SARS-CoV-2 – нового вида коронавируса (coronavirus, CoV), вызывающего тяжелый острый респираторный синдром (severe acute respiratory syndrome, SARS) [54], в научной литературе вирус денге (dengue virus, DENV) именовался одним из глобальных патогенов, т.к. вызываемая им болезнь у людей – лихорадка денге (dengue fever, DF) эндемична более чем для 100 стран тропических/субтропических районов земного шара (в Юго-Восточной Азии, Северной и Южной Америке, западной части Тихого океана, Африке и Восточном Средиземноморье) [30]. Почти 4 миллиарда человек, проживающих на перечисленных территориях, подвержены риску заражения DENV при контакте с переносчиками возбудителя болезни – комарами рода *Aedes* (видами *Ae. aegypti, Ae. albopictus* и др.) [10], ареал которых расширяется из-за потепления климата [39]. Появление комаров вида *Ae. aegypti* зафиксировано в Турции, на черноморском побережье России и Грузии [38], в Германии [56] и Англии [16]. Неконтролируемая урбанизация с перемещением вирусного «хозяина» на неэндемичные территории приводит к формированию новых природных очагов DF [39], т.к. в острой фазе болезни DENV присутствует в высокой концентрации в крови инфицированных [4] и виремия способствует автохтонным (с включением в цикл местных видов комаров) спорадическим случаям болезни на неэндемичных территориях, как например, описано для европейских стран – Хорватии, Франции и острова Мадейра, принадлежащего Португалии [60]. В период с 2006 по 2016 гг. количество зарегистрированной DF в мире увеличилось на 74,7% [55]. Согласно отчету ВОЗ за 2017 г., ежегодно регистрируется 390 миллионов случаев DF, из которых 96 миллионов с симптомами средней или тяжелой степени течения болезни. В то же время, подавляющее большинство случаев болезни (до 80% от числа инфицированных) бессимптомны. Для классической DF характерно острое начало болезни с повышением температуры тела (до 40 °C), головной болью, ре-

троорбитальной болью, миалгией, артралгиями и длительностью лихорадочного периода от 2 до 7 суток. Лихорадочное состояние может сопровождаться диспепсическими расстройствами (тошнотой, рвотой, диареей). У 50-80% от числа больных с первых суток заболевания наблюдается гиперемия кожи. На 4-7-е сутки возможно появление пятнистой, пятнисто-папулезной или петехиальной сыпи (от единичных элементов до обильной кореподобной экзантемы). Кроме того, встречается такая характерная для DF сыпь, как «белые острова в красном море» [3]. В опасных для жизни случаях болезни вирус поражает почти все органы человеческого тела, вызывая полиорганную недостаточность, кардиомиопатию и даже энцефалопатию [8]. Приблизительно 1-2% случаев инфекции клинически представлены наиболее тяжелой формой – геморрагической DF/синдромом шока денге (dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS), характеризующейся повреждением тканей и капилляров, и, как результат – утечкой плазмы и/или кровоизлиянием. DHF/DSS приводит к 500 тыс. ежегодных госпитализаций с летальностью около 5% [39].

Четыре серотипа DENV (1, 2, 3 и 4) имеют почти идентичную эпидемиологическую картину вызываемых ими заболеваний [13] и, по мере того, как их «следы» все больше пересекаются, угроза развития тяжелой болезни возрастает из-за феномена антитело-зависимого усиления инфекции (antibody-dependent enhancement, ADE) при повторном инфицировании гетерологичным вирусным серотипом [21]. Еще одна гипотеза патогенности при повторном заражении DENV заключается в том, что иммунопатогенные механизмы приводят к «цитокиновому шторму» (неконтролируемой и не несущей защитной функции активации цитокинами иммунных клеток в очаге воспаления), который вызывает дисфункцию проницаемости капилляров и плазмопотерю. Имеются публикации, указывающие на то, что DENV-2 чаще остальных серотипов вызывает DHF/DSS, независимо от возраста и пола заболевшего. DENV-3 также ассоциируется с DHF/DSS и тяжелым поражением печени. Осложняет ситуацию отсутствие доступных и простых методов серотипирования, в настоящее время для этого используют молекулярно-генетические методы [9]. Нет и специфического лечения болезни, вызываемой DENV, поэтому одной из приоритетных задач, поставленных ВОЗ в 2012 г. было снижение смертности от DF к 2020 г. на 50% за счет использования однократно вводимой вакцины, вызывающей длительный иммунитет, защищающей от всех четырех серотипов DENV и не имеющей серьезных побочных эффектов [48]. Эта задача осталась невыполненной. Первая и пока единственная лицензированная в 2015 г. вакцина против DENV – Dengvaxia, разработанная французской фармацевтической компанией Sanofi Pasteur, была одобрена для применения в Бразилии, Мексике и на Филиппинах. Но оказалось, что она защищает от серотипов 3 и 4 DENV на 72 и 77%, а против серотипов 1 и 2 еще менее эффективна – 40 и 50% соответственно (от числа испытуемых) [27]. Кроме того, Филиппины немедленно прекратили кампанию вакцинации после того, как в ноябре 2017 г. представители Sanofi Pasteur объявили, что вакцина может усугубить случаи DF у ранее не инфицированных детей [20]. По информации министерства здравоохранения Филиппин от 19 сентября 2018 г. – 130 детей, вакцинированных Dengvaxia, умерли, у 19 из них была подтверждена DF [43]. ВОЗ признала некоторые летальные случаи, связанные с развитием тяжелой DF у иммунизированных детей при последующем инфицировании и рекомендовала использовать Dengvaxia только лицам от 9 до 45 лет в условиях серопревалентности [20].

США и Евросоюз недавно лицензировали Dengvaxia [61] и в литературе обсуждается вопрос необходимости ее применения для неиммунных путешественников, т.к. DF в количественном отношении обогнала малярию в качестве ведущей причины лихорадочных заболеваний в Юго-Восточной Азии и встречается чаще, чем вакциноконтролируемые заболевания, такие как гепатиты А и В, бешенство, японский энцефалит и желтая лихорадка [33]. В России нет природных очагов DF, но в последние годы страны Юго-Восточной Азии пользуются особой популярностью у российских туристов и в РФ все чаще стали регистрироваться завозные случаи этой болезни, в том числе в 2012 г. – 63, в 2013 г. – 170, в 2014 г. – 105, в 2015 г. – 136, в 2016 г. – 145, в 2017 г. – 196, за 11 месяцев 2018 г. – 212 случаев соответственно. Заражение происходит при посещении Таиланда, Вьетнама, Индонезии, Индии, Бангладеш, Гонконга, Мальдивских островов [2]. Специфическая профилактика DF становится все более актуальным вопросом, поэтому в данном обзоре рассмотрены варианты вакцинных препаратов и проблемные вопросы, связанные с их разработкой.

1. Классификация, характеристика инфекционного агента, строение генома и вириона, феномен ADE

DENV, по классификации Международного комитета по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV), отнесен к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae* (от лат. *Flavus* – желтый) [1]. В настоящее время наиболее изученными являются вирусы некоторых антигенных комплексов рода *Flavivirus*: вирус желтой лихорадки (yellow fever virus, YFV); DENV (четыре серотипа); Японского энцефалита (Japanese encephalitis virus, JEV), в него включены вирус

Западного Нила (West Nile virus, WNV) и вирус энцефалита Сент-Луис (Saint-Louis virus, SLEV); клещевого энцефалита (tick-born encephalitis virus, TBEV) и вирус Омской геморрагической лихорадки (Omsk hemorrhagic fever virus, OHFV, комплекс TBEV); вирус Зика (Zika virus, ZIKV), – это известные флавивирусы, в большинстве своем, патогенные для человека вследствие их нейровирулентности. Эпидемиологические исследования показали, что ареалы некоторых из этих флавивирусов перекрываются [34].

Четыре генетически удаленных вирусных серотипа DENV классифицируются внутри одного антигенного комплекса как разные виды (серотипы) вирусов – DENV-1, DENV-2, DENV-3 и DENV-4 соответственно. Каждый серотип, в свою очередь, разделяется на различные генотипы на основе полных последовательностей гена Е, кодирующего белок оболочки [13]. Результаты широкого филогенетического анализа показывают, что все современные серотипы DENV эволюционировали независимо и неоднократно в серии дивергентных событий, которые произошли после формирования достаточно больших городских популяций (человеческих и комариных), поддерживающих постоянный цикл передачи вирусов комарами от человека человеку. Предполагается, что общий предок DENV появился более 1000 лет назад в инфекционном цикле, включающем нечеловекообразных приматов и комаров, причем передача вирусов людям произошла независимо для каждого из всех четырех типов вирусов всего несколько сотен лет назад [35]. До 1980-х гг. в большинстве географических регионов мира регистрировалась DF и этиологический агент болезни только одного или двух серотипов DENV. С течением времени наблюдается отчетливое увеличение коциркуляции четырех видов вирусов, что может служить ключевым индикатором их глобального распространения [14]. Кроме того, в последние годы обсуждается существование пятого серотипа (DENV-5), выделенного в 2013 г. [42].

Вирион DENV, как и любого флавивируса, имеет сферическую форму и содержит в оболочке, окружающей нуклеокапсид, 180 молекул гликопротеина Е и 180 молекул негликолизированного белка М. Капсид с кубическим типом симметрии, сформированный 180 молекулами капсидного белка С, содержит геном – линейную плюс – нитевую РНК размером приблизительно 11 000 пар нуклеотидов (п.н.). Геномная РНК инфекционна т.к. имеет такую же последовательность нуклеотидов, что мРНК, и поэтому в клетке-мишени может обеспечить экспрессию генов [5]. DENV имеет широкий тканевый тропизм из-за способности использовать нескольких видов клеточных рецепторов. В первую очередь это глюкозамины, в том числе гепарансульфаты, интегрины, молекулы клеточной адгезии, ламининовый и маннозный рецепторы и другие [17]. Вирусная РНК транслируется в цитоплазме эндоплазматического ретикулума (endoplasmic reticulum, ER) в виде одного полипротеинового предшественника, который расщепляется вирусными и клеточными протеазами с образованием трех структурных белков: оболочечного гликопротеина Е (envelope), мембранного белка prM/M (precursor/matrix) (у незрелого/зрелого вириона соответственно), капсидного белка С (capsid) и семи неструктурных (nonstructure) белков: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b и NS5. Структурные белки закрепляются в ER на люминальной стороне, где происходит сборка и созревание вириона [5]. Белки Е четырех серотипов DENV имеют 60-70% сходства по составу аминокислотных остатков (а.о.) [41]. Трехмерная реконструкция изображения зрелого DENV показала, что вирус проявляет различные конформационные изменения поверхностных структур во время своего созревания в процессе заражения клетки, и это объясняется определенной гибкостью поверхностного белка Е [37]. Белок Е (молекулярной массой 50-53 кДа и длиной примерно 500 а.о.) является основным поверхностным антигеном вириона DENV, поэтому антитела, направленные против него, обеспечивают иммунитет во время естественной инфекции. Белок Е состоит из трех доменов (domen E, ED), а именно – EDI, EDII и EDIII, а его олигомерные состояния поддерживаются шарнирным движением между EDI-EDII и EDI-EDIII [41]. EDIII каждого из четырех серотипов DENV способствуют синтезу высокоактивных нейтрализующих антител, которые в значительной степени являются серотип-специфичными [57]. При естественной инфекции у людей вырабатываются, в основном, перекрестно-реактивные антитела, специфичные к EDII [53], т.к. он содержит петлю слияния (район 98-113 а.о.) – высококонсервативную область белка Е, почти на 100% идентичную у известных представителей флавивирусов [46]. Считается, что DENV использует эти перекрестно-реактивные антитела (слабо нейтрализующие или не нейтрализующие) для получения доступа в клетку «хозяина» через ее Fc-рецептор в качестве альтернативного пути при вторичной инфекции с гетерологичным серотипом, что приводит к усилению инфекции – эффекту ADE [57]. Поэтому идеальной вакциной против DF может быть профилактический препарат, способный обеспечить синтез большего количества высоко нейтрализующих антител, специфичных к четырем серотипам DENV [37]. Также необходимо учитывать, что DENV, имеющие РНК-геном, имеют высокую частоту мутаций и совместная циркуляция нескольких серотипов, индуцирующих синтез разного набора нейтрализующих антител, повы-

шает вероятность таких событий и появление новых генотипов [42].

2. Варианты разрабатываемых вакцин против лихорадки денге

DF, известная, по литературным источникам, с эпохи династии Цинь (265-420 гг.) [24], в XX веке нанесла значительный ущерб военному корпусу США [23], оказавшись в списке наиболее приоритетных угроз [12]. В связи с этим министерство обороны США активно поддерживает исследования в плане разработки вакцины с момента выделения этиологического агента DF – DENV [23]. В 1944 г. майору медицинской службы Альберту Сабину (Albert Sabin) с сотрудниками удалось из сывороток крови инфицированных военных выделить образцы DENV и идентифицировать их как два его серотипа (Hawaii и New Guinea, позднее названные как DENV-1 и DENV-2 соответственно) в экспериментах по заражению волонтеров. Были получены первые вакцинные препараты на основе мозговой ткани инфицированных мышей, но испытания остановили из-за многочисленных побочных явлений и в связи с окончанием войны [23]. Позднее, в 1953 г., на Филиппинах были выявлены еще два вирусных серотипа – 3 и 4 [40].

В настоящее время вакцины против DF находятся на разных этапах разработки, рассматриваются варианты нерепликативных и репликативных четырехвалентных платформ, способных одновременно индуцировать гомотипический иммунитет к каждому из четырех серотипов DENV.

2.1. Нерепликативные вирусные вакцины

Существует несколько стратегий для разработки этого класса вакцин – инактивированные, субъединичные белковые (рекомбинантные белки E), ДНК, на основе вирусных векторов с дефектом репликации, пептидные. Преимущества таких препаратов: сниженная реактогенность и лучшая пригодность для иммуннодефицитных лиц (т.е. индукция развития иммунитета без риска заражения). Недостатки заключаются в необходимости применения адъювантов из-за низкого и кратковременного иммунного ответа, который, к тому же, может привести к эффекту ADE [37]. Из перечисленных платформ испытания I фазы на добровольцах описаны пока для четырехвалентной смеси (1 мкг препарата, конъюгированного с квасцами) четырех серотипов DENV, инактивированных в 0,05%-ом растворе формалина [49] и для ДНК-вакцины, содержащей гены prM и E каждого вирусного серотипа [47]. Ожидается переход к клиническим испытаниям самых перспективных из этих препаратов.

2.2. Реплицирующиеся вирусные вакцины

Живые аттенуированные вирусы (live-attenuated viruses, LAVs) создаются путем снижения вирулентности патогена без ущерба для его репликации. Такие препараты должны генерировать полноценный иммунный ответ у вакцинированных, т.к. известно, что во время естественной инфекции за защиту отвечают антитела, специфически направленные как против структурных, так и неструктурных белков DENV [37]. Способы получения LAVs против DENV включают аттенуирование путем последовательного пассирования вируса на клеточных линиях или целенаправленного мутагенеза, а также путем конструирования химерных вирусов. Преимущества таких вакцин – низкая себестоимость производства и долгосрочный иммунитет. Недостатки: трудности в ослаблении инфекционности вирионов, генетическая нестабильность, возможность реверсии к дикому генотипу, а также интерференция в случае многокомпонентного состава [37]. Тем не менее в настоящее время две живые аттенуированные вакцины находятся на поздних стадиях разработки – LATVΔ30 (live-attenuated tetravalent vaccine) с делецией 30 н.о. в 3'-нетранслируемой области генома (производства США) и TDV (tetravalent dengue vaccine, ранее называемая DENVax, химера на основе аттенуированного штамма DENV-2, производства США и Японии), а третья – CYD-TDV (chimeric yellow fever-dengue, CYD-tetravalent dengue vaccine, химера на основе живой аттенуированной вакцины против YFV, производства Франции) после завершения фазы III испытаний прошла долгосрочное наблюдение в течение 5 лет [22].

2.2.1. LAVs, аттенуированные путем последовательных пассажей

Научная группа Университета Mahidol в Тайване впервые разработала живую аттенуированную четырехвалентную вакцину путем последовательных пассажей вирусов на сертифицированных первичных клеточных культурах. Инфекционность серотипов 1, 2 и 4 DENV была ослаблена в первичных клетках почки собаки (primary dog kidney, PDK), тогда как серотип 3 был последовательно пассирован в перевиваемых клетках почки африканской зеленой мартышки (линия Vero). Вакцины-кандидаты были тестированы в виде одновалентных (один вирус), двухвалентных, трехвалентных и четырехвалентных (все четыре серотипа вируса) препаратов на добровольцах из Таиланда. Показана иммуногенность препаратов как у взрослых, так и у детей, но отмечалась повышенная частота побочных реакций, таких как лихорадка, сыпь, миалгия и ретроорбитальная боль, в первую очередь связанных с вакцинным штаммом DENV-3. Дальнейшее испытание этих LAVs на людях было остановлено [6]. Другая четырехвалентная LAV была разработана в WRAIR (Walter Reed Army Institute of Research, исследовательский институт армии США имени Уолтера Рида). Этот препарат оценивался в клинических испытаниях в сотрудничестве с британской фармацев-

тической компанией GlaxoSmithKline (GSK). Все четыре серотипа DENV (штаммы 45AZ5 DENV-1, S16803 DENV-2, CH53489 DENV-3, 341750 DENV-4) были аттенуированы путем их пассирования в первичных клетках почки собаки. Во время клинических испытаний фазы II (оценка на безопасность и иммуногенность) этот четырехвалентный препарат, названный как F17/Pre, при подкожном введении в дельтовидную мышцу взрослым американским добровольцам в дозе от 10^3 до 10^5 БОЕ/мл (бляшкообразующих единиц в миллилитре), приводил к вакцинно-индуцированной виремии на 10-е сутки после первой иммунизации. При повторной иммунизации виремия не была обнаружена [51]. Испытание безопасности и иммуногенности четырехвалентной вакцины WRAIR/GSK на основе F17/Pre, было проведено в отделении педиатрии больницы г. Бангкок (Таиланд) на группе, состоящей из 51-го здорового ребенка в возрасте 12-15 месяцев. Этот возрастной диапазон был выбран как самый ранний момент времени для индукции потенциально защитного иммунного ответа против DENV, не модифицированного материнскими антителами, функции которых ослабевают к 12 месяцам жизни. Вакцина WRAIR/GSK, введенная в виде двух доз с интервалом в 6 месяцев детям с флавивирусной наивностью (т.е. они были неиммунны к DENV и JEV) была, со слов авторов статьи, в целом хорошо переносимой. При этом отмечалось наличие лихорадки у 20 реципиентов с температурой тела 38 °С и выше. Семь испытуемых имели виремию на 10-е сутки после первой вакцинации (пятеро по DENV-4 и двое по DENV-2). В течение 30-суточного периода наблюдения после каждой дозы вакцины наиболее частыми побочными проявлениями была сыпь и лимфаденопатия (цервикальная, паховая или оба вида). У одного ребенка имелись признаки поражения печени, проявляющиеся повышением концентрации аминотрансфераз. Доказательства повреждения печени были наиболее заметны после введения второй дозы вакцины и были связаны с обнаружением низких титров DENV-4 [58].

2.2.2. LAVs, аттенуированные мутагенезом

Стратегия 30-нуклеотидной делеции (Δ30) в районе 172-143 п.н. 3'-нетраслируемой области (untranslated region, UTR) генома DENV для получения подходящей аттенуированной четырехвалентной вакцинной композиции является привлекательным подходом. Таким образом обеспечивается ослабление инфекционности вирионов, при сохранении всех структурных и неструктурных вирусных белков в составе каждого из четырех компонентов четырехвалентного препарата, способных вызывать полноценный гуморальный и клеточный иммунный ответ. Кроме того, делеционные мутации генетически более стабильны, чем точечные мутации, поэтому реверсия аттенуированного вирусного фенотипа маловероятна [18].

Вакцина LATVΔ30 (в двух композициях TV003/TV005, отличающихся по дозам аттенуированного штамма Tonga/74 DENV-2, но содержащих одинаковые дозы DENV-1, 3 и 4 – штаммы Western Patific, Sleman/78 и Dominica/814669/1981 соответственно), совместно разработанная государственным биомедицинским научно-исследовательским центром Бутантан (Butantan, Бразилия) и Национальным институтом здравоохранения США в Мариленде, прошла фазу III испытаний на взрослых добровольцах, имеющих флавивирусные антитела (против DENV, YFV, WNV, SLEV или JEV) при подкожном введении по 0,5 мл дважды (на 0 и 180-е сутки). Показано, что каждый из компонентов тетравалентного препарата индуцирует гомотипический антительный ответ. После первой иммунизации у большинства испытуемых (66%) появилась сыпь и у многих испытуемых (76%) детектировалась виремия. Авторы считают, что ранее существовавшие антитела к любому из флавивирусов, возможно, могли играть роль в транзиторном усилении виремии при применении вакцины DENV на серотип-специфической основе [59]. По данным этих же авторов [59], проводится оценка TV003/TV005 на людях в популяциях Таиланда и Бразилии на эндемичных территориях. Вакцина лицензирована для отечественных производителей в Бразилии (Instituto Butantan), Вьетнаме (Vabiotech) и Индии (Panacea Biotec and Serum Institute of India).

2.2.3. Химерные LAVs

Химерные вакцины против DENV разрабатываются с использованием двух подходов. В первом случае препарат получают при совместной репликации целевого штамма DENV с другим аттенуированным штаммом DENV (интертипичная химера), во втором – с антигенно-родственным аттенуированным флавивирусом [37].

DENVax является примером использования химерного варианта, разработанного компанией Inviragen Inc., в Форт Коллинсе (США). Штамм DENV-2 (16681, Таиланд) был аттенуирован в результате 53-х пассажей на культуре первичных клеток почки собаки. Поскольку мутации в аттенуированном штамме обнаружены в генах неструктурных белков, аттенуированный препарат использовали в качестве компонента DENV-2 в четырехвалентной рецептуре и в качестве основы для заменены генов prM и E этого штамма соответствующими генами из штаммов DENV-1 (16007, Таиланд), DENV-3 (16562, Филлипины) и DENV-4 (1036, Индонезия). Полученные таким образом химерные вирусы обладали чувствительным к температуре фенотипом, сниженной репликацией в клеточных линиях комаров, высокой степенью генетической стабильности и отсутствием нейровирулентности у мышей-сосунков [36]. Без-

опасность и иммуногенность препарата тетравалентного DENVax были оценены при подкожном введении 10^5 БОЕ/0,5 мл 5-8-недельным иммунодефицитным мышам линии AG129, не имеющих генов рецепторов для IFNα, IFNβ и IFNγ. Препарат DENVax вызывал у животных ограниченную виремию, индуцировал синтез нейтрализующих антител (специфичных ко всем четырем серотипам DENV) и обеспечивал полную защиту от клинических признаков заболевания при внутрибрюшинном заражении дикими типами DENV-1 (штамм Mochizuki) либо DENV-2 (штамм New Guinea C) в дозах 10^6 БОЕ/0,1 мл [11]. Тетравалентный DENVax также был протестирован на безопасность, иммуногенность и эффективность на приматах вида *cynomolgus* (*Macaca fascicularis*) возраста 6-8 лет, сыворотки крови которых не обладали реактивностью в отношении флавивирусов. Подкожное введение препарата в дозе 10^5 БОЕ/мл каждого серотипа хорошо переносилось этими животными. Антитела, нейтрализующие все четыре серотипа DENV, появились после одного или двух введений вакцины (на 0 и 60-е сутки). Все иммунизированные животные были защищены от виремии при заражении штаммами дикого типа в дозах 10^5 БОЕ/0,5 мл на 30-е сутки после второй иммунизации [44].

Для оценки различий в иммуногенности и/или интерференции между серотипами DENV были приготовлены три четырехвалентные вакцинные композиции, состоящие из различных соотношений отдельных компонентов DENVax: препарат № 1 содержал 10^3 БОЕ/мл каждого из четырех вирусов на одну дозу; препарат № 2 – 10^3 БОЕ/мл DENV-1 и DENV-2, но более высокие титры (10^5 БОЕ/мл) DENV-3 и DENV-4 на одну дозу; препарат № 3 – 10^5 БОЕ/мл каждого из четырех вирусов DENVax на одну дозу. Было отмечено, что при подкожном введении макакам серотип DENV-2 является доминирующим компонентом живой химерной вакцины, но его репликативный потенциал снижается за счет увеличения концентрации компонентов DENV-3 и DENV-4. Таким образом, снижение уровня DENV-2-индуцированной виремии из-за изменения дозы других штаммов указывает на вирусную интерференцию. Кроме того, было обнаружено, что титры нейтрализующих антител, специфичных к DENV-4, были значительно ниже, чем против трех других видов вирусов, но, несмотря на это, приматы были защищены от инфицирования как штаммом DENV-4 дикого вида, как и от всех других серотипов DENV [44].

Для исследований DENVax фазы I в Колумбии были выбраны 96 здоровых мужчин и женщин в возрасте 18-45 лет с отрицательными серологическими результатами на антитела ко всем серотипам DENV, а также к YFV, WNV, гепатитам B и C, ВИЧ. Препараты вакцины вводили подкожно (по 0,5 или 0,1 мл) в дельтовидную мышцу в виде двух доз с интервалом в 90 суток. Низкодозовые препараты DENVax1, DENVax2, DENVax3 и DENVax4 содержали 8×10^3, 5×10^3, 1×10^4 и 2×10^5 БОЕ на одну дозу соответственно. Высокодозные композиции содержали 2×10^4, 5×10^4, 1×10^5, и 3×10^5 БОЕ этих препаратов на одну дозу. Исследования показали, что кандидатный вакцинный препарат безопасен и иммуногенен против всех четырех серотипов DENV. Титры нейтрализующих антител, вызванные четырехвалентным DENVax, отличались – самыми низкими были против DENV-4 и самыми высокими против DENV-2. (Примечательно, что эти результаты подтвердили данные, полученные ранее в исследовании на нечеловекообразных приматах). Инфекционные вирусы DENVax были обнаружены только у десяти (25%) из 40 участников в группе низких доз и у 13 (33%) из 39-ти участников в группе высоких доз. Также отмечены приемлемая переносимость и иммуногенность препаратов четырехвалентного DENVax у здоровых взрослых людей, ранее не имевших иммунного ответа к флавивирусам [45]. Японская фармацевтическая компания Takeda приобрела лицензию на производство DENVax (Inviragen Inc.) под названием TDV (tetravalent dengue vaccine) и проводит интенсивные клинические испытания этого препарата [22].

Dengvaxia (или CYD-TDV, т.е. chimeric yellow fever-dengue – tetravalent dengue vaccine) разработана международной фармацевтической компанией Sanofi Pasteur, одним из четырех мировых производителей вакцины против YFV [28, 29]. Эта четырехвалентная химерная вакцина против DENV, сконструирована путем замены структурных генов (E и prM) живой аттенуированной вакцины против YFV 17D структурными генами из каждого серотипа DENV. Каждый моновалентный CYD представлен родительским штаммом: DENV-1 – PUO-359/TVP-1140 (Таиланд), DENV-2 – PUO-218 (Таиланд), DENV-3 – PaH881/88 (Таиланд) и DENV-4 – 1228(TVP-980, Индонезия) соответственно, которые культивировались на клетках Vero и объединялись в единую вакцинную композицию. Геномы CYD (DENV-1-4) были полностью секвенированы на различных стадиях производства, начиная с первых пассажей и до позднего этапа. Вакцинный препарат содержит по 5 log10 CCID50 (cell-culture infections dose 50%, 50%-ной инфекционной дозы для клеток) каждого химерного типа DENV и рекомендован для подкожной инъекции в трех дозах с интервалом в 6 месяцев [52]. Доклинические испытания вакцины проводили на макаках (*Macaca mulatta* и *Macaca fascicularis)*, т.к. у этих животных воссоздается клинический фенотип DF. Однократная доза CYD-TDV вводилась приматам подкожно и, в результате, была выявлена

сероконверсия нейтрализующих антител, специфичных к каждому вирусному серотипу. При инфицировании дикими штаммами DENV через 6 месяцев после иммунизации 22 макаки из 24-х были защищены от виремии [25]. При оценке интерференции между моновалентными CYD на макаках было выявлено, что при их одинаковой концентрации (5 log10 CCID50) нейтрализующий антительный ответ преимущественно вызывал серотип DENV-4. При уменьшении дозы DENV-4 повышался синтез антител, нейтрализующих DENV-1 [26]. Антитела сывороток крови, собранные через две недели после вакцинации приматов с Dengvaxia, *in vitro* нейтрализовали широкий спектр циркулирующих серо- и генотипов DENV [7].

Безопасность и иммуногенность Dengvaxia была изучена в многочисленных клинических испытаниях, включая взрослых добровольцев до 60-ти лет и детей в возрасте от 9 месяцев в Азии, Латинской Америке и США [52]. Dengvaxia – это первая лицензированная вакцина против DENV (2015 г.) и одобренная для применения в Бразилии, Мексике и на Филиппинах, хотя защита от серотипов 3 и 4 DENV составляет 72% и 77% соответственно, а против серотипов 1 и 2 всего – 40% и 50% соответственно (из числа испытуемых). Такой уровень защиты может считаться низким, особенно по сравнению с протективностью 95% и даже 100%, для вакцин, используемых для профилактики желтой лихорадки, гепатита В, краснухи, кори, паротита и столбняка [27]. Кроме того, в ходе трех клинических испытаний с участием более 35 тыс. детей в возрасте от 2 до 16 лет в странах Азиатско-Тихоокеанского региона и Латинской Америки показано, что эффективность Dengvaxia зависит от серологического статуса прививаемого лица [31], т.е. вакцина безопасна только для людей, ранее переболевших DF и может быть причиной развития тяжелой болезни у тех, кто впервые подвергается естественному инфицированию DENV после вакцинации. Сообщается, что Dengvaxia использовалась на Филиппинах для вакцинации 9-16-летних школьников, живущих в районах с высокой эндемичностью DF. После того, как около 830 тыс. детей получили, по крайней мере, одну из трех рекомендованных доз, были зарегистрированы случаи усиления заболевания у вакцинированных [20].

В 2019 г. бразильскими учеными был проведен систематический анализ литературы по эффективности CYD-TDV и результаты показали низкую эффективность этого препарата, особенно против серотипов 1 и 2. В результате был сделан вывод о том, что вакцина не защитит население в Бразилии, т.к. на территории этой страны в 2015 г. было зафиксировано преобладание распространенности серотипа DENV-1 (93,8%), по сравнению с серотипами DENV-4, DENV-2 и DENV-3 – 5,1%, 0,7% и 0,4% соответственно [15].

Основываясь на недавних исследованиях Dengvaxia, высказано предположение, что эта конструкция, лишенная неструктурных белковых антигенов DENV, не защищает серонегативных реципиентов, поскольку она не обеспечивает формирование сбалансированного Т-клеточного ответа и/или синтез антител, специфичных к неструктурному белку NS1, играющему важную роль в репликации генома и развитии иммунного ответа. Также возможно, что химерная структура вириона не способствует правильной конформации белка Е – основной мишени протективного иммунитета [32]. Гетерогенность вирионов в препаратах CYD-TDV по степени их «созревания» (т.е. конформационной укладки молекул белка Е в 90 гомодимеров, которые лежат плоско на поверхности зрелого вириона, из 60 тримерных поверхностных шипов незрелых вирусных частиц) и, соответственно, по экспонируемым конформационным эпитопам, также, вероятнее всего, влияет на спектр защитных антител [22]. Кроме того, известно, что лишь небольшая часть общего количества DENV-специфических антител при естественной инфекции состоит из высоко нейтрализующих антител [19].

Для получения полезной информации о вирусных эпитопах, вызывающих синтез широко нейтрализующих антител, в плане разработки безопасной вакцины против DENV, исследуются панели моноклональных антител (МКА) различного происхождения – гибридомные мышиные, рекомбинантные химерные (мышь/человек, примат/человек) и/или полностью человеческие [50]. Некоторые из МКА структурно охарактеризованы с помощью рентгеновской кристаллографии и криоэлектронной микроскопии. Например, показано, что нейтрализующие человеческие МКА1F4, HM14c10 и 2D22, специфичные к DENV-1 и -2, связываются с четвертичными эпитопами, находящимися на границе раздела двух мономеров или димеров белка Е [22]. Методом криоэлектронной микроскопии с разрешением 9 исследован комплекс белка Е с Fab МКА 5J7, которые способны нейтрализовать на 50% DENV-3 при концентрации антител в диапазоне нанограмм. По структуре иммунного комплекса оказалось, что одна молекула Fab взаимодействует с тремя белками Е и, соответственно, с тремя функционально важными доменами каждого из трех вирусных белков, имеющих решающее значение для связывания клеточных рецепторов и слияния с эндосомальной мембраной. Способность этих антител связываться с несколькими доменами позволяет им полностью покрыть поверхность вируса 60-ю копиями Fab, т.е. вдвое меньшим количеством по сравнению с другими МКА, описанными в литературе [19].

Интересно, что МКА 5J7 обладают профилактической и терапевтической активностью на мышиной модели DF [50]. Механизм генерации таких эффективных антител пока недостаточно изучен. Остается не ясным вопрос – происходят ли они из клеток памяти, перекрестно взаимодействующих с разными видами DENV и индуцированных первичной инфекцией, затем активированных и созревающих при повторной инфекции, или это продукты небольшой популяции уже зрелых клеток памяти. В связи с этим, поиск и изучение четвертичных эпитопов белка Е четырех вирусных серотипов должны быть приоритетными при разработке вакцин следующего поколения [22]. Важно также извлечь уроки из результатов таких исследований, т.к. в настоящее время против SARS-CoV-2 экстренно разрабатываются вакцины на разных платформах и уже тестируются на людях. Пока отсутствуют клинические данные, указывающие на ADE как результат патогенности при COVID-19, но этот механизм возможен из-за циркуляции антигенно-родственных человеческих коронавирусов или появления мутантных штаммов SARS-CoV-2 [54] как в ситуации с серотипами DENV.

Заключение

Анализ литературы показал, что вакцины против DF на основе живых аттенуированных и химерных вирусов предпочтительнее нерепликативных препаратов, т.к. генерируют у вакцинированных животных и людей полноценный иммунный ответ в виде антител, специфически направленных как против структурных, так и против неструктурных белков DENV. Одна из приоритетных задач, поставленных ВОЗ в 2012 г. – снижение смертности от DF к 2020 г. на 50% за счет использования однократно вводимой вакцины, вызывающей длительный иммунитет, защищающей от всех четырех серотипов DENV и не имеющей серьезных побочных эффектов, осталась невыполненной. Единственная лицензированная вакцина Dengvaxia, полученная путем замены структурных генов (E и prM) живой аттенуированной вакцины против YFV 17D структурными генами каждого серотипа DENV, из-за интерференции между вирусными серотипами и несбалансированного иммунного ответа, оказалась опасной для серонегативных лиц в результате феномена антитело-зависимого усиления инфекции при повторном инфицировании гетерологичным вирусным серотипом. Возможно, что необходимо учитывать, что DENV, имеющие РНК-геном, имеют высокую частоту мутаций и совместная циркуляция нескольких серотипов, индуцирующих синтез разного набора нейтрализующих антител, повышает вероятность таких событий и появление новых генотипов. Исследования антигенной структуры иммуногенных белков DENV с помощью МКА, узнающих четвертичные эпитопы, находящиеся на границе раздела двух мономеров или димеров белка Е, должны быть приоритетными при разработке вакцин следующего поколения.

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы / References

1. Международный комитет по таксономии вирусов. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=19790162&src=NCBI&ictv_id=19790162 (дата обращения: 29.08.2020). [Virus Taxonomy. International website [Electronic resource]. Access mode: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=19790162&src=NCBI&ictv_id=19790162 (date of the application 29.08.2020)].

2. Сайфуллин М.А., Келли Е.И., Базарова М.В., Ларичев В.Ф., Карань Л.С., Акиншина Ю.А., Бутенко А.М. Случай лихорадки денге с летальным исходом // Эпидемиология и инфекционные болезни, 2015. № 2. С. 49-51. [Sayfullin M.A., Kelly E.I., Bazarova M.V., Larichev V.F., Karan L.S., Akinshina Yu.A., Butenko A.M. Dengue fever fatal case. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases, 2015, no. 2, pp. 49-51.* (In Russ.)].

3. Роспотребнадзор. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.55.rospotrebnadzor.ru/news (дата обращения: 20.08.2020). [Rospotrebnadzor [Electronic resource]. Access mode: http://www.55.rospotrebnadzor.ru/news (date of the application 20.08.2020)].

4. Alcon S., Talarmin A., Debruyne M., Falconar A., Deubel V., Flamand M. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. *J. Clin. Microbiol., 2002, Vol. 40, no. 2, pp. 376-381.*

5. Anasir M.I., Ramanathan B., Poh C.L. Structure-Based Design of Antivirals against Envelope Glycoprotein of Dengue Virus. *Viruses, 2020, Vol. 12, no. 4, pii: E367.* doi: 10.3390/v1204036.

6. Balas C., Kennel A., Deauvieau F., Sodoyer R., Arnaud-Barbe N., Lang J., Guy B. Different innate signatures induced in human monocyte-derived dendritic cells by wild-type dengue 3 virus, attenuated but reactogenic

dengue 3 vaccine virus, or attenuated nonreactogenic dengue 1-4 vaccine virus strains. *J. Infect. Dis., 2011, Vol. 203, no. 1, pp. 103-108.*

7. Barban V., Munoz-Jordan J.L., Santiago G.A., Mantel N., Girerd Y., Gulia S., Claude J.-B., Lang J. Broad neutralization of wild-type dengue virus isolates following immunization in monkeys with a tetravalent dengue vaccine based on chimeric yellow fever 17D/dengue viruses. *Virology, 2012, Vol. 429, no. 2, pp. 91-8.*

8. Begum F., Das S., Mukherjee D., Mal S., Ray U. Insight into the Tropism of Dengue Virus in Humans. *Viruses, 2019, Vol. 11, no. 12, pii: E1136.* doi: 10.3390/v11121136.

9. Bosch I., Reddy A., de Puig H., Ludert J.E., Perdomo-Celis F., Narváez C.F., Versiani A., Fandos D., Nogueira M.L., Singla M., Lodha R., Medigeshi G.R., Lorenzana I., Ralde H.V., Gélvez-Ramírez M., Villar L.A., Hiley M., Mendoza L., Salcedo N., Herrera B.B., Gehrke L. Serotype-specific detection of dengue viruses in a nonstructural protein 1-based enzyme-linked immunosorbent assay validated with a multi-national cohort *PLoS Negl. Trop. Dis., 2020, Vol. 14, no. 6, e0008203.* doi: 10.1371/journal.pntd.0008203.

10. Brady O.J., Gething P.W., Bhatt S., Messina J.P., Brownstein J.S., Hoen A.G., Moyes C.L., Farlow A.W., Scott T.W., Hay S.I. Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS Negl. Trop. Dis., 2012, Vol. 6, e1760.* doi:10.1371/journal.pntd.0001760.

11. Brewoo J.N., Kinney R.M., Powell T.D., Arguello J.J., Silengo S.J., Partidos C.D., Huang C.Y., Stinchcomb D.T., Osorio J.E. Immunogenicity and efficacy of chimeric dengue vaccine (DENVax) formulations in interferon-deficient AG129 mice. *Vaccine, 2012, Vol. 30, no. 8, pp. 1513-1520.*

12. Burnette W.N., Hoke C.H.Jr., Scovill J., Clark K., Abrams J., Kitchen L.W., Hanson K., Palys T.J., Vaughn D.W. Infectious diseases investment decision evaluation algorithm: a quantitative algorithm for prioritization of naturally occurring infectious disease threats to the US military. *Mil. Med., 2008, Vol. 173, pp. 174-181.*

13. Chen R., Vasilakis N. Dengue – quo tu et quo vadis? *Viruses, 2011, Vol. 3, no. 9, pp. 1562-608.*

14. Cuong H.Q. Quantifying the emergence of dengue in Hanoi, Vietnam: 1998-2009. *PLoS Negl. Trop. Dis., 2011, Vol. 5, e1322.* doi: 10.1371/journal.pntd.0001322.

15. da Silveira L.T.C., Tura B., Santos M. Systematic review of dengue vaccine efficacy. *BMC Infect. Dis.. 2019, Vol. 19, no. 1, 750.* doi: 10.1186/s12879-019-4369-5.

16. Dallimore T., Hunter T., Medlock J.M., Vaux A.G.C., Harbach R.E., Strode C. Discovery of a single male Aedes aegypti (L.) in Merseyside, England. *Parasit. Vectors, 2017, Vol. 10, no. 1, 309.* doi:10.1186/s13071-017-2251-0.

17. de la Guardia C., Lleonart R. Progress in the identification of dengue virus entry/fusion inhibitors. *BioMed Res. Int., 2014, Vol. 2014, 825039.* doi: 10.1155/2014/825039.825039.

18. Durbin A.P., Karron R.A., Sun W., Vaughn D.W., Reynolds M.J., Perreault J.R., Thumar B., Men R., Lai C.J., Elkins W.R., Chanock R.M., Murphy B. R., Whitehead S.S.. Attenuation and immunogenicity in humans of a live dengue virus type-4 vaccine candidate with a 30 nucleotide deletion in its 3′-untranslated region. *Am. J. Trop. Med. Hyg., 2001, Vol. 65, no. 5, pp. 405-413.*

19. Fibriansah G., Tan J.L., Smith S.A., de Alwis R., Ng T.-S., Kostyuchenko V.A., Jadi R.S., Kukkaro P., de Silva A.M., Crowe J.E. , Lok S.-M. A highly potent human antibody neutralizes dengue virus serotype 3 by binding across three surface proteins. *Nat. Commun., 2015, Vol. 6, 6341.* doi: 10.1038/ncomms7341.

20. Flasche S., Wilder-Smith A., Hombach J., Smith P.G..Estimating the proportion of vaccine induced hospitalized dengue cases among Dengvaxia vaccinees in the Philippines. *Wellcome Open Res., 2019, Vol. 4, 165.* doi: 10.12688/wellcomeopenres.15507.1.

21. Friberg H., Martinez L.J., Lin L., Blaylock J.M., De La Barrera R.A., Rothman A.L., Putnak J.R., Eckels K.H., Thomas S.J., Jarman R.G., Currier J.R. Cell-Mediated Immunity Generated in Response to a Purified Inactivated Vaccine for Dengue Virus Type 1. *mSphere, 2020, Vol. 5, no. 1. pii: e00671-19.* doi: 10.1128/mSphere.00671-19.

22. Galula J.U., Salem G.M., Chang G.-J.J., Chao D.-Y. Does structurally-mature dengue virion matter in vaccine preparation in post-Dengvaxia era? *Hum. Vaccin. Immunother., 2019, Vol. 15, no. 10, pp. 2328-2336.*

23. Gibbons R.V., Streitz M., Babina T., Fried J.R. Dengue and US military operations from the Spanish-American War through today. *Emerg. Infect. Dis., 2012, Vol. 18, no. 4, pp. 623-630.*

24. Gubler D.J. Dengue/dengue haemorrhagic fever: history and current status. *Novartis Found. Symp., 2006, Vol. 277, pp. 3-16.*

25. Guirakhoo F., Pugachev K., Zhang Z., Myers G., Levenbook I., Draper K., Lang J., Ocran S., Mitchell F., Parsons M., Brown N., Brandler S., Fournier C., Barrere B., Rizvi F., Travassos A., Nichols R., Trent D., Monath T. Safety and efficacy of chimeric yellow Fever-dengue virus tetravalent vaccine formulations in nonhuman primates. *J. Virol., 2004, Vol. 78, no. 9, pp. 4761-4775.*

26. Guirakhoo F., Pugachev K., Arroyo J., Miller C., Zhang Z-X., Weltzin R., Georgakopoulos K., Catalan J., Ocran S., Draper K., Monath T.P. Viremia and immunogenicity in nonhuman primates of a tetravalent yellow fever-dengue chimeric vaccine: genetic reconstructions, dose adjustment, and antibody responses against wild-type dengue virus isolates. *Virology, 2002, Vol. 298, no. 1, pp. 146-159.*

27. Guy B., Jackson N. Dengue vaccine: hypotheses to understand CYD-TDV- induced protection. *Nat. Rev. Microbiol., 2016, Vol. 14, no. 45-54.*

28. Guy B., Saville M., Lang J. Development of sanofi pasteur tetravalent dengue vaccine. *Hum. Vaccin., 2010, Vol. 6, no. 9, pp. 696-705.*

29. Guy B., Noriega F., Ochiai R.L., L'azou M., Delore V., Skipetrova A., Verdier F., Coudeville L., Savarino S., Jackson N. A recombinant live attenuated tetravalent vaccine for the prevention of dengue. *Expert Rev. Vaccines, 2017, Vol. 16, no. 7, pp. 1-13.*

30. Guzman M.G., Harris E. Dengue. *Lancet, 2015, Vol. 385, no. 9966, pp. 453-465.*
31. Hadinegoro S.R., Arredondo-García J.L., Capeding M.R., Deseda C., Chotpitayasunondh T., Dietze R., Muhammad Ismail H.I., Reynales H., Limkittikul K, Rivera-Medina D.M., Tran H.N., Bouckenooghe A., Chansinghakul D., Cortés M., Fanouillere K., Forrat R., Frago C., Gailhardou S., Jackson N., Noriega F., Plennevaux E., Wartel T.A., Zambrano B., Saville M.; CYD-TDV Dengue Vaccine Working Group. Efficacy and Long-Term Safety of a Dengue Vaccine in Regions of Endemic Disease. *N. Engl. J. Med., 2015, Vol. 373, no. 13, pp. 1195-206.*
32. Halstead S.B. Which Dengue Vaccine Approach Is the Most Promising, and Should We Be Concerned about Enhanced Disease after Vaccination? There Is Only One True Winner. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol., 2018, Vol. 10, no. 6, a030700.* doi: 10.1101/cshperspect.a030700.
33. Halstead S., Wilder-Smith A. Severe dengue in travellers: pathogenesis, risk and clinical management. *J. Travel Med., 2019, Vol. 26, no. 7, taz062.* doi: 10.1093/jtm/taz062.
34. Holbrook M.R. Historical Perspectives on Flavivirus Research. *Viruses, 2017, Vol. 9, no. 5, pii:E97.* doi: 10.3390/v9050097.
35. Holmes E.C., Twiddy S.S. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. *Infect. Genet. Evol., 2003, Vol 3, no. 1, pp. 19-28.*
36. Huang C. Y.-H., Butrapet S., Tsuchiya K. R., Bhamarapravati N., Gubler D. J., Kinney R.M. Dengue 2 PDK-53 virus as a chimeric carrier for tetravalent dengue vaccine development. *Virology, 2003, Vol. 77, no. 21, 11436-11447.*
37. Khetarpal N., Khanna I. Dengue Fever: Causes, Complications, and Vaccine Strategies. *Immunol. Res., 2016, Vol. 2016, 6803098.* doi: 10.1155/2016/6803098.
38. Kraemer M.U., Sinka M.E., Duda K.A., Mylne A., Shearer F.M., Brady O.J., Messina J.P.,Barker C.M., Moore C.G., Carvalho R.G., Coelho G.E., van Bortel W., Hendrickx G., Schaffner F., Wint G.R., Elyazar I.R., Teng H.J,. Hay S.I. The global compendium of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* occurrence. *Elife, 2015, no. 4, e08347.* doi: 10.7554/eLife.08347.
39. Kyle J.L., Harris E. Global spread and persistence of dengue. *Annu. Rev. Microbiol., 2008, Vol. 62, pp. 71-92.*
40. Messina J.P., Brady O.J., Scott T.W., Zou C., Pigott D.M., Duda K.A., Bhatt S., Katzelnick L., Howes R.E., Battle K.E., Simmons C.P., Hay S.I. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. *Trends Microbiol., 2014, Vol. 22, no. 3, pp. 138-146.*
41. Modis Y., Ogata S., Clements D., Harrison S.C. Variable surface epitopes in the crystal structure of dengue virus type 3 envelope glycoprotein. *J. Virol., 2005, Vol. 79, no. 2, pp. 1223-1231.*
42. Mustafa M.S., Rasotgi V., Jain S., Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. *Med. J. Armed Forces India, 2015, Vol. 71, no. 1, pp. 67-70.*
43. News Science. Dengue vaccine fiasco leads to criminal charges for researcher in the Philippines. Available at: https://www.sciencemag.org/news/2019/04/dengue-vaccine-fiasco-leads-criminal-charges-researcher-philippines (20.08.2020).
44. Osorio J.E., Brewoo J.N., Silengo S.J., Arguello J., Moldovan I.R., Tary-Lehmann M., Powell T.D., Livengood J.A., Kinney R.M., Huang C.Y., Stinchcomb D.T. Efficacy of a tetravalent chimeric dengue vaccine (DENVax) in Cynomolgus macaques. *Am. J. Trop. Med. Hyg., 2011, Vol. 84, no. 6, pp. 978-987.*
45. Osorio J.E., Velez I.D., Thomson C., Lopez L., Jimenez A., Haller A.A., Silengo S., Scott J., Boroughs K.L., Stovall J.L., Luy B.E., Arguello J., Beatty M.E., Santangelo J., Gordon G.S., Huang C.Y., Stinchcomb D.T. Safety and immunogenicity of a recombinant live attenuated tetravalent dengue vaccine (DENVax) in flavivirus-naive healthy adults in Colombia: a randomised, placebo-controlled, phase 1 study. *Lancet Infect. Dis., 2014, Vol. 14, no. 9, pp. 830-838.*
46. Priyamvada L., Quicke K.M., Hudson W.H. Onlamoon N., Sewatanon J., Edupuganti S., Pattanapanyasat K., Chokephaibulkit K., Mulligan M.J., Wilson P.C., Ahmed R., Suthar M.S., Wrammert J. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2016, Vol. 113, no. 28, pp. 7852-857.*
47. Raviprakash K., Luke T., Doukas J., Danko J., Porter K., Burgess T., Kochel T. A dengue. DNA vaccine formulated with Vaxfectin® is well tolerated, and elicits strong neutralizing antibody responses to all four dengue serotypes in New Zealand white rabbits. *Hum. Vaccin. Immunother., 2012, Vol. 8, no. 12, pp. 1764-1768.*
48. Report World Health Organization: Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020. 43 p.Publication date: August 2012. Available at: https://www.who.int/denguecontrol/9789241504034/en/ (20.08.2020).
49. Schmidt A.C., Lin L., Martinez L.J., Ruck R.C., Eckels K.H., Collard A., de la Barrera R., Paolino K.M., Toussaint J.F., Lepine E., Innis B.L., Jarman R.G., Thomas S.J.. Phase 1 Randomized Study of a Tetravalent Dengue Purified Inactivated Vaccine in Healthy Adults in the United States. *Am. J. Trop. Med. Hyg., 2017, Vol. 96, no. 6, pp. 1325-1337.*
50. Sun H., Chen Q., Lai H. Development of Antibody Therapeutics against Flaviviruses. *Int. J. Mol. Sci., 2017, Vol. 19, no. 1, pii: E54.* doi:10.3390/ijms19010054.
51. Sun W., Cunningham D., Wasserman S.S., Perry J., Putnak J.R., Eckels K.H., Vaughn D.W., Thomas S.J., Kanesa-Thasan N., Innis B.L. Edelman R. Phase 2 clinical trial of three formulations of tetravalent live-attenuated dengue vaccine in flavivirus-naïve adults. *Hum. Vaccin., 2009, Vol. 5, no. 1, pp. 33-40.*
52. Thomas S.J., Yoon I.-K. A review of Dengvaxia®: development to deployment. *Hum. Vaccin. Immunother., 2019, Vol. 15, no. 10, pp. 2295-2314.*
53. Tsai W.Y., Lin H.E., Wang W.K. Complexity of human antibody response to dengue virus: implication for vaccine development. *Front. Microbiol., 2017, Vol. 8, 1372.* doi: 10.3389/fmicb.2017.01372

54. Ulrich H., Pillat M.M., Tárnok A. Dengue Fever, COVID-19 (SARS-CoV-2), and Antibody-Dependent Enhancement (ADE): A Perspective. *Cytometry A., 2020, Vol. 97, no. 7, pp. 662-667.*

55. Vos T., Abajobir A.A., Abate K.H., Abbafati C., Abbas K.M., Abd-Allah F., Abdulkader R.S., Abdishakur M.A., Abuka Abebo T. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet, 2017, Vol. 390, no. 10100, pp. 1211-1259.*

56. Walther D., Scheuch D.E., Kampen H. The invasive Asian tiger mosquito Aedesalbopictus (Diptera: Culicidae) in Germany: local reproduction and overwintering. *Acta Trop., 2017, Vol. 166, pp. 186-192.*

57. Watanabe S., Chan K.W.K., Wang J., Rivino L., Lok S.-M., Vasudevan S.G. Dengue virus infection with highly neutralizing levels of cross-reactive antibodies causes acute lethal small intestinal pathology without a high level of viremia in mice. *J. Virol., 2015, Vol. 89, no. 11, pp. 5847-5861.*

58. Watanaveeradej V., Simasathien S., Nisalak A., Endy T.P., Jarman R.G., Innis B.L., Thomas S.J., Gibbons R.V., Hengprasert S., Samakoses R., Kerdpanich A., Vaughn D.W., Putnak J.R., Eckels K.H., Barrera R.de L., Mammen M.P. Jr. Safety and immunogenicity of a tetravalent live-attenuated dengue vaccine in flavivirus-naive infants. *Am. J. Trop. Med. Hyg., 2011, Vol. 85, no. 2, pp. 341-351.*

59. Whitehead S.S., Durbin A.P., Pierce K.K., Elwood D., McElvany B.D., Fraser E.A., Carmolli M.P., Tibery C.M., Hynes N.A., Jo M., Lovchik J.M., Larsson C.J., Doty E.A., Dickson D.M., Luke C.J., Subbarao K., Diehl S.A., Kirkpatrick B.D. In a randomized trial, the live attenuated tetravalent dengue vaccine TV003 is well-tolerated and highly immunogenic in subjects with flavivirus exposure prior to vaccination. *PLoS Negl. Trop. Dis., 2017, Vol. 11, e0005584.* doi: 10.1371/journal.pntd.0005584.

60. Wilder-Smith A., Quam M., Sessions O., Rocklov J., Liu-Helmersson J., Franco L., Khan K. The 2012 dengue outbreak in Madeira: exploring the origins. *Euro Surveill., 2014, Vol. 19, no. 8, 20718.* doi: 10.2807/1560-7917.es2014.19.8.20718.

61. Wilder-Smith A. The first licensed dengue vaccine: can it be used in travelers? *Curr. Opin. Infect. Dis., 2019, Vol. 32, no. 5, pp. 394-400.*

Авторы:

Казачинская Е.И. *– д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск; ведущий научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Шанышин Д.В. *– младший научный сотрудник отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Щербаков Д.Н. *– к.б.н., ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией иммунохимии отдела биоинженерии ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Шестопалов А.М. *– д.б.н., профессор, заведующий отделом экспериментального моделирования патогенеза инфекционных заболеваний ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия*

Authors:

Kazachinskaya E.I., *PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Department of Experimental Modeling of Pathogenesis of Infectious Diseases, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk; Leading Research Associate, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Shanshin D.V., *Junior Research Associate, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Shcherbakov D.N., *PhD (Biology), Leading Research Associate, Department of Bioengineering, State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Shestopalov A.M., *PhD, MD (Biology), Head, Department of Experimental Modeling of Pathogenesis of Infectious Diseases, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation*

Поступила 23.04.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 23.04.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 31-40
© 2022, СПб РО РААКИ

Обзоры
Reviews

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 31-40
© 2022, SPb RAACI

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА ХРОНИЧЕСКОГО ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО УВЕИТА

Татарникова Е.Б., Кривошеина О.И., Иванова Е.В.

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Резюме. Периферический увеит является одним из наиболее тяжелых эндогенных увеитов, который развивается чаще у лиц молодого возраста и характеризуется скудными клиническими проявлениями на ранних стадиях развития. Значительное и зачастую необратимое снижение остроты зрения связано с развитием отдаленных осложнений хронического периферического увеита (ХПУ) – осложненной катарактой (частота развития до 57%), кистозным макулярным отеком (частота развития до 31%), офтальмогипертензией и глаукомой (частота развития до 16%). Показатель заболеваемости ХПУ составляет 1,5 на 100 000 в год. Несмотря на высокую иммунную привилегированность, глаз подвержен инфекционным и воспалительным заболеваниям. Клинические и гистопатологические данные указывают на аутоиммунное происхождение ХПУ, связанное с возможной реакцией на эндогенный антиген неизвестного происхождения. Основными эффекторами воспаления периферических хориоретинальных структур являются $CD4^+$Т-лимфоциты, обнаруживающиеся при ХПУ в паравазальных инфильтратах и витреоретинальных экссудатах. Важная роль в патогенезе заболевания отводится интерлейкинам IL-6 и IL-8, фактору некроза опухоли α – TNFα, сосудистому эндотелиальному фактору роста – VEGF и микрорибонуклеиновой кислоты, повышенная экспрессия которых обнаруживается у большинства больных ХПУ. Одним из потенциальных триггеров внутриглазного воспаления является нарушения состояния бактериального микробиома кишечника. Выявлена также генетическая предрасположенность к ХПУ, обусловленная лейкоцитарным антигеном человека и некоторыми другими генами. Для разработки эффективного фармакологического лечения ХПУ необходимо расширять и углублять знания о патогенезе данного заболевания. Статья представляет собой литературный обзор современных научных представлений об этиологии и механизмах развития ХПУ.

Ключевые слова: хронический периферический увеит, патогенез, аутоиммунное воспаление, Т-клетки, цитокины, инфекция

MODERN ETIOLOGICAL AND PATHOGENETIC ASPECTS OF CHRONIC PERIPHERAL UVEITIS

Tatarnikova E.B., Krivosheina O.I., Ivanova E.V.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Abstract. Intermediate uveitis is among most severe forms of endogenous uveitis which is more common in young people, being characterized by minimal clinical manifestations at early stages of the disorder.

Адрес для переписки:
Татарникова Елена Борисовна
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2.
Тел.: 8 (913) 081-27-07.
E-mail: elenka.morozova.92@inbox.ru

Address for correspondence:
Tatarnikova Elena B.
Siberian State Medical University
634050, Russian Federation, Tomsk, Moskovsky Road, 2.
Phone: 7 (913) 081-27-07.
E-mail: elenka.morozova.92@inbox.ru

Образец цитирования:
Е.Б. Татарникова, О.И. Кривошеина, Е.В. Иванова «Современные аспекты этиологии и патогенеза хронического периферического увеита» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 31-40.
doi: 10.15789/1563-0625-MEA-2395

© Татарникова Е.Б. и соавт., 2022

For citation:
E.B. Tatarnikova, O.I. Krivosheina, E.V. Ivanova "Modern etiological and pathogenetic aspects of chronic peripheral uveitis", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 31-40.
doi: 10.15789/1563-0625-MEA-2395
DOI: 10.15789/1563-0625-MEA-2395

A significant and, sometimes, irreversible decrease in visual acuity is associated with development of long-term complications of chronic cintermediate uveitis (CIU), i.e., complicating cataracts (in up to 57% of the cases), cystic maular edema developing at a frequency of up to 31%), as well as ophthalmic hypertension and glaucoma (up to 16% of the patients). The incidence rate of CIU is 1.5 per 100,000 *per* year. The eye, despite its high immune privilege, is susceptible to infectious and inflammatory diseases. Clinical and histopathological data suggest autoimmune origin of CIU associated with possible response to some endogenous antigen of unknown origin. The main effectors of inflammation in peripheral chorioretinal structures are $CD4^+$T lymphocytes, which are found in paravasal infiltrates and vitreoretinal exudates in CIU. An important role in CIU pathogenesis is attributed to IL-6 and IL-8, TNFα, vascular endothelial growth factor (VEGF), and micro-RNAs, which show increased expression in most CIU patients. Impaired state of intestinal bacterial microbiome is a potential trigger of intraocular inflammation. Genetic predisposition for CIU was also revealed, due to polymorphisms of human leukocyte antigens and some other genes. It is necessary to expand and deepen our knowledge on the disease pathogenesis, in order to develop effective pharmacological treatment of CIU. The article is review of literature discussing the modern scientific ideas concerning etiology and mechanisms of the CIU development.

Keywords: chronic peripheral uveitis, pathogenesis, autoimmune inflammation, T cells, cytokines, infection

Введение

Хронический периферический увеит (ХПУ) представляет собой вялотекущее воспаление плоской части цилиарного тела, а также прилежащих отделов сетчатки и стекловидного тела. При этом именно стекловидное тело, согласно общепризнанному мнению [1, 9, 11, 24, 37, 44, 46, 47, 53, 55, 82, 86], является основным очагом воспаления. В 2021 г. рабочая группа по стандартизации номенклатуры увеитов (Standartization of Uveitis Nomenclature – SUN) разработала и систематизировала классификационные критерии для 25 наиболее распространенных увеитов [69], обнаружение которых у пациентов с симптомами интраокулярного воспаления является одним из основных условий диагностики увеита [5].

Согласно разработанным критериям, существует несколько вариантов периферического увеита: промежуточный увеит, обусловленный саркоидозом, сифилисом и рассеянным склерозом [26, 66, 67, 69], парспланит (с имеющимися снежкоподобными дегенерациями) [27], а также непарспланитный промежуточный увеит, при котором отсутствуют снежкоподобные изменения и инфекционные или системные заболевания [68].

Периферический увеит начинается преимущественно в детском и юношеском возрасте, приобретая в последующем хроническое течение. На него приходится до 26,7% в структуре педиатрических увеитов и до 31% среди пациентов всех возрастов [6, 9, 13, 31, 35, 43, 44, 46, 80, 82]. По данным литературы, среди пациентов с ХПУ преобладают женщины [8, 12, 15, 46, 53, 61], и в 80-90% случаев воспаление поражает оба глаза [11, 44, 47, 51, 53]. Течение заболевания характеризуется скудными клиническими проявлениями, которые самими пациентами в большинстве случаев расцениваются как признаки зрительного утомления. Однако опасность ХПУ заключается в высоком риске развития осложнений в отдаленные сроки от начала болезни, таких как осложненная катаракта, офтальмогипертензия, кистозный отек сетчатки макулярной области, отслойка сетчатки [8, 12, 15, 20, 31, 37, 41, 46, 47, 50, 53, 65, 82].

Иммунологическая характеристика витреоретинальных структур

Общепризнанно [63], что в нормальных условиях иммунологическая привилегированность тканей глазного яблока в значительной степени обеспечивается внешним гематоретинальным барьером, образованным плотным соединением пигментного эпителия сетчатки и фенестрированных хориокапилляров, и гематоводным барьером, образованным соединением непигментированного эпителия и фенестрированных эндотелиоцитов цилиарного тела. При этом внутренний гематоретинальный барьер, образованный плотным соединением нефенестрированного эндотелия кровеносных сосудов сетчатки, клеток Мюллера и астроцитов, действует как истинный барьер [63].

Необходимо отметить, что в структурах внешнего гематоретинального и гематоводного барьеров обнаруживается большое число биологически активных веществ, обладающих иммуномодулирующими свойствами, например, трансформирующий фактор роста (transforming growth factor beta – TGF-β), интерлейкин-10 (interleukin – IL-10), белок CD86, соматостатин, фермент тромбоспондин, медиаторы апоптоза (лиганд антигена FAS, фактор некроза опухоли

(tumor necrosis factor – TNF), глюкокортикоид-индуцированный белок, связанный с рецептором TNF), неклассические молекулы комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex – MHC) класса Ib, фермент индоламин-2,3-диоксигеназа [30, 32, 73]. Кроме того, *in vitro* ткань радужной оболочки, цилиарного тела и пигментный эпителий сетчатки человека подавляют пролиферацию и активацию Т-клеток как путем непосредственного контакта «клетка к клетке», так и опосредованно с помощью растворимых факторов [32, 73]. В ряде случаев клетки пигментного эпителия сетчатки индуцируют преобразование эффекторных Т-хелперов (Th) в регуляторные (Treg) и супрессорные (Tsup) клетки, а также подавляют активность Th1-, Th17-, Th22-клеток, $CD8^+$Т-клеток, В-клеток, макрофагов и дендритных клеток [71, 72, 74, 75]. Выявленные особенности свидетельствуют, что пигментный эпителий сетчатки обладает большой способностью изменять локальный иммунный баланс в заднем полюсе глаза в сторону толерантности, обеспечивая тем самым иммуннопривилегированность глазного яблока как органа.

Необходимо отметить, что иммунная привилегированность увеального тракта мало отличается от таковой других сосудистых тканей. Вероятно, данное свойство в его первоначальном виде может быть применимо только к сетчатке [18, 22, 89].

Антигенами, играющими важную роль в развитии аутоиммунного воспаления сетчатки и увеального тракта, являются белки хрусталика (альфа-кристаллин, белки капсулы хрусталика в местах зонулярных соединений), антигены сетчатки и сосудистой оболочки (Interphotoreceptor retinoid-binding protein – IRBP, эпитоп HNK-1 (human natural killer-1), S-антиген). Большую часть указанных антигенов экспрессируют клетки пигментного эпителия сетчатки, хориоидея, микроглия зрительного и цилиарных нервов [24, 52, 88]. При этом наибольшей иммуногенностью обладают S-антиген и белок IRBP, что доказано в эксперименте *in vivo* с развитием аутоиммунного хориоретинита у животных, а также в ходе ретроспективных клинических исследований [79].

Стекловидное тело обладает высокой анафилактичностью, и его кортикальные отделы являются антигенами для сетчатки, способствуя развитию аутоиммунного вялотекущего воспаления, преимущественно на границе нескольких анатомических структур, а именно, в области зубчатой линии, соединяющей плоскую часть цилиарного тела и хориоидею, а также являющейся местом окончания оптически деятельной части сетчатки. Гликозаминогликаны, входящие в состав стекловидного тела, выполняют роль адъюванта, а накопление в его полости мононуклеаров и гранулоцитов при запуске аутоиммунной реакции ведет к обострению и прогрессированию хронического воспаления на крайней периферии глазного дна [1, 14].

Иммунологические изменения при хроническом периферическом увеите

Основными клеточными элементами, обеспечивающими развитие и прогрессирование ХПУ, являются активированные мононуклеарные лейкоциты, которые вырабатывают большое количество флогогенных факторов и индуцирующие процесс фиброгенеза [1, 52]. Длительное течение воспаления на крайней периферии глазного дна сопровождается накоплением в тканях глазного яблока миелоидных клеток, макрофагов и лимфоцитов [14]

Важную роль в патогенезе данного заболевания играют и $CD4^+$Т-лимфоциты, обнаруживающиеся в паравазальных инфильтратах и витреоретинальных экссудатах, что свидетельствует о развитии иммунного ответа на тот или иной антиген [14, 24, 64, 88, 93]. $CD4^+$Т-лимфоциты синтезируют и секретируют различные цитокины, в частности, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, IL-22, IL-23 и интерфероны (IFN), высокие концентрации которых в очаге воспаления способствуют активации патологического процесса, а умеренные, напротив, его хронизации [17, 36, 60, 61, 64, 87]. IL-6 в настоящее время рассматривается как неспецифический маркер интраокулярной воспалительной реакции, поскольку повышение его концентрации в стекловидном теле отмечается при внутриглазном воспалении как инфекционной, так и аутоиммунной этиологии [24, 49, 58, 60, 77, 82]. IFNγ, в свою очередь, индуцирует активность тканевых макрофагов и обеспечивает хемотаксис мононуклеаров в зону воспаления [14].

В развитии аутоиммунного воспаления на крайней периферии глазного дна значительную роль играют также Т-хелперы подтипов Th1 и Th17 [87]. Установлено, что повышенная концентрация IL-6 индуцирует трансформацию нативных $CD4^+$ в Th17, а повышенная концентрация IL-23, вырабатываемого макрофагами и глиальными клетками сетчатки, способствует их активации с последующим вовлечением в воспалительную реакцию [87].

Повышенная выработка активированными $CD4^+$Т-лимфоцитами IFNγ при ХПУ значитель-

но усиливает экспрессию главного комплекса гистосовместимости MHC I и II классов, молекул межклеточной адгезии и NO-синтазы, способствуя лимфоцитарной инфильтрации хориоретинальных структур и усугубляя повреждение в зоне воспаления. Высокая концентрация IL-10 усиливает данные эффекты, активируя NK-клетки и макрофаги [7, 34, 49, 60, 88].

Согласно результатам клинических исследований Kosmaczewska A. и соавт., у больных ХПУ наблюдается ярко выраженный дисбаланс регуляторных и супрессорных Т-клеток (Treg и Tsup), продуцирующих IL-17. Показано, что периваскулярные инфильтраты, обнаруживаемые на крайней периферии глазного дна при ХПУ, состоят преимущественно из Т-клеток и небольшого количества В-клеток. Выявлена также положительная корреляция между численностью Th1-клеток у больных ХПУ и продолжительностью заболевания, течение которого осложнилось развитием кистозного макулярного отека сетчатки. Полученные данные позволяют рассматривать показатель уровня Th1-клеток при ХПУ как потенциальный прогностически неблагоприятный фактор, характерный для наиболее тяжелого течения заболевания [33].

При этом уровень В-клеток, фенотипированных как $CD19^{+}CD24^{hi}CD38^{hi}$, в крови больных ХПУ и здоровых лиц, статистически значимо не различается.

Vidović-Valentinčič N. и соавт. в ходе изучения цитокинового профиля сыворотки крови и влаги передней камеры глаз больных ХПУ выявлено существенное повышение концентрации IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 как на системном, так и на местном уровне [84, 86]. При развитии осложнений заболевания в виде кистозного макулярного отека отмечены наиболее высокие уровни IL-6 и IL-8, что отражает тяжесть воспаления на крайней периферии глазного дна.

При этом в эксперименте *in vivo* убедительно доказано, что дефицит IL-6 или интравитреальное введение анти-IL-6 значительно уменьшают выраженность воспаления увеального тракта [81, 91]. Полученные данные послужили основой для разработки препарата анти-IL-6 – тоцилузимаба, эффективность и безопасность применения которого при увеитах изучается в настоящее время в клиническом исследовании STOP-UVEITIS в университете Небраски (США) [87].

Необходимо отметить, что в сыворотке крови больных ХПУ различной этиологии отмечается значительное повышение уровня TNF, в то время как его концентрация во внутриглазной жидкости не отличается от таковой у здоровых добровольцев [12, 14, 42, 60, 61, 64]. В ходе экспериментального моделирования ХПУ на мышах выявлено, что нейтрализация TNF сопровождается уменьшением выраженности и тяжести течения хориоретинального воспаления, а дефицит данного фактора и вовсе приводит к резистентности развития увеита [57].

Значительная роль в патогенезе ХПУ в настоящее время отводится сосудистому эндотелиальному фактору роста (vascular endothelial growth factor – VEGF), повышенная экспрессия которого обнаруживается у большинства больных данным заболеванием. Согласно клиническим наблюдениям [14, 85], интравитреальное введение ингибитора ангиогенеза на фоне системной стероидной терапии обеспечивает быстрое купирование воспаления хориоретинальных структур вблизи зубчатой линии за счет снижения выработки цитокинов активированными макрофагами, мононуклеарами и поврежденными эпителиоцитами, и, как следствие, уменьшает риск развития неоваскуляризации и других осложнений ХПУ.

В ходе иммуногистохимического исследования витреоретинальных экссудатов, взятых во время витреоретинального вмешательства у больных ХПУ, выявлено наличие в их составе коллагена I, III и IV типов. Данный факт свидетельствует об интеграции витреального коллагена и внутренних слоев сетчатки в ходе развития хронического воспаления на крайней периферии глазного дна, так как основу матрицы стекловидного тела составляет коллаген II типа, а основным источником коллагена I и II типов является пигментный эпителий сетчатки [24].

Несомненно, важная роль в патогенезе ХПУ, особенно неинфекционной этиологии, принадлежит эпигенетическим факторам, в частности, повышенной экспрессии микро-рибонуклеиновой кислоты (микро-РНК) [69, 85]. Эпигенетические факторы, воздействуя на определенные генетические механизмы, регулируют врожденный и адаптивный иммунные ответы. Так, например, в сыворотке крови больных ХПУ обнаружен увеитогенный кластер из шести микро-РНК, нарушение экспрессии которых влияет на развитие ряда воспалительных каскадов, таких как PI3K/Akt (phosphatidylinositol 3-kinase/ protein kinase B), MAPK (mitogen-activated protein kinase), FOXO (forkhead box protein O) и VEGF [69, 85].

Генетическое картирование крови больных ХПУ позволило установить семейный характер данного заболевания [8, 15, 24, 53, 61] и опреде-

лить генетические предпосылки его развития, в частности наличие человеческого лейкоцитарного антигена (human leucocyte antigen – HLA) типов HLA-DR15 [22], HLA-A28, HLA-B27, HLA-A29 [17, 40, 49, 64, 82].

Stanford M. и соавт. в ходе изучения полиморфизма генов, обеспечивающих выработку цитокинов, установлено, что при двустороннем ХПУ отмечается повышенная активность гена A874T, отвечающего за продукцию IFNγ, и гена 2 1082AA, ответственного за синтез IL-10 [7]. Сочетание повышенной активности обоих генов сопровождается крайне тяжелым течением ХПУ, с частыми рецидивами и развитием осложнений со стороны органа зрения [7, 36, 49, 60, 88].

В последние несколько лет ряд научных публикаций продемонстрировали важное значение комменсальной микробиоты кишечника в развитии воспалительных и аутоиммунных заболеваний, в том числе и органа зрения. Исследования были направлены на поиск возможного пускового механизма интраокулярного воспалёния, связанного с бактериальным микробиомом кишечника больных ХПУ [21, 57]. Поскольку большая часть лимфоцитов находится в кишечнике человека, была выдвинута гипотеза, что аутореактивные Т-клетки могут получить активирующий триггер именно при прохождении через кишечник. Антигены микробиома, имеющие сходную структуру и последовательность с аутоантигенами, такими как IRBP, активируют ретиноспецифические Т-клетки кишечника, способные преодолевать гематоретинальный барьер и вызывать увеит [94]. Экспериментальная модель ХПУ на мышах подтвердила эту гипотезу: активация Т-клеток, ответственных за развитие заболевания, была обнаружена в собственной пластинке кишечника животных уже в 17-дневном возрасте еще до появления клинических симптомов ХПУ [34].

Приобретение и созревание здорового микробиома кишечника в течение послеродового периода и раннего детства человека способствует формированию устойчивых барьеров центральной нервной системы, в том числе и гематоретинального [25, 45] .

Инфекционные и неинфекционные агенты в патогенезе ХПУ

В большинстве случаев развитие интраокулярных воспалительных заболеваний наблюдается у пациентов, имеющих системные иммунные нарушения различной степени выраженности [59].

Согласно клиническим наблюдениям, ХПУ нередко развивается у пациентов с рассеянным склерозом [10, 31, 78, 82], идиопатическим неврит зрительного нерва, аутоиммунными воспалительными заболеваниями кишечника, саркоидозом, лимфомой глаз (в качестве маскарадного синдрома) [3, 7, 11, 19, 24, 28, 46, 49, 65, 83, 86]. При этом воспаление хориоретинальных структур на крайней периферии глазного дна зачастую предшествует развитию основного заболевания [8]. Например, манифестация неврологических симптомов при рассеянном склерозе происходит в среднем через 8,5 лет после развития ХПУ [7]. В связи с этим многие офтальмологи при обнаружении ХПУ рекомендуют проведение дополнительного обследования для исключения сопутствующей системной патологии [10, 78, 82].

На развитие интраокулярного воспаления оказывают влияние и факторы среды, в частности, хронические интоксикации и вредные привычки. Так, в исследовании Yuen B.G. и соавт. выявлена статистически значимая связь между курением и развитием ХПУ [70]. В научной литературе также описаны клинические случаи развития промежуточных увеитов на фоне противоопухолевой терапии ингибиторами иммунных контрольных точек (пембролизумаб, ниволумаб и атезолизумаб) и ингибиторами BRAF и MEK (вемурафениб и дабрафениб), применяющихся при меланоме кожи [4, 76].

Однако нередко у больных ХПУ отмечается сочетание иммунных нарушений с инфекционными агентами, такими как *Borellia Burgdorferi* [24, 83], *Toxocara canis*, вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус иммунодефицита человека, хламидии. Опубликованы работы о развитии ХПУ при туберкулезе легких, особенно в эндемичных районах [29, 54, 62]. Присутствие инфекционного агента, несомненно, обусловливает более тяжелое течение внутриглазного воспаления [46, 53, 93]. Так, например, у больных ХПУ, инфицированных вирусами из семейства герпес-вирусов, особенно ЦМВ и ВЭБ, течение заболевания характеризуется формированием снежко- и сугробоподобных экссудатов на крайней периферии глазного дна и быстрым распространением отека сетчатки от зубчатой линии до экваториальной зоны. Согласно клиническим исследованиям, местное противовоспалительное лечение ХПУ, сочетающегося с инфекционным процессом, без проведения этиотропной фармакотерапии, является малоэффективным, что приводит к возникновению частых рецидивов [9, 55, 60].

Заключение

ХПУ является полиэтиологическим вялотекущим воспалением хориоретинальных структур на крайней периферии глазного дна, которое нередко

ко диагностируется лишь при развитии осложнений [8, 9, 11, 15, 19, 39, 48, 49, 56, 64, 90, 92]. В этиологии и патогенезе заболевания важную роль играют нарушения локальных иммунных механизмов, генетические предпосылки, изменения микробиома кишечника, наличие системных аутоиммунных и инфекционных заболеваний. При этом в 38% случаев этиология ХПУ остается невыясненной [11, 13, 16, 61, 65, 82, 85].

Понимание же механизмов развития и прогрессирования хронического интраокулярного воспаления является основой для разработки максимально эффективных методов его лечения и профилактики.

Список литературы / References

1. Баулина Н.М., Кулакова О.Г., Фаворова О.О. МикроРНК: роль в развитии аутоиммунного воспаления.// Acta Naturae (русскоязычная версия), 2016. Т. 8, № 1. С. 23-36. [Baulina N.M., Kulakova O.G., Favorova O.O. Micro-RNA: role in autoimmune inflammation. *Acta Naturae (russkoyazychnaya versiya)= Acta Naturae (Russian version), 2016, Vol. 8, no. 1, pp. 23-36.* (In Russ.)]

2. Запускалов И.В., Кривошеина О.И., Хороших Ю.И. Патогенетические закономерности поражения центральных отделов глазного дна на фоне периферического увеита // Практическая медицина, 2012. № 4-2 (59). С. 100-104. [Zapuskalov I.V., Krivosheina O.I., Khoroshikh Yu.I. Pathogenic patterns of lesions of the central parts of the ocular fundus in a background of peripheral uveitis. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine, 2012, no. 4-2 (59), pp. 100-104.* (In Russ.)]

3. Хороших Ю.И., Иванова Е.В., Дениско М.С. Периферический увеит и миопия. // Современные технологии в офтальмологии, 2017. № 3. С. 156-157. [Khoroshikh Yu.I., Ivanova E.V., Denisko M.S. Peripheral uveitis and myopia. *Sovremennye tekhnologii v oftalmologii = Modern Technologies in Ophthalmology, 2017, no. 3, pp. 156-157.* (In Russ.)]

4. Agarwal M., Majumder P.D., Babu K., Konana V.K., Goyal M., Touhami S., Stanescu-Segall D., Bodaghi B. Drug-induced uveitis: A review. *Indian J. Ophthalmol., 2020, Vol. 68, no. 9, pp. 1799-1807.*

5. Aggarwal R., Ringold S., Khanna D., Neogi T., Johnson S.R., Miller A., Brunner H.I., Ogawa R., Felson D., Ogdie A., Aletaha D., Feldman B.M. Distinctions between diagnostic and classification criteria? *Arthritis Care Res. (Hoboken), 2015, Vol. 67, no. 7, pp. 891-897.*

6. Agrawal R., Iyer J., Connolly J., Iwata D., Teoh S. Cytokines and biologics in non-infectious autoimmune uveitis: bench to bedside. *Indian J. Ophthalmol., 2014, Vol. 62, no. 1, pp. 74-81.*

7. Berker N., Sen E., Elgin U., Atilgan C.U., Dursun E., Yilmazbas P. Analysis of clinical features and visual outcomes of pars planitis. *Int. Ophthalmol., 2018, Vol. 38, no. 2, pp. 727-736.*

8. Blum-Hareuveni T., Seguin-Greenstein S., Kramer M,, Hareuveni G, Sharon Y., Friling R., Sharief L., Lightman S., Tomkins-Netzer O. Risk factors for the development of cataract in children with uveitis. *Am. J. Ophthalmol., 2017, Vol. 177, pp. 139-143.*

9. Cimino L., Aldigeri R., Marchi S., Mastrofilippo V., Viscogliosi F., Coassin M., Soldani A., Savoldi L., De Fanti A., Belloni L., Zerbini A., Parmeggiani M., Chersich M., Soriano A., Salvarani C., Fontana L. Changes in patterns of uveitis at a tertiary referral center in Northern Italy: analysis of 990 consecutive cases. *Int. Ophthalmol., 2018, Vol. 38, no. 1, pp. 133-142.*

10. Conway M.D., Stern E., Enfield D.B., Peyman G.A. Management of cataract in uveitis patients. *Curr. Opin. Ophthalmol., 2018, Vol. 29, no. 1, pp. 69-74.*

11. Cunningham E.T. Jr, Pavesio C.E., Goldstein D.A., Forooghian F., Zierhut M. Multiple Sclerosis-Associated Uveitis. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2017, Vol. 25, no. 3, pp. 299-301.*

12. Cunningham E.T. Jr, Smith J.R., Tugal-Tutkun I., Rothova A., Zierhut M. Uveitis in children and adolescents. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2016, Vol. 24, no. 4, pp. 365-371.*

13. Deitch I., Amer R., Tomkins-Netzer O., Habot-Wilner Z., Friling R., Neumann R., Kramer M. The effect of anti-tumor necrosis factor alpha agents on the outcome in pediatric uveitis of diverse etiologies. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 2018, Vol. 256, no. 4, pp. 801-808.*

14. Dick A.D. Doyne lecture 2016: Intraocular health and the many faces of inflammation. *Eye (Lond.), 2017, Vol. 31, no. 1, pp. 87-96.*

15. Dick A.D., Tundia N., Sorg R., Zhao C., Chao J., Joshi A., Skup M. Risk of ocular complications in patients with noninfectious intermediate uveitis, posterior uveitis, or panuveitis. *Ophthalmology, 2016, Vol. 123, no. 3, pp. 655-662.*

16. Engelhard S.B., Patel V., Reddy A.K. Intermediate uveitis, posterior uveitis, and panuveitis in the Mid-Atlantic USA. *Clin. Ophthalmol. (Auckland, NZ), 2015, no. 9, pp. 1549-1555.*

17. Forrester J.V., Kuffova L., Dick A.D. Autoimmunity, Autoinflammation, and Infection in Uveitis. *Am. J. Ophthalmol., 2018, Vol. 189, pp. 77-85.*

18. Forrester J.V., McMenamin P.G., Dando S.J. CNS infection and immune privilege. *Nat. Rev. Neurosci., 2018, Vol. 19, no. 11, pp. 655-671.*

19. Foster C.S., Kothari S., Anesi S.D., Vitale A.T., Chu D., Metzinger J.L., Cerón O. The Ocular Immunology and Uveitis Foundation preferred practice patterns of uveitis management. *Surv. Ophthalmol., 2016, Vol. 61, no. 1, pp. 1-17.*

20. Friedman D.S., Holbrook J.T., Ansari H., Alexander J., Burke A, Reed S.B., Katz J., Thorne J.E., Lightman S.L., Kempen J.H.; MUST Research Group. Risk of elevated intraocular pressure and glaucoma in patients with uveitis: results of the multicenter uveitis steroid treatment trial. *Ophthalmology, 2013, Vol. 120, no. 8, pp. 1571-1579.*

21. Fu X., Chen Y., Chen D. The Role of Gut Microbiome in Autoimmune Uveitis. *Ophthalmic Res., 2021, Vol. 64, no. 2, pp. 168-177.*

22. Gery I., Caspi R.R. Tolerance Induction in Relation to the Eye. *Front. Immunol., 2018, Vol. 9, 2304.* doi: 10.3389/fimmu.2018.02304.

23. Hamam R.N., Barikian A.W., Antonios R.S., Abdulaal M.R., Alameddine R.M., El Mollayess G., Mansour A.M. Intravitreal adalimumab in active noninfectious uveitis: a pilot study. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2016, Vol. 24, no. 3, pp. 319-326.*

24. Heinz C., Schoonbrood S., Heiligenhaus A. Intermediate uveitis in children and young adults: differences in clinical course, associations and visual outcome. *Br. J. Ophthalmol., 2014, Vol. 98, no. 8, pp. 1107-1111.*

25. Horai R., Caspi R.R. Microbiome and Autoimmune Uveitis. *Front. Immunol., 2019, Vol. 10, 232.* doi: 10.3389/fimmu.2019.00232.

26. Jabs D.A., Belfort R.Jr., Bodaghi B., Graham E., Holland G.N., Lightman S.L., Oden N., Palestine A.G., Smith J.R., Thorne J.E., Trusko B.E. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Classification Criteria for Syphilitic Uveitis. *Am. J. Ophthalmol., 2021,Vol. 228, pp. 182-191.*

27. Jabs D.A., Denniston A.K., Dick A.D., Dunn J.P., Kramer M., Oden N., Okada A.A., Palestine A.G., Read R.W., Thorne J.E., Trusko B.E., Yeh S. The Standardization Of Uveitis Nomenclature Sun Working Group Classification criteria for pars planitis. *Am. J. Ophthalmol., 2021.* doi: 10.1016/j.ajo.2021.03.045.

28. Jabs D.A., Nussenblatt R.B., Rosenbaum J.T. Perspectives standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of first international workshop. *Am. J. Ophthalmol., 2005, Vol. 140, no. 3, pp. 509-516.*

29. Jayakumar K., Agarwal A., Gupta V. Tubercular intermediate uveitis: The importance of meticulous multidisciplinary assessments. *Indian J. Ophthalmol., 2019, Vol. 67, no. 11, pp. 1873-1874.*

30. Kaur C., Foulds W.S., Ling E.A. Blood–retinal barrier in hypoxic ischaemic conditions: basic concepts, clinical features and management. *Prog. Retin. Eye Res., 2008, Vol. 27, no. 6, pp. 622-647.*

31. Kempen J.H., van Natta M.L., Altaweel M.M., Dunn J.P., Jabs D.A., Lightman S.L., Thorne J.E., Holbrook J.T. Multicenter Uveitis Steroid Treatment (MUST) Trial Research Group. Factors predicting visual acuity outcome in intermediate, posterior, and panuveitis: the Multicenter Uveitis Steroid Treatment (MUST) trial. *Am. J. Ophthalmol., 2015, Vol. 160, no. 6, pp. 1133-1141.*

32. Kerr E.C., Copland D.A., Dick A.D., Nicholson L.B. The dynamics of leukocyte infiltration in experimental autoimmune uveoretinitis. *Prog. Retin. Eye Res., 2008, Vol. 27, no. 5, pp. 527-535.*

33. Kosmaczewska A., Przeździecka-Dołyk J., Turno-Kręcicka A., Ciszak L., Szteblich A., Węgrzyn A., Frydecka I., Misiuk-Hojło M. Imbalance in PB IL-17-Secreting and Regulatory Cells in Pars Planitis Is Associated with Dysregulation of IFN-γ-Secreting Cells, Especially in Patients with Clinical Complications. *Mediators Inflamm., 2020, Vol. 2020, 9175083.* doi: 10.1155/2020/9175083.

34. Leclercq M., Desbois A.C., Domont F., Maalouf G., Touhami S., Cacoub P., Bodaghi B., Saadoun D. Biotherapies in Uveitis. *J. Clin. Med., 2020, Vol. 9, no. 11, 3599.* doi: 10.3390/jcm9113599.

35. Lee R.W., Nicholson L.B., Sen H.N., Chan C.C., Wei L., Nussenblatt R.B., Dick A.D. Autoimmune and autoinflammatory mechanisms in uveitis. *Semin. Immunopathol., 2014, Vol. 36, no. 5, pp. 581-594.*

36. Levinson R.D. Immunogenetics of ocular inflammatory disease. *Tissue Antigens, 2007, Vol. 69, no. 2, pp. 105-112.*

37. Levy-Clarke G., Jabs D.A., Read R.W., Rosenbaum J.T., Vitale A., van Gelder R.N. Expert panel recommendations for the use of anti–tumor necrosis factor biologic agents in patients with ocular inflammatory disorders. *Ophthalmology, 2014, Vol. 121, no. 3, pp. 785-796.*

38. Liberman P., Gauro F., Berger O., Urzua C.A. Causes of uveitis in a tertiary center in Chile: a cross-sectional retrospective review. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2015, Vol. 23, no. 4, pp. 339-345.*

39. Lin P., Suhler E.B., Rosenbaum J.T. The future of uveitis treatment. *Am. Acad. Ophthalmol., 2014, Vol. 121, no. 1, pp. 365-376.*

40. Lindner E., Steinwender G., Plainer S., Poeschl E.M., Weger M., Ardjomand N., Renner W., El-Shabrawi Y. Role of IL-10 gene polymorphisms in intermediate and HLA-B27-associated uveitis. *Acta Ophthalmol., 2013, Vol. 91, no. 5, pp. e415-e417.*

41. Llop S.M., Papaliodis G.N. Cataract Surgery Complications in Uveitis Patients: A Review Article. *Semin. Ophthalmol., 2018, Vol. 33, no. 1, pp. 64-69.*

42. Llorenç V., Mesquida M., Sainz de la Maza M., Keller J., Molins B., Espinosa G., Hernandez M.V., Gonzalez-Martín J., Adán A. Epidemiology of uveitis in a Western urban multiethnic population. The challenge of globalization. *Acta Ophthalmol., 2015, Vol. 93, no. 6, pp. 561-567.*

43. Luca C., Raffaella A., Sylvia M., Valentina M., Fabiana V., Marco C., Annamaria S., Luisa S., Alessandro F., Lucia B., Alessandro Z., Maria P., Matthew C., Alessandra S., Carlo S., Luigi F. Complications in Intermediate Uveitis: Prevalence, Time of Onset, and Effects on Vision in Short-Term and Long-Term Follow-Up. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2018, Vol. 38, no. 1, pp. 133-142.*

44. Miserocchi E., Fogliato G., Modorati G., Bandello F. Review on the worldwide epidemiology of uveitis. *Eur. J. Ophthalmol., 2013, Vol. 23, no. 5, pp. 705-717.*

45. Mölzer C., Heissigerova J., Wilson H.M., Kuffova L., Forrester J.V. Immune Privilege: The Microbiome and Uveitis. *Front. Immunol., 2021, Vol. 11, 608377.* doi: 10.3389/fimmu.2020.608377.

46. Ness T., Boehringer D., Heinzelmann S. Intermediate uveitis: pattern of etiology, complications, treatment and outcome in a tertiary academic center. *Orphanet J. Rare Dis., 2017, Vol. 12, no. 1, 81.* doi: 10.1186/s13023-017-0638-9.

47. Nguyen Q.D., Merrill P.T., Jaffe G.J., Dick A.D., Kurup S.K., Sheppard J., Schlaen A., Pavesio C., Cimino L., van Calster J., Camez A.A., Kwatra N.V., Song A.P., Kron M., Tari S., Brézin A.P. Adalimumab for prevention of uveitic flare in patients with inactive non-infectious uveitis controlled by corticosteroids (VISUAL II): a multicentre, double-masked, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet, 2016, Vol. 388, no. 10050, pp. 1183-1192.*

48. Ozdal P.C., Berker N., Tugal-Tutkun I. Pars planitis: Epidemiology, clinical characteristics, management and visual prognosis. *J. Ophthalmic Vis. Res., 2015, Vol. 10, no. 4, pp. 469-480.*

49. Ozzello D.J., Palestine A.G. Factors affecting therapeutic decisions in intermediate and posterior uveitis. *Am. J. Ophthalmol., 2015, Vol. 159, no. 2, pp. 213-220.*

50. Pålsson S., Andersson Grönlund M., Skiljic D., Zetterberg M. Phacoemulsification with primary implantation of an intraocular lens in patients with uveitis. *Clin. Ophthalmol. (Auckland, NZ), 2017, Vol. 11, pp. 1549-1555.*

51. Parchand S., Tandon M., Gupta V., Gupta A. Intermediate uveitis in Indian population. *J. Ophthal. Inflamm. Infect., 2011, no. 1, pp. 65-70.*

52. Perez V.L., Caspi R.R. Immune mechanisms in inflammatory and degenerative eye disease. *Trends Immunol., 2015, Vol. 36, no. 6, pp. 354-363.*

53. Perez V.L., Papaliodis G.N., Chu D., Anzaar F., Christen W., Foster C.S. Elevated levels of interleukin 6 in the vitreous fluid of patients with pars planitis and posterior uveitis: the Massachusetts eye & ear experience and review of previous studies. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2004, Vol. 12, no. 3, pp. 193-202.*

54. Placinta I.A., Udaondo P. Multimodal imaging in intermediate tuberculous uveitis. *Arch. Soc. Esp. Oftalmol. (Engl. Ed.), 2020, Vol. 95, no. 5, pp. e37-e38.*

55. Przeździecka-Dołyk J., Węgrzyn A., Turno-Kręcicka A., Misiuk-Hojło M. Immunopathogenic background of pars planitis. *Arch. Immunol. Ther. Exp., 2015, Vol. 64, no. 2, pp. 127-137.*

56. Ratra D., Barh A., Banerjee M., Ratra V., Biswas J. Safety and Efficacy of Intravitreal Dexamethasone Implant for Refractory Uveitic Macular Edema in Adults and Children. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2018, Vol. 26, no. 7, pp. 1034-1040.*

57. Raveney B.J., Copland D.A., Dick A.D., Nicholson L.B. TNFR1-dependent regulation of myeloid cell function in experimental autoimmune uveoretinitis. *J. Immunol., 2009, Vol. 183, no. 4, pp. 2321-2329.*

58. Roemer S., Bissig A., Rocca A., Du Pasquier R., Guex-Crosier Y. Efficacy of natalizumab in intermediate uveitis related to multiple sclerosis: a case report. *Klin. Monbl für Augenheilkd, 2018, Vol. 235, no. 4, pp. 476-477.*

59. Rothova A., Hajjaj A., de Hoog J., Thiadens A.A.H.J., Dalm V.A.S.H. Uveitis causes according to immune status of patients. *Acta Ophthalmol., 2019, Vol. 97, no. 1, pp. 53-59.*

60. Schwartzman S., Schwartzman M. The use of biologic therapies in uveitis. *Clin. Rev. Allergy Immunol., 2015, Vol. 49, no. 3, pp. 307-316.*

61. Sen H.N., Abreu F.M., Louis T.A., Sugar E.A., Altaweel M.M., Elner S.G., Holbrook J.T., Jabs D.A., Kim R.Y., Kempen J.H. Multicenter Uveitis Steroid Treatment (MUST) Trial and Follow-up Study Research Group. Cataract surgery outcomes in Uveitis: the multicenter Uveitis steroid treatment trial. *Ophthalmology, 2016, Vol. 123, no. 1, pp. 183-190.*

62. Shah A., Biswas J. Cytopathology and Polymerase Chain Reaction of Vitreous Fluid in Tubercular Intermediate Uveitis. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2020, pp. 1-3.*

63. Shechter R., London A., Schwartz M.. Orchestrated leukocyte recruitment to immune-privileged sites: absolute barriers versus educational gates. *Nat. Rev. Immunol., 2013, Vol. 13, no. 3, pp. 206-218.*

64. Shorstein N.H., Liu L., Waxman M.D., Herrinton L.J. Comparative effectiveness of three prophylactic strategies to prevent clinical macular edema after phacoemulsification surgery. *Ophthalmology, 2015, Vol. 122, no. 12, pp. 2450-2456.*

65. Shoughy S.S., Kozak I., Tabbara K.F. Associations of Systemic Diseases with Intermediate Uveitis. *Ophthalmic Epidemiol., 2016, Vol. 23, no. 1, pp. 27-31.*

66. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Classification Criteria for Multiple Sclerosis-Associated Intermediate Uveitis. *Am. J. Ophthalmol., 2021, Vol. 228, pp. 72-79.*

67. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Classification Criteria for Sarcoidosis-Associated Uveitis. *Am. J. Ophthalmol., 2021, Vol. 228, pp. 220-230.*

68. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Classification Criteria for Intermediate Uveitis, Non-Pars Planitis Type. *Am. J. Ophthalmol., 2021, Vol. 228, pp. 159-164.*

69. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Development of Classification Criteria for the Uveitides. *Am. J. Ophthalmol., 2021, Vol. 228, pp. 96-105.*

70. Stanford M.R., Vaughan R.W., Kondeatis E., Chen Y., Edelsten C.E., Graham E.M., Wallace G.R. Are cytokine gene polymorphisms associated with outcome in patients with idiopathic intermediate uveitis in the United Kingdom? *Br. J. Ophthalmol., 2005, Vol. 89, no. 8, pp. 1013-1016.*

71. Sugita S., Horie S., Yamada Y., Mochizuki M. Inhibition of B-cell activation by retinal pigment epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2010, Vol. 51, Iss. 11, pp. 5783-5788.*

72. Sugita S., Kawazoe Y., Imai A., Usui Y., Iwakura Y., Isoda K., Ito M., Mochizuki M. Mature dendritic cell suppression by IL-1 receptor antagonist on retinal pigment epithelium cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2013, Vol. 54, Iss. 5, pp. 3240-3249.*

73. Sugita S. Role of ocular pigment epithelial cells in immune privilege. *Arch. Immunol. Ther. Exp., 2009, Vol. 57, no. 4, pp. 263-268.*

74. Sugita S., Horie S., Yamada Y., Kawazoe Y., Takase H., Mochizuki M. Suppression of interleukin-17-producing T-helper 17 cells by retinal pigment epithelial cells. *Jpn J. Ophthalmol., 2011, Vol. 55, pp. 565-575.*

75. Sugita S., Kawazoe Y., Imai A., Usui Y., Takahashi M., Mochizuki M. Suppression of IL-22-producing T helper 22 cells by RPE cells via PD-L1/PD-1 interactions. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2013, Vol. 54, Iss. 10, pp. 6926-6933.*

76. Sun M.M., Levinson R.D., Filipowicz A., Anesi S., Kaplan H.J., Wang W., Goldstein D.A., Gangaputra S., Swan R.T., Sen H.N., Gordon L.K. Uveitis in Patients Treated with CTLA-4 and PD-1 Checkpoint Blockade Inhibition. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2020, Vol. 28, no. 2, pp. 217-227.*

77. Takai Y., Tanito M., Ohira A. Multiplex cytokine analysis of aqueous humor in eyes with primary open-angle glaucoma, exfoliation glaucoma, and cataract. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2012, Vol. 53, Iss. 1, pp. 241-247.*

78. Tekin K., Erol Y.O., Sargon M.F., Inanc M., Ozdal P.C., Berker N. Effects of Fuchs uveitis syndrome on the ultrastructure of the anterior lens epithelium: A transmission electron microscopic study. *Indian J. Ophthalmol., 2017, Vol. 65, no. 12, pp. 1459-1464.*

79. Ten Berge J.C., Schreurs M.W.J., van Daele P.L.A., Rothova A. Autoimmunity in uveitis. *Acta Ophthalmol., 2018, Vol. 96, no. 5, pp. 481-485.*

80. Thorne J.E., Skup M., Tundia N., Macaulay D., Revol C., Chao J., Joshi A., Dick A.D. Direct and indirect resource use, healthcare costs and work force absence in patients with non-infectious intermediate, posterior or panuveitis. *Acta Ophthalmol., 2016, Vol. 94, no. 5, pp. e331-339.*

81. Tode J., Richert E., Koinzer S., Klettner A., Pickhinke U., Garbers C., Rose-John S., Nölle B., Roider J. Intravitreal injection of anti-interleukin (IL)-6 antibody attenuates experimental autoimmune uveitis in mice. *Cytokine, 2017, Vol. 96, pp. 8-15.*

82. Tomkins-Netzer O., Lightman S., Drye L., Kempen J., Holland G.N., Rao N.A., Stawell R.J., Vitale A., Jabs D.A.; Outcome of treatment of uveitic macular edema: the multicenter uveitis steroid treatment trial 2-year results. *Ophthalmology, 2015, Vol. 122, no. 11, pp. 2351-2359.*

83. Tsirouki T., Dastiridou A., Symeonidis C., Tounakaki O., Brazitikou I., Kalogeropoulos C., Androudi S. A Focus on the Epidemiology of Uveitis. *Ocul. Immunol. Inflamm., 2018, Vol. 26, no. 1, pp. 2-16.*

84. Valentincic N.V., de Groot-Mijnes J.D., Kraut A., Korosec P., Hawlina M., Rothova A. Intraocular and serum cytokine profiles in patients with intermediate uveitis. *Mol. Vis., 2011, Vol. 17, pp. 2003-2010.*

85. Verhagen F.H., Bekker C.P.J., Rossato M., Hiddingh S., de Vries L., Devaprasad A., Pandit A., Ossewaarde-van Norel J., Ten Dam N., Moret-Pot M.C.A., Imhof S.M., de Boer J.H., Radstake T.R.D.J., Kuiper J.J.W. A disease-associated microRNA cluster links inflammatory pathways and an altered composition of leukocyte subsets to noninfectious uveitis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2018, Vol. 59, Iss. 2, pp. 878-888.*

86. Vidović-Valentinčič N., Kraut A., Hawlina M., Stunf S., Rothova A. Intermediate uveitis: long-term course and visual outcome. *Br. J. Ophthalmol, 2009, Vol. 93, no. 4, pp. 477-480.*

87. Weinstein J.E., Pepple K.L. Cytokines in uveitis. *Curr. Opin. Ophthalmol., 2018, Vol. 29, no. 3, pp.267-274.*

88. Wen X., Hu X., Miao L., Ge X., Deng Y., Bible P.W., Wei L. Epigenetics, microbiota, and intraocular inflammation: New paradigms of immune regulation in the eye. *Prog. Retin. Eye Res., 2018, Vol. 64, pp. 84-95.*

89. Williams K.A., Esterman A.J., Bartlett C., Holland H., Hornsby N.B., Coster D.J. How effective is penetrating corneal transplantation? Factors influencing long-term outcome in multivariate analysis. *Transplantation, 2006, Vol. 81, no. 6, pp. 896-901.*

90. Winterhalter S., Behrens U.D., Salchow D., Joussen A.M., Pleyer U. Dexamethasone implants in paediatric patients with noninfectious intermediate or posterior uveitis: first prospective exploratory case series. *BMC Ophthalmol., 2017, Vol. 17, no. 1, 252.* doi: 10.1186/s12886-017-0648-3.

91. Yoshimura T., Sonoda K.H., Ohguro N., Ohsugi Y., Ishibashi T., Cua D.J., Kobayashi T., Yoshida H., Yoshimura A. Involvement of Th17 cells and the effect of anti-IL-6 therapy in autoimmune uveitis. *Rheumatology (Oxford), 2009, Vol. 48, no. 4, pp. 347-354.*

92. You C., Sahawneh H.F., Sahawneh M.L., Kubaisi B., Schmidt A., Foster C.S. A review and update on orphan drugs for the treatment of noninfectious uveitis. *Clin. Ophthalmol., 2017, Vol. 11, pp. 257-265.*

93. Yuen B.G., Tham V.M., Browne E.N., Weinrib R., Borkar D.S., Parker J.V., Uchida A., Vinoya A.C., Acharya N.R. Association between smoking and uveitis: results from the Pacific Ocular Inflammation Study. *Ophthalmology, 2015, Vol. 122, no. 6, pp. 1257-1261.*

94. Zola M., Briamonte C., Lorenzi U., Machetta F., Grignolo F.M., Fea A.M. Treatment of refractory uveitic macular edema: results of a first and second implant of long-acting intravitreal dexamethasone. *Clin. Ophthalmol. (Auckland, NZ), 2017, Vol. 11, pp. 1949-1956.*

Авторы:

Татарникова Е.Б. *– аспирант кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия*

Кривошеина О.И. *– д.м.н., профессор, заведующая кафедрой офтальмологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия*

Иванова Е.В. *– ассистент кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия*

Authors:

Tatarnikova E.B., *Postgraduate Student, Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation*

Krivosheina O.I., *PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation*

Ivanova E.V., *Assistant Professor, Department of Ophthalmology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation*

Поступила 11.08.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 11.08.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 41-52
© 2022, СПб РО РААКИ

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 41-52
© 2022, SPb RAACI

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ЛОКУСОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ГЛАВНЫМ КОМПЛЕКСОМ ТКАНЕВОЙ СОВМЕСТИМОСТИ MHC (HLA) – MIC (MICA, MICB) У РУССКИХ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Бурмистрова А.Л.[1], Вавилов М.Н.[1, 2], Сташкевич Д.С.[1], Суслова Т.А.[1, 2]

[1] *ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия*
[2] *ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», г. Челябинск, Россия*

Резюме. Гены MIC расположены на 6-й хромосоме в регионе главного комплекса гистосовместимости (MHC) I класса и кодируют связанный с мембраной стресс-индуцибельный белок, действующий как лиганд для стимуляции активирующего рецептора, NKG2D, экспрессируемого на поверхности практически всех естественных киллеров человека (NK). На данный момент известно 7 локусов MIC, из которых только MICA и MICB кодируют белковые продукты и обладают существенным аллельным полиморфизмом. Полиморфизм генов MIC и их расположение в регионе HLA на 6-й хромосоме предполагает наличие этнических и межпопуляционных различий в частотах генов, неравновесном сцеплении локусов и в частотах HLA-MIC гаплотипов, что дает возможность получать информацию о генетическом родстве популяций.

Целью нашего исследования является представить иммуногенетический профиль популяции русских Челябинской области на основе неклассических локусов HLA – MICA и MICB, в контексте мировых популяций.

Проведено иммуногенетическое типирование 100 доноров состоящих в Регистре доноров стволовой клетки ГБУЗ «Челябинской областной станции переливания крови», идентифицирующих себя русскими, по 2 локусам MICA и MICB на базовом разрешении, методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (SSP-PCR). С помощью программы для иммуногенетических исследований Arlequin 3.5 были рассчитаны частоты генов (GF).

В популяции русских Челябинской области установлены, следующие характеристики профиля генов MICA (MICA*008, *002, *010, *009 с частотой больше 7%; средние частоты MICA*004, *007, *018, *017 и MICA*027, *011, *006, *009:02, *049, *012, *016 с частотой меньше 3,5%), а также профиля генов MICB (MICB*005:02, *004, *002, *008 с частотой больше 6%; с частотой 4% MICB*003, *005:03; MICB*005:01, *005:04, *009N, MICB*013, *014 с частотой 0,5%). На основе расчета генетических расстояний (по Нею) по локусу MICA построена дендрограмма и график рассеяния с использованием метода многомерного шкалирования (MDS), на которых представлено расположение 30 мировых популяций, включая данные по популяции русских Челябинской области. Наименьшие генетические дистанции между популяцией русских Челябинской области и рассмотренными мировыми популя-

Адрес для переписки:
Вавилов Михаил Николаевич
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»
454085, Россия, г. Челябинск, ул. Марченко, 7а, кв. 48.
Тел.: 8 (952) 508-90-84.
E-mail: vavlakhim@mail.ru

Address for correspondence:
Vavilov Mikhail N.
Chelyabinsk State University
454085, Russian Federation, Chelyabinsk, Marchenko str., 7a, apt 48.
Phone: 7 (952) 508-90-84.
E-mail: vavlakhim@mail.ru

Образец цитирования:
А.Л. Бурмистрова, М.Н. Вавилов, Д.С. Сташкевич, Т.А. Суслова «Иммуногенетический профиль локусов, сцепленных с главным комплексом тканевой совместимости MHC (HLA) – MIC (MICA, MICB) у русских Челябинской области» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 41-52.
doi: 10.15789/1563-0625-IPO-2324

© Бурмистрова А.Л. и соавт., 2022

For citation:
A.L. Burmistrova, M.N. Vavilov, D.S. Stashkevich, T.A. Suslova "Immunogenetic profile of MIC (A, B) HLA loci linked to MHC antigenic complex in Russians of the Chelyabinsk Region", Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 41-52.
doi: 10.15789/1563-0625-IPO-2324
DOI: 10.15789/1563-0625-IPO-2324

циями обнаружены между жителями Словении, а также населением США европейского происхождения. В результате построения графика рассеяния на основании частот генов MICA методом MDS, с использованием данных кластерного анализа, было установлено, что популяция русских Челябинской области принадлежит к кластеру типичных европейских популяций.

Полученные закономерности могут быть использованы в практической работе для создания регистра доноров стволовых клеток России. Кроме того, данные могут быть использованы как контрольная группа для проведения исследований по направлению «ассоциация HLA с заболеваниями», а также востребованы специалистами по этногенезу в популяционных исследованиях.

Ключевые слова: популяционная иммуногенетика, HLA, MICA, MICB, русская популяция, Региональный регистр доноров костного мозга

IMMUNOGENETIC PROFILE OF MIC (A, B) HLA LOCI LINKED TO MHC ANTIGENIC COMPLEX IN RUSSIANS OF THE CHELYABINSK REGION

Burmistrova A.L.[a], Vavilov M.N.[a, b], Stashkevich D.S.[a], Suslova T.A.[a, b]

[a] *Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation*
[b] *Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation*

Abstract. The MIC genes are located on chromosome 6 in the class I major histocompatibility complex (MHC) region and encode a membrane-bound stress-inducible protein that acts as a ligand to stimulate the NKG2D activating receptor expressed on the surface of the most natural killer cells (NK). Currently, 7 MIC loci are known, of which only MICA and MICB encode proteins and show a significant allelic polymorphism. The MIC gene polymorphism and their location in the HLA region suggests presence of some ethnic and populational differences for the gene frequencies, linkage disequilibrium of distinct loci, and distribution of HLA-MIC haplotypes, thus making it possible to get information on genetic relationship of human populations. The aim of our study was to assess immunogenetic profile of Russian population in Chelyabinsk Region based on the non-classical HLA loci, i.e., MICA and MICB, in the context of worldwide population data. Methods of the study included immunogenetic typing of 100 donors identifying themselves as Russians, taken from the Registry of Stem Cell Donors at the Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station. The 2 loci (MICA and MICB) were typed at basic resolution, using PCR technique with sequence-specific primers (SSP-PCR). Gene frequencies (GF) were calculated using programs for immunogenetic research (Arlequin 3.5).

Among Russian population from Chelyabinsk Region, the following characteristics of the MICA gene distributions were found: MICA *008, *002, *010, *009, frequency of > 7%; average frequencies, for MICA *004, *007, *018, *017; whereas MICA *027, *011, *006, *009:02, *049, *012, *016 was registered at a frequency of < 3.5%. MICB gene profile was as follows: MICB *005:02, *004, *002, *008 at a frequency of > 6%; at a frequency of 4% MICB *003, *005:03; MICB *005:01, * 005:04, * 009N, MICB *013, *014 at a frequency of 0.5%. As based on calculated genetic distances (according to Ney) for the MICA locus, the dendrogram and scatter plot were designed by means of multidimensional scaling (MDS) method, presenting location of 30 world populations, including data on Russians in Chelyabinsk Region. The smallest genetic distances between the population of Russians from Chelyabinsk Region and other world populations were found between the population of Slovenia, as well as the USA population of European origin. As based on scatterplot obtained by the MDS approach for MICA gene frequencies, using the data of cluster analysis, we have found that the population of Russians from Chelyabinsk Region belongs to a cluster of typical European populations.

The obtained patterns could be used for practical purposes to create a registry of stem cell donors in Russia. In addition, the data may be used as a control group for further research in the area of HLA-disease association, and could be also demanded by the specialists in population ethnogenesis.

Keywords: population immunogenetics, HLA, MICA, MICB, Russian population; Regional bone marrow donor registry

Введение

Гены MIC расположены на 6-й хромосоме в регионе главного комплекса гистосовместимости (MHC) I класса и кодируют связанный с мембраной стресс-индуцибельный белок, действующий как лиганд для стимуляции активирующего рецептора, NKG2D, экспрессируемого на поверхности практически всех естественных киллеров человека (NK), а в определенных условиях и на $CD8^+\alpha$, $CD8^+\beta$ Т-клетках [5, 8, 13, 14].

Белок, кодируемый генами MICA/MICB, по структуре напоминает классические молекулы MHC класса I, хотя он не связан с β2-микроглобулином, имеет чрезвычайно узкую пептид-связывающую бороздку и, как следствие, не играет никакой роли в презентации пептидов [5]. Молекулы MIC являются маркером клеточного стресса, и влияют на реакцию как врожденной, так и адаптивной иммунной системы, участвуя в надзоре за гомеостазом. Основное тканевое распределение белков MIC ограничено фибробластами, кишечным эпителием, а также эндотелиальными клетками [5, 8]. Однако экспрессия MIC активируется при патологических условиях, включающих клеточный стресс, онкогенез или заражение инфекционными патогенами [5, 8, 13, 14].

На данный момент известно 7 локусов MIC, из которых только MICA и MICB кодируют белковые продукты и обладают существенным аллельным полиморфизмом. Обнаружено более 200 вариантов аллелей в локусах MICA и MICB, и число вновь открытых аллелей продолжает увеличиваться с каждым годом [12, 16].

В связи с тем, что MICA/MICB представляют собой наиболее полиморфные неклассические локусы HLA класса I и принимают участие во врожденном иммунном ответе, широко исследуется связь аллельного полиморфизма белковых продуктов MIC с заболеваниями, имеющими аутоиммунную и аллергическую природу, с иммунным ответом на клетки опухоли, и с защитой против инфекционных агентов. В настоящее время рассматривается их роль в отторжении трансплантата и участии в посттрансплантационных осложнениях, таких как реакция «трансплантат против хозяина» [3, 14, 18, 27].

Полиморфизм генов MIC и их расположение в регионе HLA на 6-й хромосоме предполагает наличие этнических и межпопуляционных различий в частотах генов, неравновесном сцеплении локусов и в частотах HLA-MIC гаплотипов, что дает возможность получать информацию о генетическом родстве популяций [9, 17, 20, 21, 22].

К сожалению, популяционные особенности распределения частот генов MICA и MICB у основных народов России до настоящего времени остаются не изученными. Однако данные о популяционных особенностях в распределении генов MIC в различных регионах России могут быть востребованы при создании Российского Регистра доноров стволовой клетки и разработки персонифицированных подходов к терапии онкогематологических пациентов [3, 6, 7, 15, 18, 27].

Так как русские это основной этнос Российской Федерации, численность которого составляет 111,016 млн. человек, что составляет около 80% населения страны (соответственно 2,830 млн. и 81,41% населения Челябинской области) [1] наше исследование направлено на установление профиля генов MIC именно у русских.

Целью нашего исследования является представить иммуногенетический профиль популяции русских Челябинской области на основе неклассических локусов HLA – MICA и MICB, в контексте мировых популяций.

Материалы и методы

В качестве исследуемой группы было обследовано 100 потенциально здоровых доноров состоящих в Регистре доноров стволовой клетки ГБУЗ «Челябинской областной станции переливания крови», идентифицирующих себя русскими. В исследование вошли случайно выбранные неродственные лица, постоянно проживающие на территории Челябинской области. Принадлежность к определенной этнической группе определялась по официальным документам и данным генеалогического анамнеза в трех поколениях согласно рекомендациям 8-го Международного Уоркшопа 1980 года [25].

Иммуногенетическое типирование локусов MICA и MICB осуществляли методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction, PCR-SSP) [20].

С помощью компьютерной программы Arlequin 3.5 [4, 10] была рассчитана частота гена (gf – gene frequency) – доля определенного аллельного варианта среди всех аллелей в исследуемой популяции, а также стандартная ошибка для частоты гена (SE). Была произведена проверка соответствия наблюдаемого распределения аллельных вариантов равновесию Харди–Вайнберга.

Материалом для сравнительного популяционного исследования послужили генетические частоты локуса MICA в популяции русских Челябинской области и 29 мировых популяций из международной базы данных The Allele Frequency Net Database (AFND) (http://www.allelefrequencies.net) [17].

Мировые популяции, вошедшие в сравнительное исследование (в скобках указан автор иссле-

дования и год): Бразилия «Смешанная» 1 (Jeane Eliete Laguila Visentainer, 2011), Бразилия «Смешанная» 2 (Marin M. L. C., 2001), Бразилия Японцы (Josiane Bazzo de Alencar, 2017), Великобритания Англия 1 (J. Davidson, 2008), Великобритания Англия 2 (Suzanne Norris, 2000), Великобритания Англия 3 (T. Ahmad, 2001), Великобритания Уэльс (M.T. Rees, 2004), Испания Майорка (Ana Cambra, 2008), Испания Мурсия (Daniel Lucas, 2007), Китай Баотоу Хан (Wei Tian, 2009), Китай Синьцзян Уйгуры (Weijuan Gong, 2001), Китай Чжанцзяцзе Туцзяс (Wang Y.J., 2014), Китай Чжэцзян Хан (F. Zhu, 2008), Китай Шанхай Хан (Weijuan Gong, 2001), Марокко Металса (Daniela Piancatelli, 2001), Нигерия Игбо (W. Tian, 2002), Нигерия Йоруба (W. Tian, 2002), Нигерия Эфик (W. Tian, 2002), Словения (Bratanic N., 2009), США Афроамериканцы 1 (Yanzheng Zhang, 2002), США Афроамериканцы 2 (W. Tian, 2002), США Афроамериканецы 3 (W. Tian, 2002), США Кавказоиды 1 (Effie W. Petersdorf, 1998), США Кавказоиды 2 (Yanzheng Zhang, 2000), Тайланд-Северо-Восток (Romphruk A.V., 2000), Турция (Nobuko Mizuki, 2006), Южная Корея Сеул (Y.-H. Sohn, 2009), Япония 1 (Y. Katsuyama, 1998), Япония 3 (Miki Komatsu-Wakui, 1998).

На основании частот генов MICA 29 мировых популяций и исследуемой популяции русских Челябинской области была рассчитана матрица попарных генетических расстояний по методу Нея, с помощью компьютерной программы Phylip 3.69 [19].

Для визуального представления гипотетической модели родства популяций между собой на основе полученных данных матрицы генетических расстояний в программе PAST (версия 2.17) было произведено построение не заякоренной дендограммы и графика рассеяния методом многомерного шкалирования (Multidimensional scaling – MDS) по двум осям [11]. Также был произведен кластерный анализ методом k-средних (k-means clustering) результаты которого объединили с дендограммой и графиком MDS [11].

Результаты

Частоты генов и антигенов MICA и MICB

Частоты генов и антигенов MICA и MICB в популяции русских Челябинской области приведены в таблице 1.

Из 104 (MICA) и 38 (MICB) открытых на данный момент аллельных вариантов с разрешением на уровне белковых продуктов в популяции Челябинской области, относящих себя к русским, было обнаружено 16 аллельных вариантов MICA и 10 вариантов MICB, частоты генов приведены в таблице 1.

С наибольшей частотой представлены следующие аллельные варианты, в порядке уменьшения частоты гена: MICA*008 (0,365), MICA*002 (0,16), MICA*010 (0,095), MICA*009:01 (0,075). Аллельные варианты со средней частотой от 2% до 7% – MICA*004 (0,07), MICA*007 (0,07), MICA*018 (0,05), MICA*017 (0,035), MICA*027 (0,02). Аллельные варианты с частотой меньше или равной 1,5% – MICA*011 (0,015), MICA*006 (0,01), MICA*009:02 (0,01), MICA*049 (0,01), MICA*012 (0,005), MICA*016 (0,005), MICA*del (0,005). Аллельные варианты MICB в порядке уменьшения частоты гена: MICB*005:02 (0,353), *004 (0,255), *002 (0,230), *008 (0,057); с частотой 4% MICB*003, *005:03; с частотой 0,5% MICB*005:01, *005:04, *009N, MICB*013, *014.

Данное распределение генов MICA и MICB у русских, проживающих в Челябинской области, укладывается в общеевропейские тенденции в распределении частот генов MICA и MICB, характерные для большинства популяций европейского происхождения [17].

Генетические расстояния

В связи с тем, что локус MICB обладает значительно меньшим аллельным полиморфизмом, а данные частот генов MICB в других популяциях представлены ограниченно, для этапа сравнительных исследований с мировыми популяциями мы использовали только данные частот генов MICA.

На основе данных о частоте генов MICA между исследуемой популяцией русских Челябинской области и 29 мировыми популяциями, приведенных в разделе материалы и методы, была рассчитана матрица попарных генетических расстояний по Нею [19].

В таблице 2 приведены генетические расстояния 29 мировых популяций относительно исследуемой популяции русских Челябинской области.

В результате анализа, установлено, что у русских Челябинской области отмечается наименьшее генетическое расстояние с населением США европейского происхождения (0,012624) и жителями Словении (0,0279). В то время как генетические расстояния у русской популяции с афроамериканцами США (0,284461) и жителями Нигерии Игбо (0,287913), Йоруба (0,378857) максимальны. Таким образом, на основании сравнения генетических дистанций, исследуемых популяций, генетическое сходство популяции русских Челябинской области сильнее с популяциями европейского происхождения.

Дендрограмма

Одним из способов визуализации попарных генетических дистанций между исследуемыми популяциями, является построение дендограм-

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТЫ ГЕНОВ И АНТИГЕНОВ MICA И MICB В ПОПУЛЯЦИИ РУССКИХ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

TABLE 1. GENE FREQUENCY MICA AND MICB IN THE POPULATION OF RUSSIANS OF THE CHELYABINSK REGION

Обнаруженные аллели Detected alleles	**Количество*** Number*	**Частота аллеля (pf)** Allele frequency (pf)	**Частота гена (gf)** Gene frequency (gf)	**SE для (gf)**** SE for (gf)**	**Гомозиготы***** Homozygous***
MICA*002	26	0,260	0,160	0,026	6
MICA*004	14	0,140	0,070	0,018	0
MICA*006	2	0,020	0,010	0,007	0
MICA*007	14	0,140	0,070	0,018	0
MICA*008	57	0,570	0,365	0,034	16
MICA*009:01	15	0,150	0,075	0,019	0
MICA*009:02	2	0,020	0,010	0,007	0
MICA*010	18	0,180	0,095	0,021	1
MICA*011	3	0,030	0,015	0,009	0
MICA*012	1	0,010	0,005	0,005	0
MICA*016	1	0,010	0,005	0,005	0
MICA*017	7	0,070	0,035	0,013	0
MICA*018	10	0,100	0,050	0,015	0
MICA*027	4	0,040	0,020	0,010	0
MICA*049	2	0,020	0,010	0,007	0
MICA*del	1	0,010	0,005	0,005	0
MICB*002	41	0,410	0,230	0,030	5
MICB*003	8	0,080	0,040	0,014	0
MICB*004	44	0,440	0,255	0,031	8
MICB*005:01	1	0,010	0,005	0,005	0
MICB*005:02	54	0,540	0,353	0,033	15
MICB*005:03	8	0,080	0,040	0,014	0
MICB*008	11	0,110	0,057	0,017	1
MICB*009N	1	0,010	0,005	0,005	0
MICB*013	1	0,010	0,005	0,005	0
MICB*014	1	0,010	0,005	0,005	0

Примечание.* – количество положительных индивидуумов; ** – стандартная ошибка (SE) для частоты гена (gf); * – количество обнаруженных гомозиготных индивидуумов.**

Note. *, number of positive individuals; **, standard error (SE) for gene frequency (gf); ***, number of homozygous individuals found.

мы. Это способ визуально представить гипотетическую модель родства популяций между собой. На рисунке 1 представлена диаграмма, представляющая собой не заякоренную дендрограмму для 30 исследуемых популяций. В название каждой популяции внесены данные кластерного анализа в виде номера кластера, с которым соотнесена популяция (k1, k2, k3, k4). В кластер k1 «Африка»

ТАБЛИЦА 2. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РАССТОЯНИЯ ПО НЕЮ, РАССЧИТАННЫЕ ПО ЛОКУСУ MICA ДЛЯ 29 МИРОВЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПО ОТНОШЕНИЮ К ПОПУЛЯЦИИ РУССКИХ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

TABLE 2. GENETIC DISTANCES ACCORDING TO NEY, CALCULATED BY THE MICA LOCUS FOR 29 WORLD POPULATIONS IN RELATION TO THE POPULATION OF RUSSIANS OF THE CHELYABINSK REGION

Популяции Populations		**Генетические дистанции** Genetic distances	**Размер выборки** Sample size
Россия Челябинск Русские	k4 Russian Chelyabinsk	0,000000	100
США Кавказоиды 2	k4 USA Caucasian 2	0,012624	103
Словения	k4 Slovenia	0,027900	70
Великобритания Англия 2	k4 UK England 2	0,029167	118
Великобритания Англия 3	k4 UK England 3	0,046122	354
Великобритания Уэльс	k4 UK Wales	0,047513	166
Бразилия Смешанная 1	k2 Brazil Mixed 1	0,051788	201
Великобритания Англия 1	k4 UK England 1	0,052740	250
США Кавказоиды 1	k4 USA Caucasian 1	0,063906	242
Бразилия Смешанная 2	k2 Brazil Mixed 2	0,079068	200
Китай Синьцзян Уйгуры	k3 China Xinjiang Uygur	0,081710	66
Китай Шанхай Хан	k3 China Shanghai Han	0,086270	183
Испания Майорка	k2 Spain Majorca	0,088059	165
Япония 1	k3 Japan 1	0,105596	130
Испания Мурсия	k2 Spain Murcia	0,111500	154
США Афроамериканцы 1	k1 USA African American 1	0,115190	201
Китай Чжэцзян Хан	k3 China Zhejiang Han	0,121187	100
Турция	k2 Turkey	0,136522	65
Китай Баотоу Хан	k3 China Baotou Han	0,139499	104
Япония 3	k3 Japan 3	0,165574	114
Нигерия Эфик	k1 Nigeria Efik	0,177597	32
Тайланд Северо-Восток	k3 Thailand North East	0,232910	255
Марокко Металса	k2 Morocco Metalsa	0,237220	82
Бразилия Японцы	k3 Brazil Japanese	0,249517	190
Китай Чжанцзяцзе Туцзяс	k3 China Zhangjiajie Tujias	0,250285	187
Южная Корея Сеул	k3 South Korea Seoul	0,261462	139
США Афроамериканцы 2	k1 USA African American 2	0,282929	39
США Афроамериканцы 3	k1 USA African American 3	0,284461	60
Нигерия Игбо	k1 Nigeria Igbo	0,287913	46
Нигерия Йоруба	k1 Nigeria Yoruba	0,378857	74

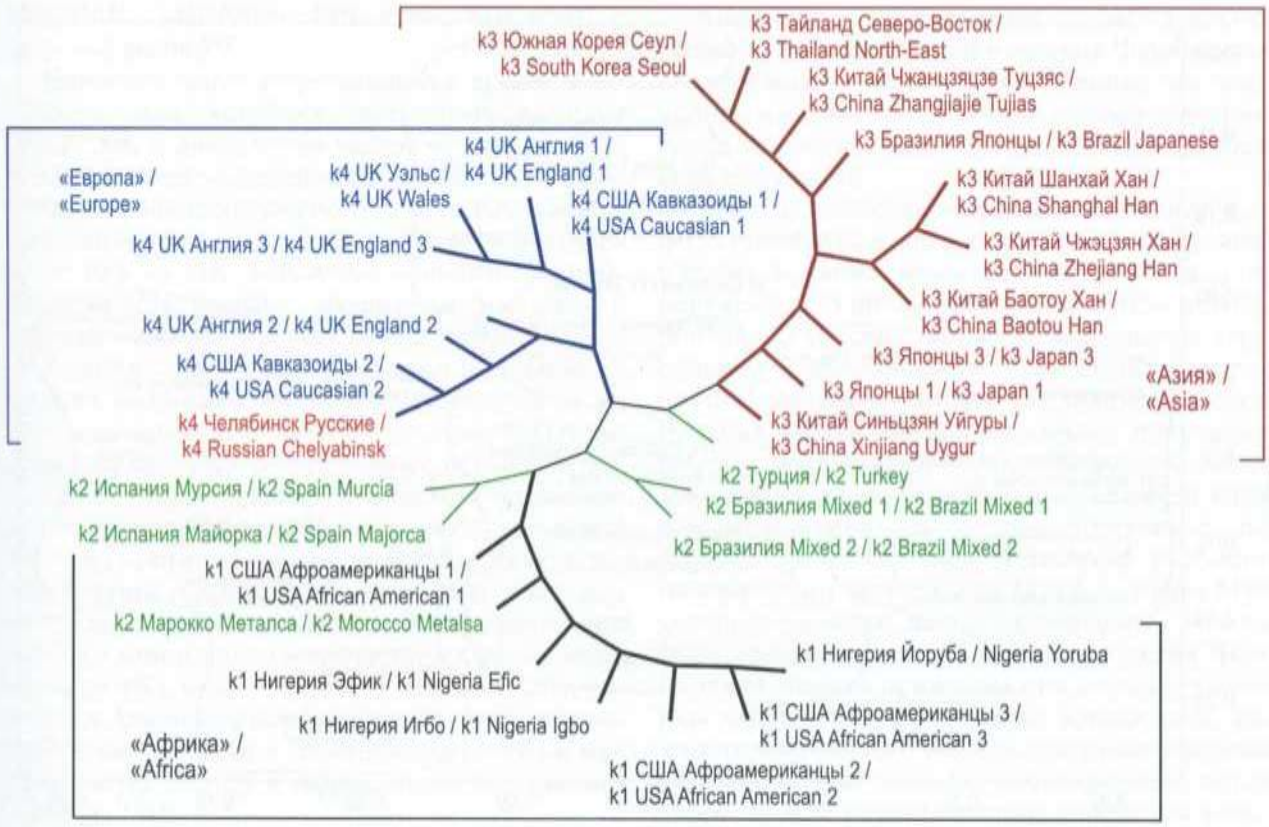


Рисунок 1. Дендрограмма на основании попарных генетических дистанций между популяцией русских Челябинской области и 29 мировыми популяциями

Figure 1. Dendrogram based on pairwise genetic distances between the population of Russians of the Chelyabinsk region and 29 world populations

попали все популяции Африканского происхождения, в кластер k3 «Азия» – Азиатские популяции, а в кластер k4 «Европа», популяции из Европы или европейского происхождения. Кластер k2 «Промежуточный» представлен популяциями сложного или промежуточного происхождения.

Таким образом, в результате проведения кластерного анализа на основании частот генов MICA, исследуемые популяции распределились практически в полном соответствии с регионом происхождения популяции.

На дендрограмме видно, что популяции каждого региона занимают отдельную ветвь дерева, вместе с представителями своего кластера. Популяция русских Челябинской области попадает в ветвь Европейских популяций, наряду со всеми популяциями, входящими в кластер «Европа». Ближайшей популяцией, имеющей наименьшее генетическое расстояние с популяций русских и занимающую соседнюю позицию на ветке дерева, является популяция США европейского происхождения.

График рассеяния методом многомерного шкалирования

Еще одним способом визуализации попарных генетических расстояний является построение графика рассеяния методом многомерного шкалирования (MDS). Данные многомерного шкалирования попарных генетических расстояний по частотам MICA 30-и исследованных популяций Европы, Азии и Африки, включая данные по популяции русских Челябинской области, с использованием результатов кластерного анализа представлены на рисунке 2.

Каждая точка на графике отражает популяцию, степень генетических отличий в профиле MICA между популяциями соответствует расстоянию между точками. Каждый кластер хорошо соотносится с географическим регионом происхождения исследуемых популяций и условно отмечен эллипсами (ареал).

На рисунке 2 видно, что популяции входящие, в основные кластеры, соотнесенные с регионом происхождения, визуально и пространственно отделены друг от друга и занимают отдельные

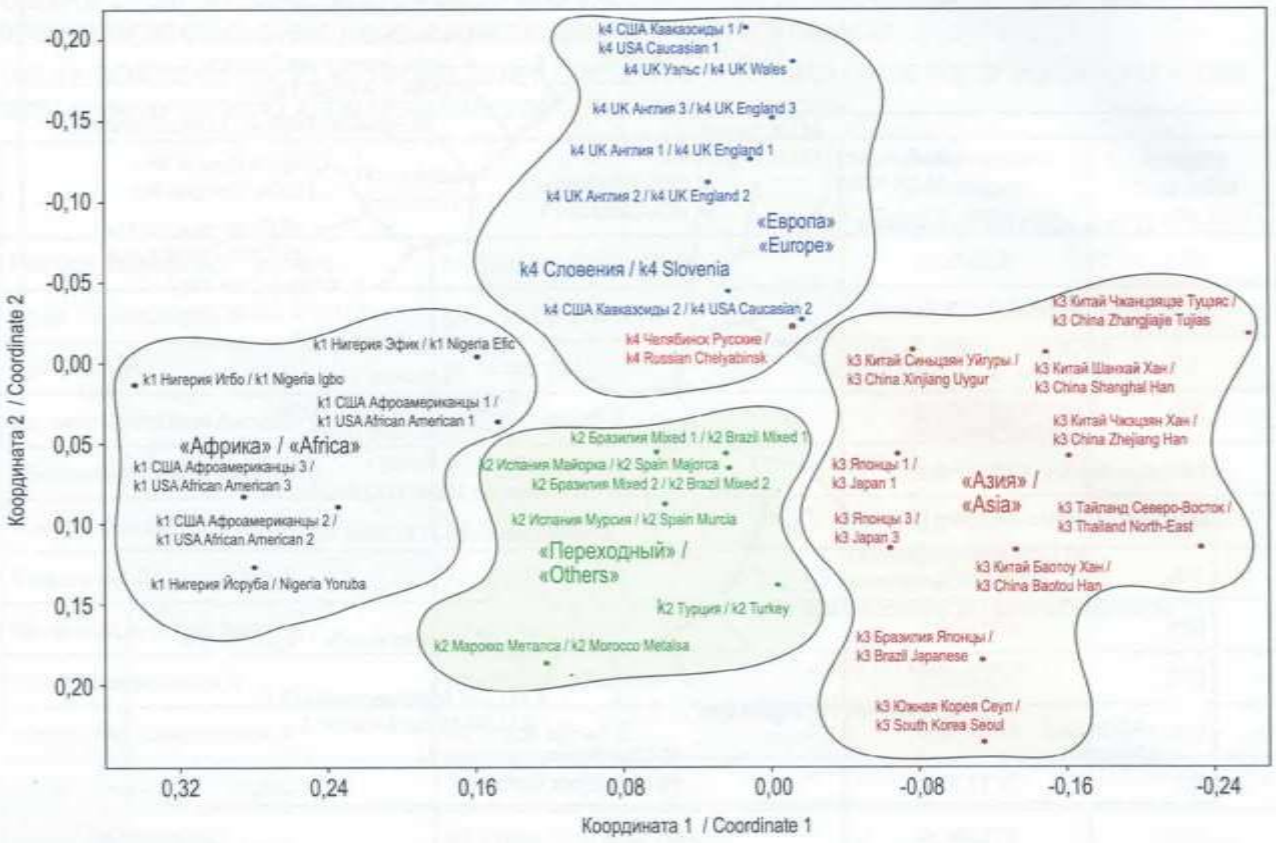


Рисунок 2. Многомерное шкалирование в двух измерениях на основании попарных генетических расстояний по частотам MICA 30 популяций (согласно частотам генов MICA www.allelefrequencies.net)

Примечание. Диаграмма построена в программе PAST (версия 2.17) на основе матрицы попарных генетических расстояний по частотам генов MICA, при помощи метода многомерного шкалирования по двум осям (MDS) и с привлечением результатов кластерного анализа. В качестве критерия оценки точности полученного графического изображения MDS использовали меру Stress value = 0,1587 (от 0,4 – низкий до 0,0 – идеальный).

Figure 2. Multidimensional scaling in two dimensions based on pairwise genetic distances by MICA frequencies of 30 populations (according to MICA gene frequencies www.allelefrequencies.net)

Note. The diagram was constructed in the PAST program (version 2.17) based on the matrix of pairwise genetic distances by the frequencies of the MICA genes, using the method of Multidimensional scaling (MDS) and using the results of cluster analysis. Stress value = 0.1587 (from 0.4, low to 0.0, ideal).

части диаграммы, которые соответствуют географическому расположению регионов на карте мира.

В группу «Азия» входят популяции, имеющие преимущественно азиатское происхождение, за исключением популяции уйгуров. Уйгуры, единственная популяция, попавшая в кластер «Азия», хотя и проживают на территории Китая, но среди Китайских народов, имеют происхождение наиболее близкое к европейцам.

В левом нижнем углу графика находится группа «Африка», в нее входят народы Нигерии (Эфик, Игбо, Йоруба) и жители США африканского происхождения.

Популяция русских Челябинской области расположена в непосредственной близости от популяций Европы (жители Словении, несколько популяций Англии и США). Близкое расположение европейских популяций в одной области графика указывает на их генетическую схожесть и позволяет предположить общее происхождение европейских народов.

Обсуждение

Анализ частот генов MIC в мировых популяциях позволяет выявить определенные закономерности в распределении аллельных вариантов MIC и обнаружить особенности распределения частот в популяциях различного этнического происхождения [17].

Для распределения частот генов MICA в большинстве мировых популяций характерно наличие аллельных вариантов MICA*008, MICA*002,

MICA*010, MICA*009, MICA*004, MICA*007 с частотой выше 5%.

Наиболее часто встречающимся среди практически всех мировых популяций является MICA*008, с диапазоном частот от 15% до 50%. С наибольшей частотой он представлен в Европейских и Африканских популяциях. В Азиатских популяциях его частота встречается в диапазоне от 10% до 35%. MICA*002 второй по распространенность вариант, максимума достигает в Африканских популяциях (27%), для остальных популяций характерен примерно одинаковый уровень в 15-18%. MICA*009:01 встречается во всех мировых популяциях в диапазоне 4-11% без ярко выраженных региональных особенностей. MICA*004 также представлен во всех популяциях, но с заметным преобладанием в Африканской (до 18%) против обычных для остальных популяций Европы и Азии (5-8%). MICA*007 наоборот более характерен для популяций Европы и Азии (4-5%) и минимально встречается в Африканских (меньше 1%). MICA*010 имеет максимальные частоты в Азиатских популяциях (18-19%), промежуточные значения в Европейских (7-9%) и минимальную частоту в Африканских популяциях (меньше 1%).

Остальные аллельные варианты, являются довольно редкими. Так MICA*006, MICA*009:02, MICA*011, MICA*016 встречаются в большинстве популяций с частотой меньше 1%, а MICA*001, MICA*015, MICA*019, MICA*030, MICA*041, MICA*045, MICA*047, встречаются в некоторых популяциях с частотой меньше 1% или не встречаются вообще.

Для распределения частот генов MICB характерно существенное превалирование частоты аллельного варианта MICB*005:02 во всех мировых популяциях: от 30-40% в европейских популяциях до 60%, преимущественно в азиатских популяциях. Следующими по распространенности аллельными вариантами MICB являются MICB*002 и MICB*004, которые присутствуют во всех популяциях в широком диапазоне частот от 10 до 25%. Аллельный вариант MICB*008 присутствует в популяциях с частотой от 6 до 12% в европейских популяциях и с частотой до 10% – в азиатских. MICB*003 присутствует практически во всех мировых популяциях с частотами от 1% до 5%, у европейцев он чаще обнаруживается в диапазоне 3-5%, а в азиатских популяциях – около 1%.

Аллельные варианты MICB*005:01, MICB*005:03, MICB*009N, MICB*013, MICB*014 в европейских популяциях либо встречаются с минимальными частотами меньше 1% либо отсутствуют, а у азиатских популяций MICB*009N и MICB*014 могут достигать 3-8%.

Анализируя распределение частот аллельных вариантов MICA и MICB у русских Челябинской области можно прийти к заключению, что полученные в нашем исследовании данные укладывается в закономерности характерные для европейских популяций.

В целом, сопоставляя результаты оценки профиля генов MIC в контексте мировых популяций с использованием различных методов, было обнаружено, что по частотам генов MICA и MICB популяция русских близка к популяциям европейского происхождения. Наименьшие генетические дистанции между популяцией русских Челябинской области и мировыми популяциями, рассмотренными нами, обнаружены между жителями Словении, а также населением США европейского происхождения. В результате построения дендрограммы и графика рассеяния на основании частот генов MICA методом MDS с использованием данных кластерного анализа было установлено, что популяция русских Челябинской области принадлежит к кластеру типичных европейских популяций. Кроме того, иммуногенетический профиль популяции русских Челябинской области по частотам генов, гаплотипов и силе неравновесного сцепления между аллелями классических локусов HLA (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1) подтверждает, что русские Челябинской области практически идентичны русским, проживающим в других регионах России, а также генетически близки популяциям, проживающим на территории Европы [17, 21, 22, 24].

Заключение

Таким образом, данные нашего исследования хорошо согласуются между собой, а также с данными предыдущих исследований касающихся частот генов локусов HLA в различных популяциях [2, 17, 21, 22, 24, 26]. Это указывают на генетическую близость популяции русских с остальными популяциями европейского происхождения и позволяют сделать вывод, что популяция русских Челябинской области, не являясь автохтонной популяцией Уральского региона, с точки зрения иммуногенетических маркеров является типичной европейской популяцией.

Хотя вопрос о причине аллельного разнообразия локусов MIC до сих пор остается открытым, нет сомнений, что полиморфизм данных генов может играть определенную роль в отторжении аллотрансплантата [5, 6, 7, 8, 13, 14, 15, 18], осложняя тем самым подбор доноров для пересадки органов и тканей. Совместимость пары донор-реципиент по MIC помогает осуществить более точный и специфический подбор доноров нуждающихся в пересадке стволовых клеток костного

мозга, снижая риск отторжения трансплантата по неклассическим локусам HLA [3, 15, 18, 23, 27].

Таким образом, информация о генетическом профиле популяций по локусам MIC может быть востребована при создании регистра потенциальных доноров стволовой клетки. Полученные данные могут служить группой сравнения для проведения научно-исследовальских работ по направлению «HLA и заболивания», выявляя маркеры предрасположенности к развитию аутоиммунных и инфекционных заболеваний [5, 6, 13, 23]. А так же данные о генетическом профиле локусов MIC в популяции русских могут быть применимы в популяционных иммуногенетических исследованиях для выяснения родства популяций [2, 17, 21, 22, 24, 26].

Список литературы / References

1. Всероссийская перепись населения 2010 года; Т. 4. Национальный состав и владение языками, гражданство, пункт 1, 4 2021 [Электоронный ресурс]. Режим доступа: https: //www.gks.ru/free_doc/new_site/perepis2010/croc/perepis_itogi1612.htm. (Дата обращения 22.03.2021). [All-Russian population census 2010, Vol. 4. Ethnic composition and language skills, citizenship, point 1, 4 2021. [Electronic resourse]. Access mode: https: //www.gks.ru/free_doc/new_site/perepis2010/croc/perepis_itogi1612.htm. (Date of application March 22, 2021)].

2. Abi-Rached L., Jobin M.J., Kulkarni S., McWhinnie A., Dalva K., Gragert L., Babrzadeh F., Gharizadeh B., Luo M., Plummer F.A., Kimani J., Carrington M., Middleton D., Rajalingam R., Beksac M., Marsh S.G.E., Maiers M., Guethlein L.A., Tavoularis S., Little A.M., Green R.E., Norman P.J., Parham P. The shaping of modern human immune systems by multiregional admixture with archaic humans. *Science, 2011, Vol. 334, pp. 9-94.*

3. Anderson E., Grzywacz B., Wang H., Wang T., Haagenson M., Spellman S., Blazar B.R., Miller J.S., Verneris M.R. Limited role of MHC class I chain-related gene a (MICA) typing in assessing graft-versus-host disease risk after fully human leukocyte antigen-matched unrelated donor transplantation. *Blood, 2009, Vol. 114, no. 21, pp. 4753-4754.*

4. Arlequin: An Integrated Software for Population Genetics Data Analysis [cmpg.unibe.ch]. Arlequin ver 3.5.2.2 [released on 02.08.2015; date of access March 2021]. Available at: http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/.

5. Bahram S. MIC genes: From genetics to biology. *Adv. Immunol., 2001, Vol. 76, no. 1995, pp. 1-60.*

6. Baranwal A.K., Mehra N.K. Major histocompatibility complex class I chain-related A (MICA) molecules: Relevance in solid organ transplantation. *Front. Immunol., 2017, Vol. 8, 182.* doi: 10.3389/fimmu.2017.00182.

7. Chen D., Gyllensten U. MICA polymorphism: biology and importance in cancer. *Carcinogenesis, 2014, Vol. 35, no. 12, pp. 2633-2642.*

8. Collins R.W.M. Human MHC class I chain related (MIC) genes: Their biological function and relevance to disease and transplantation. *Eur. J. Immunogenet., 2004, Vol. 31, no. 3, pp. 105-114.*

9. Elsner H.A., Schroeder M., Blasczyk R. The nucleotide diversity of MICA and MICB suggests the effect of overdominant selection. *Tissue Antigens, 2001, Vol. 58, no. 6, pp. 419-421.*

10. Excoffier L., Lischer H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour., 2010, Vol. 10, no. 3, pp. 564-567.*

11. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol. Electron., 2001, Vol. 4, no. 1, pp. 1-9.*

12. HLA Alleles Numbers [HLA.Alleles.org]. Nomenclature HLA; 2021 [Date of access March 2021]. Available at: http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html.

13. Isernhagen A., Malzahn D., Bickeböller H., Dressel R. Impact of the MICA-129Met/val dimorphism on NKG2D-mediated biological functions and disease risks. *Front. Immunol., 2016, Vol. 7, pp. 1-9.* doi: 10.3389/fimmu.2016.00588.

14. Li P., Morris D.L., Willcox B.E., Steinle A., Spies T., Strong R.K. Complex structure of the activating immunoreceptor NKG2D and its MHC class I-like ligand MICA. *Nat. Immunol., 2001, Vol. 2, no. 5, pp. 443-451.*

15. Luo L., Li Z., Wu W., Luo G., Xu C., Sun Z., Mei H. Role of MICA antibodies in solid organ transplantation. *Clin. Transplant., 2014, Vol. 28, no. 2, pp. 152-160.*

16. Marsh S.G.E., Albert E.D., Bodmer W.F., Bontrop R.E., Dupont B., Erlich H.A., Fernández-Viña M., Geraghty D.E., Holdsworth R., Hurley C.K., Lau M., Lee K.W., Mach B., Maiers M., Mayr W.R., Müller C.R., Parham P., Petersdorf E.W., Sasazuki T., Strominger J.L., Svejgaard A., Terasaki P.I., Tiercy J.M., Trowsdale J. Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens, 2010, Vol. 75, no. 4, pp. 291-455.*

17. MIC Allele Frequency Search [allelefrequencies.net]. Allele Frequency Net Database; [Date of access March 2021]. Available at: http://www.allelefrequencies.net/mic6001a.asp.

18. Parmar S., Del Lima M., Zou Y., Patah P.A., Liu P., Cano P., Rondon G., Pesoa S., de Padua Silva L., Qazilbash M.H., Hosing C., Popat U., Kebriaei P., Shpall E.J., Giralt S., Champlin R.E., Stastny P., Fernandez-

Vina M. Donor-recipient mismatches in MHC class I chain-related gene a in unrelated donor transplantation lead to increased incidence of acute graft-versus-host disease. *Blood, 2009, Vol. 114, no. 14, pp. 2884-2887.*

19. PHYLIP Phylogeny Inference [home.cc.umanitoba.ca]. PHYLIP Package Version 3.69 [updated on September 2009; date of access March 2021]. Available at: https://home.cc.umanitoba.ca/~psgendb/doc/Phylip/main.html.

20. Rees M.T., Downing J., Darke C. A typing system for the Major Histocompatibility Complex class I chain related genes A and B using polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Genet. Test., 2005, Vol. 9, no. 2, pp. 93-110.*

21. Riccio M.E., Buhler S., Nunes J.M., et al. 16th IHIW: Analysis of HLA Population Data, with updated results for 1996 to 2012 workshop data (AHPD project report). *Int. J. Immunogenet., 2013, Vol. 40, no. 1, pp. 21-30.*

22. Sanchez-Mazas A., Fernandez-Viña M., Middleton D., Hollenbach J.A., Buhler S., Di D., Rajalingam R., Dugoujon J.M., Mack S.J., Thorsby E. Immunogenetics as a tool in anthropological studies. *Immunology, 2011, Vol. 133, no. 2, pp. 143-164.*

23. Stastny P. Introduction: MICA/MICB in Innate Immunity, Adaptive Immunity, Autoimmunity, Cancer, and in the immune response to transplants. *Hum. Immunol., 2006, Vol. 67, no. 3, pp. 141-144.*

24. Suslova T.A., Burmistrova A.L., Chernova M.S., Khromova E.B., Lupar E.I., Timofeeva S.V., Devald I.V., Vavilov M.N., Darke C. HLA gene and haplotype frequencies in Russians, Bashkirs and Tatars, living in the Chelyabinsk Region (Russian South Urals). Int. J. *Immunogenet., 2012, Vol. 39, no. 5, pp. 394-408.*

25. Terasaki P.I., editor. Histocompatibility testing 1980: report of the Eighth International Histocompatibility Workshop held in Los Angeles February 4-6. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory, 1980. 1227 p.

26. Vina M.A.F., Hollenbach J.A., Lyke K.E., Sztein M.B., Maiers M.,Klitz W., Cano P., Mack S., Single R., Brautbar C., Israel S., Raimondi E., Khoriaty E., Inati A., Andreani M., Testi M., Moraes M.E., Thomson G., Stastny P., Cao K. Tracking human migrations by the analysis of the distribution of HLA alleles, lineages and haplotypes in closed and open populations. *Philos. Trans. R Soc. B Biol. Sci., 2012, Vol. 367, no. 1590, pp. 820-829.*

27. Warren E.H., Zhang X.C., Li S., Fan W., Storer B.E., Chien J.W., Boeckh M.J., Zhao L.P., Martin P.J., Hansen J.A. Effect of MHC and non-MHC donor/recipient genetic disparity on the outcome of allogeneic HCT. *Blood, 2012, Vol. 120, no. 14, pp. 2796-2806.*

Авторы:

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

Вавилов М.Н. *– аспирант кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»; биолог лаборатории иммунологических исследований ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», г. Челябинск, Россия*

Authors:

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

Vavilov M.N., *Postgraduate Student, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University; Biologist, Laboratory of Immunological Studies, Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation*

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

Суслова Т.А. *– к.м.н., доцент, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»; заведующая лабораторией иммунологических исследований ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», г. Челябинск, Россия*

Stashkevich D.S., *PhD (Biology), Associate Professor, Dean, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation*

Suslova T.A., *PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University; Head, Laboratory of Immunological Studies, Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russian Federation*

Поступила 02.04.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 02.04.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 53-68
© 2022, СПб РО РААКИ

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 53-68
© 2022, SPb RAACI

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ HLA У ПАЦИЕНТОВ, СОСТОЯЩИХ В ЛИСТЕ ОЖИДАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Корженевский А.А., Корженевская Н.П.

ГБУЗ «Республиканская клиническая больница имени Г.Г. Куватова», г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия

Резюме. Целью исследования явилось выявление особенностей системы HLA у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки в Республике Башкортостан. Исследование фенотипа HLA-A, HLA-B и HLA-DR проводили методом полимеразной цепной реакции с использованием наборов PROTRANS и OLERUP SSP. Частоту встречаемости антигена определяли как процентное отношение индивидов, имеющих данный антиген, к общему числу обследованных. Для определения закономерностей выявления антигенов в составе различных сочетаний HLA определяли максимальное значение в процентном выражении частоты встречаемости данного антигена в составе с другими HLA. Наибольшее количество пациентов из листа ожидания страдало хроническим гломерулонефритом, затем – сахарным диабетом, хроническим интерстициальным нефритом, хроническим пиелонефритом и поликистозом почек. Установлена частота встречаемости различных HLA и их сочетаний как среди всех пациентов, страдающих хронической болезнью почек 5 стадии, так и среди пациентов в разрезе каждой нозологической группы; установлены закономерности выявления различных сочетаний HLA. Полученные данные сравнивались с результатами исследования пациентов из листов ожидания трансплантации органов других регионов. Наиболее часто у пациентов с хронической болезнью почек выявлялись HLA-A02 (как и в Бразилии, Великобритании), -DR07, -DR04 (как и в Непале, европейской популяции Казахстана, Южном Китае), -A24 (как и в Непале, Южном Китае) и сочетания HLA-A02-A03, HLA-A02-DR04, HLA-A02-DR01, HLA-A02-B07, HLA-A03-DR01, HLA-B35-DR01, выявление которых может рассматриваться как проявление риска развития тяжелой формы нефропатии. С минимальной частотой встречались HLA-B15, HLA-B40, HLA-A30, HLA-A32, HLA-B56, HLA-B60, HLA-DR10; и следующие сочетания: HLA-A01-A24-B08-DR17, HLA-A01-A68-DR07, HLA-A24-B07-B13, HLA-A01-B08-B13, HLA-A02-B35-B38-DR01, HLA-A02-B50-B61-DR07, HLA-A01-B55-DR04, HLA-A02-B55-DR03, HLA-A24-B55-DR13, HLA-A01-A02-B08-DR03, HLA-A02-DR01-DR13. Для наших пациентов было не характерно наличие следующих антигенов: HLA-A28 (как в Кувейте); редко встречались HLA-A11, HLA-A23, HLA-A28, HLA-A33, HLA-B46, HLA-B62; HLA-DR03, HLA-DR14 (как в Казахстане); не встречались HLA-A19, HLA-A43, HLA-B16, HLA-B21, HLA-B22, HLA-B83 и HLA-DR05 (как в Великобритании); HLA-B14 (как в Бразилии). Было установлено как созвучие, так и расхождения полученных результатов с литературными данными как в плане наиболее часто встречающихся HLA,

Адрес для переписки:

*Корженевский Алексей Арнольдович
ГБУЗ «Республиканская клиническая больница имени Г.Г. Куватова»
450005, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Достоевского, 109, кв. 19.
Тел.: 8 (919) 619-85-60.
E-mail: koral@ufanet.ru*

Address for correspondence:

*Korzhenevsky Alexey A.
G. Kuvatov Republican Clinical Hospital
450005, Russia, Republic of Bashkortostan, Ufa, Dostoevsky str., 109, apt 19.
Phone: 7 (919) 619-85-60.
E-mail: koral@ufanet.ru*

Образец цитирования:

*А.А. Корженевский, Н.П. Корженевская «Особенности системы HLA у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки в Республике Башкортостан» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 53-68.
doi: 10.15789/1563-0625-HSF-2367*

© Корженевский А.А., Корженевская Н.П., 2022

For citation:

*A.A. Korzhenevsky, N.P. Korzhenevskaya "HLA system features in patients on waiting list for kidney transplantation in the Republic of Bashkortostan", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 53-68.
doi: 10.15789/1563-0625-HSF-2367*

DOI: 10.15789/1563-0625-HSF-2367

так и их сочетаний при том или ином генезе нефропатии. Выявленные различия можно объяснить наличием популяционных особенностей в системе HLA у пациентов, принадлежащим различным этническим группам, так и проживающих на разных географических территориях. Обнаруженные устойчивые ассоциативные связи между заболеваниями и HLA могут способствовать лучшему пониманию патогенеза заболеваний, их раннему доклиническому выявлению, уточнению риска развития патологических состояний, что позволит своевременно обосновывать назначение профилактических мероприятий.

Ключевые слова: трансплантация, гломерулонефрит, пиелонефрит, диабет, поликистоз, антигены

HLA SYSTEM FEATURES IN PATIENTS ON WAITING LIST FOR KIDNEY TRANSPLANTATION IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

Korzhenevsky A.A., Korzhenevskaya N.P.

G. Kuvatov Republican Clinical Hospital, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation

Abstract. The aim of our study was to specify the features of the HLA system in patients registered on the waiting list for kidney transplantation in the Republic of Bashkortostan. HLA-A, HLA-B, and HLA-DR phenotypes were assayed by polymerase chain reaction using PROTRANS and OLERUP SSP kits. The frequency of antigen occurence was determined as the percentage of individuals with the given antigen to the total number of examined individuals. To determine the patterns of distinct antigens within various HLA combinations, we determined maximal percentage of the antigen frequency in combination with other HLA. The largest number of patients on the waiting list suffered from chronic glomerulonephritis, followed by diabetes mellitus, chronic interstitial nephritis, chronic pyelonephritis and polycystic kidney disease. The occurrence frequency of various HLA and their combinations was established both among all the patients suffering from stage 5 chronic kidney disease, and among patients with regard to each nosological category, and the patterns of various HLA combinations were established. The data obtained have been compared with the study results of patients from the waiting lists for organ transplantation in other regions. HLA-A02 (similar to Brazil, Great Britain), HLA-DR07, HLA-DR04 (like as in Nepal, European population of Kazakhstan, Southern China), HLA-A24 (as in Nepal, Southern China), and combinations of HLA-A02-A03, HLA-A02-DR04, HLA-A02-DR01, HLA-A02-B07, HLA-A03-DR01, HLA-B35-DR01 were most common in the patients with chronic kidney disease which can be considered as risk factor for severe nephropathy. HLA-B15, HLA-B40, HLA-A30, HLA-A32, HLA-B56, HLA-B60, HLA-DR10 were found at minimal frequency; as well as the following combinations: HLA-A01-A24-B08-DR17, HLA-A01-A68-DR07, HLA-A24-B07-B13, HLA-A01-B08-B13, HLA-A02-B35-B38-DR01, HLA-A02-B50-B61-DR07, HLA-A01-B55-DR04, HLA-A02-B55-DR03, HLA-A24-B55-DR13, HLA-A01-A02-B08-DR03, HLA-A02-DR01-DR13. The following antigens were absent among our patients: HLA-A28 (similar to Kuwait); HLA-A11, HLA-A23, HLA-A28, HLA-A33, HLA-B46, HLA-B62;- DR03, HLA-DR14 (as in Kazakhstan); HLA-A19, HLA-A43, HLA-B16, HLA-B21, HLA-B22, HLA-B83 and HLA-DR05 (as in Great Britain); HLA-B14 (as in Brazil). The results obtained were either similar, or different from the literature data, both in terms of the most common HLA and their combinations with regard of special nephropathy types. The revealed differences can be explained by presence of population-specifical HLA features in the patients from different ethnic groups and living in different geographical areas. The found stable associative links between the disorders and HLA may contribute to better understanding of pathogenesis of the disorders, their early preclinical detection, evaluating risk for development of pathological conditions, thus allowing timely justification of preventive measures.

Keywords: transplantation, kidney, glomerulonephritis, pyelonephritis, diabetes, polycystic disease, HLA-antigens

Введение

Целью исследования явилось выявление особенностей системы HLA у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки в Республике Башкортостан (РБ). Для этого были решены следующие задачи: определен нозологический состав пациентов; установлена частота встречаемости различных антигенов (АГ) системы HLA и их сочетаний как среди всех пациентов, страдающих хронической болезнью почек (ХБП) 5 стадии, так и среди пациентов в разрезе каждой нозологической группы; установлены закономерности выявления сочетаний АГ среди HLA. Полученные данные сравнивались с результатами исследования пациентов из листов ожидания других регионов.

В мире наблюдается неуклонный рост количества больных, страдающих ХБП. С одной стороны, это связано с распространенностью заболеваний, которые сами приводят к формированию ХБП (хронический пиелонефрит, артериальная гипертензия, системные заболевания, сахарный диабет), с другой – с ростом числа пациентов, изначально страдающих патологией почек. Рост распространенности ХБП в мире обусловлен также такими факторами, как старение населения и увеличение продолжительности жизни больных с ХБП, общим ростом заболеваемости [2]. Считается, что ХБП страдает порядка 10% населения земного шара. С другой стороны, ХБП является независимым фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, которые выступают причиной смертности пациентов с ХБП в 10-20 раз чаще, чем в целом по популяции [27].

Трансплантация почки является эффективным и радикальным способом замещения отсутствующей функции почек. Трансплантация почки позволяет не только улучшить качество жизни пациента, но и обеспечивает ее наибольшую продолжительность [4, 30]. Обеспеченность населения заместительной почечной терапией в РФ ежегодно растет на 7-14% [5]. Число больных, внесенных в лист ожидания и ожидающих трансплантации почки, ежегодно увеличивается [8, 26, 43].

Каждый год в РФ на 150 млн жителей регистрируются 45-210 детей с ХБП. В РБ на 1 млн жителей выявляются 150 больных ХБП, нуждающихся в программном гемодиализе и трансплантации почки [29]. На 2019 г. на заместительной почечной терапии в РБ находится более 1200 человек [39].

Значительную долю из числа этих пациентов, получающих заместительную почечную терапию, составляют лица, страдающие иммуногенетически обусловленными заболеваниями, такими как аномалии развития почек, хронический гломерулонефрит (ХГН), а также пациенты с диабетической нефропатией (ДН) [36, 47].

В настоящее время доказано существование тесной взаимосвязи системы HLA с рядом заболеваний, а также целесообразность их оценки для использования в качестве предикторов развития той или иной патологии или ее осложнений [33]. Гены HLA и их продукты обеспечивают контроль иммунного ответа. Нарушение их функционирования является основой развития целого ряда патологических состояний, такие как аутоиммунные, онкологические заболевания, склонность к инфекциям, а также нарушения различных этапов репродуктивной функции [31]. Таким образом, иммунная система через свои гены определяет как уровень устойчивости, так и восприимчивости макроорганизма и к негативным факторам внешней среды. Изучение генов HLA-системы создает основу как для развития трансплантологии, так и изучения ассоциаций генов HLA-системы с различными патологическими состояниями. Причем установлено, что данные ассоциации могут характеризоваться этническими особенностями [17]. Популяционные исследования разнообразия полиморфизма в системе HLA позволили исследователям установить, что взаимосвязь заболеваний с различными аллельными вариантами генов HLA может напрямую зависеть от этнического и расового состава изучаемой группы [31].

Наличие генетической предрасположенности к развитию почечной недостаточности подтверждается более высокой вероятностью развития (в 3-9 раз) терминальной почечной недостаточности у пациентов, имеющих семейную историю ХБП, по сравнению с общей популяцией [39].

Так, например, при изучении иммуногенетических параметров выявлена связь развития мегауретера с наличием определенных АГ: HLA-A02, HLA-A03, HLA-B08, HLA-B13, HLA-B17. Выявление данных иммуногенетических признаков в фенотипе индивидуумов повышают риск развития данной патологии в 2,1-8,5 раза [19, 32]. Некоторые авторы считают, что для пациентов с врожденными обструктивными уропатиями характерна положительная ассоциативная связь заболевания с HLA-B08 и гаплотипическими комбинациями HLA-A2-B17 и HLA-A3-B13. Носительство указанных иммуногенетических маркеров способствует увеличению риска развития обструктивных уропатий в 2,1-8,5 раза. Резистентностью к развитию данной патологии обладают индивидуумы с антигенами HLA-DR07, HLA-DQ-0302, HLA-DR15(02), фенотипами HLA-A09-A11, HLA-A01-A09, и гаплотипическими сочетаниями HLA-A03-B07, HLA-A19-B27,

HLA-A11-B35. Для больных обструктивным пиелонефритом установлена достоверная положительная ассоциативная связь заболевания с комбинацией антигенов HLA-A11-B17. Носительство этого иммуногенетического маркера сопровождается увеличением риска развития заболевания в 2,7 раза. Резистентностью к развитию данного заболевания обладают индивидуумы с антигенами HLA-DR09, HLA-DR07, HLA-DR15(02), фенотипом HLA-A09-A11 и гаплотипическими сочетаниями HLA-A03-B07, HLA-A02-B12, HLA-A11-B35. У пациентов с врожденным гидронефрозом установлено наличие достоверной положительной ассоциативной связи заболевания с выявлением у пациентов антигенов HLA-17(03), HLA-B08, фенотипической комбинации антигенов HLA-B8-35 и гаплотипических комбинаций HLA-A02-B17, HLA-A01-B27, HLA-A02-B35. Носительство этих иммуногенетических маркеров увеличивало риск развития заболевания в 2,3-9,2 раза. Выявлена резистентность к развитию данной патологии у лиц, обладающих антигенами HLA-DQ-302 и HLA-A11, фенотипическими сочетаниями антигенов HLA-A02-A09, HLA-A09-A11, гаплотипическими комбинациями HLA-A02-B12, HLA-A02-B07. В ходе исследования была выявлена достоверная положительная ассоциативная связь с определенными иммуногенетическими маркерами и в группе больных, страдающих пиелоэктазией. Так, носительство антигена HLA-B08 и гаплотипических комбинаций HLA-A01-B05 и HLA-A02-B17 увеличивало риск развития этой патологии в 3,8-21,9 раз. Резистентностью к развитию данной патологии обладают индивидуумы с антигенами HLA-DR11(05) и HLA-DR01 и гаплотипической комбинацией антигенов HLA-A03-B07 [20].

Авторы, исследовавшие HLA систему у детей с различными вариантами течения нефротического синдрома, выявили, что для стероидчувствительного нефротического синдрома характерны фенотипы HLA-B12, HLA-DR02 или HLA-DR05, а для стероидрезистентного нефротического синдрома – фенотип HLA-DR07 [13, 28].

Материалы и методы

Исследование фенотипа АГ I (HLA-A, HLA-B) и II (HLA-DR) классов проводили методом полимеразной цепной реакции с использованием наборов PROTRANS и OLERUP SSP (Германия). В качестве исследуемого материала использовали образы цельной крови.

Частоту встречаемости антигена определяли как процентное отношение индивидов, имеющих данный антиген, к общему числу обследованных.

Для определения закономерностей выявления АГ в составе различных сочетаний HLA определяли максимальное значение в процентном выражении частоты встречаемости данного антигена в составе с другими HLA. Данный показатель позволял выявить в сочетании с какими HLA данный АГ в исследуемой нозологической группе встречается наиболее часто.

Статистический анализ проводился с использованием программы Microsoft Office Excel 2007.

Результаты

В работе проведен анализ результатов исследований 162 пациентов, страдающих ХБП 5 стадии, и состоящих в листе ожидания трансплантации почки в РБ (в Республиканской клинической больнице им. Г.Г. Куватова в г. Уфа) в июле 2020 г. Из них женщин и мужчин состояло поровну – по 81 человеку. Возраст пациентов – 45,72±12,01 лет. Из них 152 (93,82%) пациента находилось на программной гемодиализе, 10 (6,17%) – додиализных пациентов.

Наибольшее количество пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки в РБ, страдало ХГН – 70 пациентов (43,2%), сахарным диабетом (СД) с ДН – 29 пациентов (17,9%), хроническим интерстициальным нефритом (ХИН) – 19 пациентов (11,7%), хроническим пиелонефритом (ХПН) – 17 пациентов (10,4%), поликистозом почек (ПК) – 15 пациентов (9,3%). Причиной ДН у 23 пациентов (79,31%) был СД 1 типа (СД1), у 6 пациентов (20,69%) – СД 2 типа (СД2). Редко, по 1 пациенту (0,62%), встречались пациенты, страдающие подагрической нефропатией и синдромом Альпорта.

Нами были проанализированы особенности системы HLA у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки в РБ. Так, наиболее часто выявлялись следующие антигены: HLA-A02 – 87 случаев (53,7%), HLA-DR07 и HLA-DR04 – по 47 случаев (29,01%) соответственно; HLA-A24 – 39 случаев (24,07%), HLA-A01 – 38 случаев (23,46%), HLA-A03 – 37 случаев (22,84%), HLA-B35 и HLA-DR01 – по 32 случая (19,75%) соответственно. С минимальной частотой встречались следующие антигены: HLA-B15 – 3 пациент (1,85%), HLA-B40 – 4 пациента (2,47%), HLA-A30, HLA-A32, HLA-B56, HLA-B60, HLA-DR10 – по 5 пациентов (3,08%) соответственно; HLA-A23, HLA-A29, HLA-A31, HLA-A33, HLA-B37, HLA-B39, HLA-B55, HLA-B57, HLA-B58, HLA-B61 – по 7 пациентов (4,32%) соответственно.

Среди пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто встречались следующие сочетания антигенов:

HLA-A02-A03 – 19 (11,73%); HLA-A02-DR04 – 18 (11,11%); HLA-A02-DR01 – 17 (10,49%); HLA-A02-B07 – 16 (9,88%); HLA-B35-DR01 и HLA-A03-DR01 – по 15 случаев (9,26%) соответственно; HLA-A02-DR17 и HLA-A01-B08 – по 14 случаев (8,64%) соответственно; HLA-A02-B13, HLA-A01-DR04 и HLA-B08-DR17 – по 12 случаев (7,41%) соответственно; HLA-A02-B18, HLA-B07-DR15 и HLA-A03-B35-DR01 – по 11 случаев (6,79%) соответственно. У данной группы пациентов наиболее редко встречались следующие сочетания антигенов: HLA-A01-A24-B08-DR17, HLA-A01-A68-DR07, HLA-A24-B07-B13, HLA-A01-B08-B13, HLA-A02-B35-B38-DR01, HLA-A02-B50-B61-DR07, HLA-A01-B55-DR04, HLA-A02-B55-DR03, HLA-A24-B55-DR13, HLA-A01-A02-B08-DR03, HLA-A02-DR01-DR13 – по 2 случая (1,23%) соответственно.

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний антигенов у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки. Так, было установлено, что HLA-B15 встречался у 3 пациентов и всегда в ассоциации с HLA-A02; HLA-B60 – у 5 пациентов и всегда в сочетании с HLA-A02, HLA-A29 – у 7 пациентов и всегда в сочетании с HLA-DR04; HLA-B50 – у 10 пациентов, при этом у 80% пациентов – в сочетании с HLA-A02.

Представляет интерес выявление закономерностей распределения HLA не только в группе среди всех пациентов с ХБП, но и с учетом нозологии заболевания. Так, среди пациентов, страдающих ХГН и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие антигены: HLA-A02 – 37 случаев (52,86%); HLA-DR07 – 22 случая (31,43%); HLA-DR01 – 18 случаев (25,71%); HLA-A01 и HLA-DR13 – по 15 случаев (21,43%) соответственно; HLA-A03, HLA-B35 и HLA-DR04 – по 14 случаев (20,00%) соответственно. Наименее часто встречались следующие антигены: HLA-A10 и HLA-DR03 – по 2 случая (2,86%) соответственно; HLA-A23, HLA-A29, HLA-A31, HLA-A33, HLA-B41 и HLA-DR10 – по 3 случая (4,29%) соответственно.

Среди пациентов, страдающих ХГН и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие сочетания антигенов: HLA-A02-DR07 – 15 случаев (21,43%), HLA-A02-DR01 – 10 случаев (14,29%), HLA-A02-B35 – 9 случаев (12,86%) и HLA-B35-DR01 – 7 случаев (10,%). У данной группы пациентов наименее часто встречались следующие сочетания антигенов: HLA-A01-A24-B51-DR14, HLA-A01-A68-DR07, HLA-A01-A24-B51, HLA-A02-A03-B35-B38-DR01, HLA-A02-A68-DR14, HLA-A01-B37 и HLA-A02-B37 – по 2 случая (2,86%) соответственно. У этой группы пациентов были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний. Так, было установлено, что у пациентов, страдающих ХГН, HLA-B62 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75% случаях) – в ассоциации с HLA-DR04; HLA-DR07 встречался у 22 пациентов и у 15 из них (в 68,18% случаях) – в ассоциации с HLA-A02; HLA-B07 встречался у 9 пациентов и у 6 из них (в 66,67% случаях) – в ассоциации с HLA-A02; HLA-DR09 встречался у 8 пациентов и у 5 из них (в 62,50% случаях) – в ассоциации с HLA-A02; HLA-DR01 встречался у 18 пациентов и у 10 из них (в 55,56% случаях) – в ассоциации с HLA-A02.

Среди пациентов, страдающих ХПН и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие антигены: HLA-A02 – 12 случаев (70,59%); HLA-DR11 – 7 случаев (41,18%); HLA-DR07 – 6 случаев (35,29%); и наименее часто выявлялись HLA-A10, HLA-A23, HLA-A68, HLA-B27, HLA-B37, HLA-B41, HLA-B45, HLA-B48, HLA-B49, HLA-B51, HLA-B55, HLA-B56, HLA-B63, HLA-DR03, – DR04 и HLA-DR10 – по 1 случаю (5,88%) соответственно.

Среди пациентов, страдающих ХПН и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие сочетания антигенов: HLA-A02-DR07 – 6 случаев (35,29%); HLA-A02-DR11 и HLA-A02-DR11 – по 5 случаев (29,41%) соответственно; и наименее часто встречались следующие сочетания антигенов – HLA-A01-B08-DR17 и HLA-A02-A03-B35-DR01 – по 2 случая (11,76%) соответственно.

В этой группе пациентов были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний антигенов. Так, было установлено, что у пациентов, страдающих ХПН, HLA-A25 встречался у 3 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-DR15; HLA-B13 встречался у 3 пациентов и у каждого их них он выявлялся одновременно с HLA-A02 и HLA-DR07; HLA-B35 встречался у 3 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-A03; HLA-DR07 встречался у 6 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-A02; HLA-B08 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75% случаях) – в ассоциации с HLA-DR17; HLA-B18 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75% случаях) – в ассоциации с HLA-A02; HLA-B18 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75% случаях) – в ассоциации с HLA-DR17; HLA-DR17 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75% случаях) – в ассоциации с HLA-A02; HLA-DR17 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75% случаях) – в ассоциации

с HLA-B08; HLA-DR17 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75% случаях) – в ассоциации с HLA-B18.

Среди пациентов, страдающих СД1 и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие антигены: HLA-DR04 – 17 пациентов (73,91%), HLA-A02 – 12 пациентов (52,17%), HLA-A24 и HLA-DR17 – по 8 пациентов (34,78%) соответственно, HLA-B07 – 5 пациентов (21,74%); и наименее часто встречались: HLA-A11, HLA-A26, HLA-A30, HLA-A31, HLA-A41, HLA-210, HLA-B15, HLA-B27, HLA-B37, HLA-B38, HLA-B39, HLA-B49, HLA-B50, HLA-B52, HLA-B55, HLA-B61, HLA-B64, HLA-DR09, – DR10, – DR12 и – DR15 – по 1 пациенту (4,35%) соответственно.

Среди пациентов с СД1, находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие сочетания антигенов: HLA-A02-DR04 – 9 пациентов (39,13%), HLA-A24-DR04 – 7 пациентов (30,43%), HLA-DR04-DR17 – 5 пациентов (21,74%); и наименее часто: HLA-A03-DR04, HLA-A24-B08-DR04, HLA-A25-B18, HLA-A02-B07, HLA-A24-B07, HLA-B18-DR04, HLA-B35-DR04, HLA-A02-DR04-DR17 и HLA-B08-DR04-DR17 – по 3 пациента (13,04%) соответственно.

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний антигенов у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки с СД1. Так, было установлено, что у пациентов, страдающих СД1, HLA-A01 встречался у 4 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-DR04; HLA-A03 встречался у 3 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с –DR04; HLA-A25 встречался у 3 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-B18; HLA-B08 встречался у 3 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с –DR04 и HLA-DR17; HLA-A24 встречался у 8 пациентов и у 7 из них (в 87,5% случаях) он выявлялся одновременно с HLA-DR04; HLA-B07 встречался у 5 пациентов и у 4 из них (в 80,0% случаях) он выявлялся одновременно с HLA-DR04.

Среди пациентов с СД2, находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие антигены: HLA-A24 – 5 пациентов (83,33%), HLA-DR07 – 4 пациента (66,67%); и наименее часто: HLA-A01, HLA-A03, HLA-B07, HLA-B08, HLA-B40, HLA-B44, HLA-B50, HLA-B51, HLA-B55, HLA-DR01, HLA-DR04, HLA-DR08, HLA-DR14, HLA-DR15, HLA-DR17 – по 1 пациенту (16,67%).

Среди пациентов с СД2, находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие сочетания антигенов: HLA-A24-DR07 – 3 пациента (50,0%); и наименее часто: HLA-A24-A26, HLA-A24-B13, HLA-A24-DR13 и HLA-A24-B62 – по 2 пациента (33,33%) соответственно.

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний антигенов у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки с СД2. Так, было установлено, что у пациентов, страдающих СД2, HLA-B13 встречался у 2 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-A24; HLA-B62 встречался у 2 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-A24; HLA-DR07 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75% случаях) он выявлялся одновременно с HLA-A24.

Так, среди пациентов, страдающих ПК почек и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие антигены: HLA-A02 – 8 случаев (53,33%); HLA-A03 – 6 случаев (40,0%); HLA-A01, HLA-A24 и HLA-DR04 – по 5 случаев (33,33%) соответственно. При ПК почек с минимальной частотой встречались следующие антигены: HLA-A11, HLA-A25, HLA-A26, HLA-A31, HLA-A33, HLA-B27, HLA-B38, HLA-B51, HLA-B56, HLA-B57, HLA-B58, HLA-B60, HLA-DR14 и – DR16 – по 1 пациенту (6,67%) соответственно.

Среди пациентов, страдающих ПК почек и находяшихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие сочетания антигенов: HLA-A01-B08 и HLA-A03-DR01 – по 4 случая (26,67%) соответственно; и наименее часто следующие сочетания антигенов: HLA-A01-A24-B08, HLA-A01-B08-DR17, HLA-A03-B35-DR01 – по 2 случая (13,33%) соответственно.

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний антигенов у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки с ПК. Так, было установлено, что у пациентов, страдающих ПК, HLA-B08 встречался у 4 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-A01; HLA-B35 встречался у 3 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-DR01; HLA-DR01 встречался у 4 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-A03; HLA-A01 встречался у 5 пациентов и у 4 из них (в 80,0% случаях) он выявлялся одновременно с HLA-B08; HLA-DR01 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75,0% случаях) он выявлялся одновременно с HLA-B35; HLA-DR07 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75,0% случаях) он выявлялся одновременно с HLA-A01.

Среди пациентов, страдающих ХИН и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие антигены: HLA-A02 – 11 случаев (57,89%); HLA-B35 и HLA-DR15 – по 7 случаев (36,84%) соответственно; HLA-A01 и HLA-DR07 – по 6 случаев (31,58%) соответственно; HLA-A03 и HLA-B07 – по 5 случаев (26,32%) соответственно. При ХИН с минимальной частотой встречались следующие антигены: – HLA-A26, HLA-A30, HLA-A68, HLA-B08, HLA-B13, HLA-B37, HLA-B50, HLA-B55, HLA-B57, HLA-DR03 и HLA-DR17 – по 1 пациенту (5,26%) соответственно.

Среди пациентов, страдающих ХИН и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись следующие сочетания антигенов: HLA-A02-B35 – 5 случаев (26,32%); HLA-A02-A03, HLA-A02-DR14, HLA-A02-B07 и HLA-B35-DR07 – по 4 случая (21,05%) соответственно; и наименее часто встречались следующие сочетания антигенов: HLA-A01-DR11-DR15, HLA-A02-B07-DR11, HLA-A02-B35-B61-DR14 и HLA-A02-A24-DR14 по 2 случая (10,53%) соответственно, HLA-A01-DR04, HLA-A01-DR15 и HLA-A02-B61 – по 3 случая (15,79%) соответственно.

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний антигенов у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки с ХИН. Так, было установлено, что HLA-DR14 встречался у 4 пациентов и у каждого из них он выявлялся одновременно с HLA-A02; HLA-A03 встречался у 5 пациентов и у 4 из них (в 80,0% случаях) он выявлялся одновременно с HLA-A02; HLA-B07 встречался у 5 пациентов и у 4 из них (в 80,0% случаях) он выявлялся одновременно с HLA-A02; HLA-DR04 встречался у 4 пациентов и у 3 из них (в 75,0% случаях) он выявлялся одновременно с HLA-A01.

Обсуждение

Нами были проанализированы особенности выявления различных HLA у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки в РБ. Часть полученных результатов оказалась созвучной с результатами исследований других авторов. Так, ряд исследователей отмечают, что у реципиентов аллотрансплантата почки ХГН встречался у 52,63% пациентов (также наиболее часто), ПК почек – у 15,79%, СД – у 13,16%, ХПН – у 7,89%, хронический тубулоинтерстициальный нефрит – у 5,26%, врожденные аномалии развития мочевых путей – у 3,51% и ишемическая нефропатия – у 1,75% пациентов [11]. По данным других авторов аналогичных исследований причиной ХБП 5 стадии являлись ХГН (77%), ХПН (7%), хронический тубулоинтерстициальный нефрит (4%), другие причины (12%). Амилоидоз почек и системные заболевания также были редкими причинами ХБП у реципиентов ренального трансплантата [16].

Другие исследователи отмечают, что у 119 реципиентов аллогенной почки в возрасте от 19 до 65 лет средний возраст (Me) составил 45 лет, мужчин было 71 (59,66%) и 48 (40,34%) женщин. Большинство пациентов до трансплантации находились на программированном гемодиализе (78,76%) и 21,24% – на перитонеальном диализе, два человека были на додиализной стадии [11]. В нашем случае в листе ожидания женщин и мужчин состояло поровну.

Нами были проанализированы особенности системы HLA у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки в РБ и проведено сравнение полученных результатов с данными из других регионов. Так, у наших пациентов с ХБП не выявлялся HLA-A28, что созвучно с исследованием, проведенном в Кувейте, где данный АГ вообще не выявлялся при ХБП, что позволило авторам предложить рассматривать выявление его как проявление устойчивости к развитию данной патологии для Кувейтского населения [41]. Проведенные в Кувейте исследования (334 пациентов с ХБП) показали, что там частота выявления HLA-B08 была значительно выше у пациентов с ХБП по сравнению со здоровыми лицами, а частота выявления HLA-A28 и HLA-DR11 достоверно выше у здоровых добровольцев. На данных результатах исследователи делают вывод, что выявление у пациента HLA-B08 может рассматриваться как фактор риска к предрасположенности развития ХБП, а обнаружение HLA-A28 и HLA-DR11 может рассматриваться как проявление устойчивости к развитию ХБП для Кувейтского населения. По нашим данным, HLA-B08 и HLA-DR11 выявлялись у пациентов с ХБП в 12,96 и 16,05% случаях соответственно.

Полученные нами данные созвучны с результатами исследования, проведенными в Бразилии, где среди пациентов с ХБП также наиболее часто выявлялся HLA-A02 (25,4%) (у нас данный АГ выявлялся наиболее часто) и другие антигены – HLA-B44 (10,9%) и HLA-DR13 (13,9%) [45]. В другом исследовании из этой же страны у кандидатов на трансплантацию почки наиболее часто выявлялись HLA-A02, HLA-B35 и HLA-DR11, что также созвучно с нашими результатами (у нас данные АГ выявлялись в 53,7%, 19,75% и 16,05% случаев соответственно) [44].

В исследовании, проведенном в Непале, выявили наиболее высокую частоту встречаемости у реципиентов почечного трансплантата следующих АГ: HLA-A01 (34,5%), HLA-A24 (17%),

HLA-B35(19%), HLA-DR15 (33,5%), HLA-DR12 (21,4%), HLA-DR04 (7,32%) (данные АГ у нас также встречались достаточно часто – в 23,46%, 24,07%, 19,75%, 16,05%, 8,02% и 29,01% случаях соответственно), а также HLA-A33 (13%); HLA-B15 (27%), HLA-B40 (10%) (данные АГ у нас встречались в 4,32%, 1,85% и 2,47 % случаях соответственно) [46]. Таким образом, приведенные выше результаты созвучны с нашими только в плане наиболее частого выявления HLA-A01, HLA-A24, HLA-B35, HLA-DR15, HLA-DR12 и HLA-DR04.

В литературе представлены результаты обследования 388 пациентов с терминальной стадией ХБП, проживающих в Казахстане. Исследователи установили связь между наличием в фенотипе пациентов HLA-A01 (у нас выявлялся у 23,46% пациентов); HLA-B15, HLA-B60, HLA-B61 (у нас выявлялись в 1,85%, 3,09%, 4,32% случаях соответственно) и развитием почечной патологии. В ходе исследования установлена предположительно защитная роль в отношении почечной патологии следующих АГ: HLA-A11, HLA-B62, HLA-DR08, HLA-DR14 (у нас выявлялись в 6,79%, 8,02%, 10,49% и 8,64% случаях соответственно), а также HLA-A23, HLA-A28, HLA-A33; HLA-B46, HLA-DR03 (у нас выявлялись в 4,32%, 0%, 4,32%, 0% и 6,17% случаях соответственно). Установлено, что для европейской популяции Казахстана маркерами ХБП являются HLA-DR01, HLA-DR04, HLA-DR03, HLA-DR05 (у нас выявлялись в 19,75%, 29,01%, 6,17% и 0% случаях соответственно) [2]. Таким образом, приведенные выше результаты созвучны с нашими только в плане редкого выявления при ХБП HLA-A28 и HLA-B46 и частого выявления HLA-DR01 и HLA-DR04.

Другие авторы провели исследования пациентов, страдающих различными нефропатиями, и выявили преобладание у них HLA-B18, HLA-B35, HLA-B12 (у нас данные АГ выявлялись в 14,81%, 19,75% и 0% случаях соответственно), причём торпидное прогредиентное течение нефропатий было свойственно тем пациентам, у которых выявлялись HLA-B18, HLA-B35. При этом была отмечена более редкая, чем в популяции, встречаемость у данных пациентов HLA-B05 и HLA-B07(у нас они выявлялись в 0% и 16,67% случаях соответственно) [6, 12, 42]. Таким образом, приведенные выше результаты созвучны с нашими только в плане редкого выявления при ХБП HLA-B05и частого выявления HLA-B18 и HLA-B35.

Ряд исследователей выявили высокий риск развития почечной недостаточности из-за пороков развития мочевых путей в связи с выявлением HLA-A09 (у нас выявлен не был); высокий риск формирования патологий, приводящих к утрате почки – с HLA-Bw6, генетическую резистентность к заболеваниям, приводящим к утрате почки – с HLA-A03 и HLA-B27 (у нас выявлялись в 22,84% и 8,03% случаях соответственно) [7].

Учеными из Южного Китая исследовался полиморфизм по системе HLA и его связь с ХБП у представителей коренного населения (4541 пациентов, ожидающих трансплантацию почки). Выявлено, что частота пяти аллелей гена HLA-A24, HLA-DR04, а также HLA-B40(60), HLA-B54, HLA-B55 встречались у пациентов с ХБП значительно выше (у нас данные АГ выявлялись в 24,07%, 29,01%, 2,47%, 0% и 4,32% случаях соответственно). Исследователи делают выводы, что данные 5 HLA-аллелей, по-видимому, связаны с ХБП у Кантонского населения [35]. Таким образом, приведенные выше данные созвучны с нашими результатами только в плане частого выявления HLA-A24 и HLA-DR04.

Исследователи из Великобритании изучались HLA специфичности пациентов (7007 больных), состоящих в листе ожидания на трансплантацию почек с целью выявить их отличительные черты от общего населения. У них наиболее часто встречались HLA-A02 (42,6%) и HLA-B44 (23,3%) (у нас данные АГ выявлялись в 53,7% и 12,35% случаях соответственно); наиболее редко встречались HLA-A19, HLA-A43, HLA-B16, HLA-B21, HLA-B22, HLA-B83 и HLA-DR05 (у нас указанные АГ не выявлялись вообще) [34]. Таким образом, приведенные выше результаты полностью созвучны с нашими данными.

В Чили был проведен анализ HLA типирования 421876 доноров и реципиентов почек. Установлено, что HLA-B08 значительно чаще выявлялся у реципиентов этнической группы Mapuche, что может рассматриваться как генетический фактор предрасположенности к хронической почечной недостаточности этой этнической группы (у нас он выявлялся у 12,96% пациентов) [37].

В Бразилии оценивались результаты типирования HLA у 105 пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности, требующих заместительной почечной терапии, в сравнении с 160 здоровыми людьми обоих полов. Установлено, что у данной группы пациентов HLA-A78 (у нас он не встречался вообще) и HLA-DR11 (у нас встречался в 16,05% случаев) встречались достаточно часто, а HLA-B14 (у наших пациентов выявлен не был) выявлялся значительно реже по сравнению с контролем [36]. Таким образом, приведенные выше результаты созвучны с нашими данными только в плане частого выявления HLA-DR11 и редкого – HLA-B14.

У пациентов с ХБП из Южного Китая, которые ждут трансплантации почки, наиболее часто выявлялся гаплотип HLA-A11-B27-DR04 [35]. В

Бразилии среди пациентов с ХБП наиболее часто выявлялись гаплотипы: HLA-A01-B08-DR03 (2,3%) (у нас сочетание HLA-A01-B08 встречалось у 8,64% пациентов), HLA-A02-B44-DR07 (1,2%) (у нас HLA-A02-DR07 встречалось у 3,09% пациентов), HLA-A03-B07-DR11 (1,0%) (у нас HLA-A03-B07 встречалось у 3,7% пациентов) [45]. В другом исследовании у пациентов с ХБП из Бразилии среди кавказцев были найдены наиболее частые гаплотипы HLA-A01-B08-DR03 (у нас сочетание HLA-A01-B08 встречалось у 8,64% пациентов), среди негров – HLA-A29-B15-DR04 (у нас HLA-A29-DR04 встречалось у 4,32% пациентов) [44].

В литературе мы встречаем данные, что среди больных с ХБП, страдающих ХГН, чаще отмечалось выявление антигена HLA-Cw7, а фенотипы HLA-B52 (у наших пациентов данный АГ вообще не выявлялся) и HLA-B35 выявляются значительно реже (у наших пациентов встречался в 20,0% случаях) [18].

Так, судя по литературным данным, острый гломерулонефрит (ОГН) [14], в последующем как исход ХГН, имел выраженную ассоциативную связь с HLA-A26 (у наших пациентов встречался в 8,57% случаях), фенотипической комбинацией антигенов HLA-B05-B40 (у нас данные АГ не были выявлены), гаплотипическими комбинациями антигенов HLA-A02-B18 (у нас данное сочетание не выявлялось вообще); HLA-A09-B05 (у нас данные АГ не были выявлены); HLA-A09-B40-B05 (у нас данные АГ не были выявлены). Авторы считают, что обнаружение указанных АГ повышало риск развития ОГН. И напротив, уменьшение частоты выявления HLA-A19 и HLA-B12 (у нас данные АГ выявлены не были) указывает на наличие устойчивости к манифестации ОГН. У пациентов с ОГН часто наиболее часто выявлялся HLA-DR04 (у нас данный АГ выявлен у 20,0% больных с ХГН) и HLA-DR05 (у нас данный АГ выявлен не был) (впервые ассоциация ОГН и HLA-DR05 была установлена R.Mori соавт. в 1996 г.) [40]. Также получены данные по частоте встречаемости HLA в зависимости от исхода ОГН. Так, со статистически достоверной разницей в порядке убывания наиболее часто при выявлении у пациентов ОГН встречались HLA-A02, HLA-A01, HLA-B35 (у нас данные АГ выявлены у пациентов с ХГН в 52,86%, 21,43% и 20,0% случаях соответственно), что приводит к формированию хронизации воспалительного процесса [22, 23].

Ряд авторов считает, что при ХПН эффект HLA-Bw6, HLA-A03 и HLA-B27 реализуется через влияние на течение заболевания: с HLA-Bw6 связан риск рецидивирующего течения пиелонефрита, а при наличии HLA-A03 (в нашем случае выявлен у в 29,41% случаях) и HLA-B27 (в нашем случае выявлен у в 5,88% случаях) течение пиелонефрита более благоприятное [7].

Существует мнение, что протективную роль в развитии вторичного пиелонефрита у пациентов играют такие специфичности системы, как HLA-A11 (в нашем случае у пациентов с ХПН не выявлялся) и DQ-0302; фенотипические сочетания: HLA-A02-A09 и HLA-A09-A11 (в нашем случае HLA-A09 и –A11 не были выявлены вообще) и гаплотипические: HLA-A02-B07 и HLA-A02-B12 (в нашем исследовании подобные сочетания не выявлялись) [21].

По данным ряда исследований считается, что инсулинозависимый СД является HLA-ассоциированным заболеванием. Есть данные, что гаплотипы HLA-DR04-DQA1-301-DQ302, HLA-DR17-DQA1-501-DQ201, HLA-DR04-DQA1-301-DQ304, HLA-DR01-DQA1-101-DQ501, HLA-DR16-DQA1-102-DQ502/4 являются предрасполагающими к развитию СД1, а гаплотипы HLA-DR15-DQA1-102-DQ602/8, HLA-DR11-DQA1-501-DQ301 и HLA-DR13-DQA1-103-DQ602/8 являются протекторными, что нашло подтверждение в европейских исследованиях, где наиболее высокий риск развития данного заболевания определяют два гаплотипа: HLA-DR04-DQA1-301-DQ302 и HLA-DR17-DQA1-501-DQ201 [10, 15].

Другие исследователи выявили ассоциацию развития СД с развитием нефроангиопатии с HLA-A01 и HLA-B08, которые были также значимо ассоциированы с лабильным течением диабета и формированием артериальной гипертензии (в нашем исследовании среди всех пациентов с СД данные АГ встречались в 17,20% и 13,79% случаях) [25].

Исследователи из Египта установили, что выявление у пациентов HLA-A02, HLA-B08, HLA-DR03 и HLA-DR11 достоверно коррелирует с ДН (у нас данные АГ выявились в 51,7%, 13,79%, 6,9% и 0% случаях соответственно, в общей популяции пациентов с ДН) [38].

Другие исследователи при ДН часто – у 54,6±15,0% больных – выявляли HLA-A03 (у нас данный АГ выявился только у 13,8% пациентов в общей популяции пациентов с ДН), что было расценено как свидетельство большей вероятности развития у таких лиц ДН [18].

Целью других исследователей было изучение двух гаплотипов HLA-DR03 и HLA-DR04 (по нашим данным, при СД1 данные АГ встречались в 8,70% и 73,91% случаях соответственно), для которых была установлена наиболее выраженная положительная ассоциация с СД1. Установлено, что HLA-DR гомозиготные гаплотипы – HLA-DR04-DR04 и HLA-DR03-DR03 – имеют значи-

тельно менее выраженную ассоциацию с СД1 по сравнению с гетерозиготным генотипом, состоящим из гаплотипов HLA-DR04 и HLA-DR03. Однако, как считают авторы, единого мнения по поводу этого наблюдения пока не выработано [1].

Установлено, что СД1 у европеоидов ассоциирован с аллелями HLA-DR03 и HLA-DR04 (у наших пациентов данные АГ встречались в 2 (8,7%) и 17 (73,91%) случаях). Однако у монголоидов (бурят) не выявлена ассоциация HLA-DR03 с СД, а у бразильцев предрасположенность к СД с аллельным вариантом HLA-DR04 отсутствовала; у хорватов обнаружена увеличенная частота выявления HLA-DR16 у пациентов с СД (по нашим данным, данный АГ у пациентов с ДН не встречался вообще). Так, при анализе частоты встречаемости аллельных вариантов гена HLA-DR04 в семи популяционных группах России (русские, поморы, саамы, татары, мари, тувинцы, ненцы) было выявлено, что во всех популяциях, за исключением ненцев, высока встречаемость аллеля DR-0401, ассоциированного с СД1. Однако у саамов, тувинцев и ненцев в отличие от других популяций высока частота и аллеля-протектора DR-0403: именно в этих трех популяциях практически отсутствует СД1. Таким образом, протективный эффект является превалирующим по отношению к предрасполагающему [24].

Рядом исследователей были установлены HLA-специфичности, положительно ассоциированные с СД1: HLA-DR01, HLA-DR03, HLA-DR04, HLA-DR08, HLA-DR09, HLA-DR10 (у нас данные АГ встречались у 3 (13,04%), 2 (8,70%), 17 (73,91%), 3 (13,04%), 1 (4,35%) и 1 (4,35%) пациента соответственно), и отрицательно ассоциированные: HLA-DR07, HLA-DR13(06) (у нас данные АГ встречались у 3 (13,04%) и 2 (8,70%) пациентов соответственно). Среди установленных авторами отрицательно ассоциированных АГ были такие, которые у нас или вообще не выявлялись, или встречались крайне редко – это HLA-DR11(05), – DR12(05), HLA-DR14(06), HLA-DR15(02), HLA-DR16(02) (у нас данные АГ встречались у 0; 1 (4,35%); 0; 1 (4,35%) и 0 пациентов соответственно) [1].

Считается, что СД2 относится к полигенно наследуемым заболеваниям [9]. Так, исследователи предполагают, что риск развития СД2 связан с гаплотипом HLA-A01-B08-DR03 [3]. У нас у 50% пациентов с СД2 выявлено сочетание HLA-A24-DR07.

Заключение

Анализируя иммуно-нозологические особенности пациентов, состоящих в листе ожидания в РБ, было установлено, что средний возраст наших пациентов составил 45,72±12,01 лет, что соответствует данным других исследователей [11]. Наибольшее количество пациентов, состоящих в нас в листе ожидания, страдало ХГН (43,2%), далее по убывающей: пациенты, страдающие СД с ДН, ХИН, ХПН и ПК почек. Полученные результаты созвучны с данными других авторов только по наибольшей частоте выявления в листе ожидания пациентов, страдающих ХГН. Другие нозологии в составе листа ожидания в других регионах имели другой удельный вес [11, 16].

У жителей РБ, страдающих ХБП, наиболее часто выявлялись HLA-A02 (выявлялся наиболее часто у пациентов с ХБП в Бразилии, Великобритании), HLA-DR07, HLA-DR04 (выявлялся наиболее часто у пациентов с ХБП в Непале, европейской популяции Казахстана, Южном Китае), HLA-A24 (выявлялся наиболее часто у пациентов с ХБП в Непале, Южном Китае) и сочетания HLA-A02-A03, HLA-A02-DR04, HLA-A02-DR01, HLA-A02-B07, HLA-A03-DR01, HLA-B35-DR01, выявление которых может рассматриваться как проявление риска развития тяжелой формы нефропатии. Исследователи из Бразилии отмечают высокую частоту встречаемости сочетания гаплотипа HLA-A01-B08-DR03 в 2,3% (у нас сочетание HLA-A01-B08 выявлено у 8,64% пациентов), HLA-A02-B44-DR07 – в 1,2% (у нас HLA-A02-DR07 выявлено у 3,09% пациентов), HLA-A03-B07-DR11 – в 1,0% (у нас HLA-A03-B07 выявлено у 3,7% пациентов), у негров Бразилии часто встречался гаплотип HLA-A29-B15-DR04 (у нас HLA-A29-DR04 выявлено у 4,32% пациентов).

С минимальной частотой у пациентов, страдающих ХБП, встречались HLA-B15, HLA-B40, HLA-A30, HLA-A32, HLA-B56, HLA-B60, HLA-DR10; и следующие сочетания: HLA-A01-A24-B08-DR17, HLA-A01-A68-DR07, HLA-A24-B07-B13, HLA-A01-B08-B13, HLA-A02-B35-B38-DR01, HLA-A02-B50-B61-DR07, HLA-A01-B55-DR04, HLA-A02-B55-DR03, HLA-A24-B55-DR13, HLA-A01-A02-B08-DR03, HLA-A02-DR01-DR13. Для пациентов с ХБП из РБ не характерно наличие следующих антигенов: HLA-A28 (как и в Кувейте); редко встречались HLA-A11, HLA-A23, HLA-A28, HLA-A33, HLA-B46, HLA-B62; HLA-DR03, HLA-DR14 (как и в Казахстане); не встречались HLA-A19, HLA-A43, HLA-B16, HLA-B21, HLA-B22, HLA-B83 и HLA-DR05 (как и в Великобритании); HLA-B14 (как и в Бразилии).

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний АГ. Был установлен 100%-й уровень ассоциации HLA-B15 с HLA-A02; HLA-B60 – с HLA-A02, HLA-A29 – с HLA-DR04. Таким образом, выявление подобных ассоциаций у пациентов может

расцениваться как проявления более высоко риска формирования тяжелой формы нефропатии.

С целью выявления иммуногенетической детерминированности различных заболеваний почек проводилось сравнение частоты выявления определенных HLA в зависимости от имеющейся почечной патологии.

Среди пациентов, страдающих ХГН и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись HLA-A02, HLA-DR07, HLA-DR01 и следующие сочетания: HLA-A02-DR07 и HLA-A02-DR01. Выявление данных АГ и подобных сочетаний HLA может рассматриваться как проявление риска развития тяжелой формы ХГН. В данной группе пациентов наименее часто встречались HLA-A10, HLA-DR03, HLA-A23, HLA-A29, HLA-A31, HLA-A33, HLA-B41 и HLA-DR10, и следующие сочетания: HLA-A01-A24-B51-DR14, HLA-A01-A68-DR07, HLA-A01-A24-B51, HLA-A02-A03-B35-B38-DR01, HLA-A02-A68-DR14, HLA-A01-B37, HLA-A02-B37. Отсутствие выявления в нашем исследовании в данной группе пациентов HLA-B52 [18], HLA-A19, HLA-B12 коррелирует с данными других исследователей, как и частое выявление у пациентов с гломерулонефритом HLA-DR04 [40] и HLA-A02, HLA-A01, HLA-B35 [23]. Вероятно, данные АГ и их сочетания могут носить протективный характер при ХГН.

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний АГ у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки с ХГН. Был установлен высокий уровень ассоциации HLA-B62 с HLA-DR04 (75%), HLA-DR07 с HLA-A02 (68,18%); HLA-B07 с HLA-A02 (66,67%); HLA-DR09 с HLA-A02 (62,50%). Таким образом, выявление подобных ассоциация может расцениваться как проявления высоко риска формирования тяжелой формы ХГН.

Среди пациентов, страдающих ХПН и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись антигены: HLA-A02, HLA-DR11, HLA-DR07 и следующие сочетания: HLA-A02-DR07, HLA-A02-DR11 и HLA-A02-DR11. Выявление данных АГ и подобных сочетаний может рассматриваться как проявление риска развития тяжелой формы ХПН. В данной группе пациентов наименее часто встречались HLA-A10, HLA-A23, HLA-A68, HLA-B27, HLA-B37, HLA-B41, HLA-B45, HLA-B48, HLA-B49, HLA-B51, HLA-B55, HLA-B56, HLA-B63, HLA-DR03, HLA-DR04 и HLA-DR10 и сочетания HLA-A01-B08-DR17 и HLA-A02-A03-B35-DR01. Вероятно, данные АГ и их сочетания могут носить протективный характер при ХПН. HLA-A03 у нас выявлен у 29,41% пациентов, но некоторые исследователи отнесли данный АГ при ХПН к разряду протективных, так же как и HLA-B27 (у нас выявлен у 5,88% пациентов) [7]. Исследователями установлена проективная роль в развитии вторичного пиелонефрита HLA-A11 и фенотипических сочетаний HLA-A02-A09 и HLA-A09-A11. У пациентов с ХПН в нашем листе ожидания HLA-A09, HLA-A11 и указанных фенотипических сочетаний выявлено не было [21].

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний АГ у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки с ХПН. Был установлен высокий уровень ассоциации HLA-A25 с HLA-DR15 (100%); HLA-B13 с HLA-A02 и HLA-DR07 (100%); HLA-B35 с HLA-A03 (100%); HLA-DR07 с HLA-A02 (100%); HLA-B08 с HLA-DR17 (75%); HLA-B18 с HLA-A02 (75%); HLA-B18 с HLA-DR17 (75%); HLA-DR17 с HLA-A02 (75%); HLA-DR17 с HLA-B08 (75%); HLA-DR17 с HLA-B18 (75%). Таким образом, выявление подобных ассоциация может расцениваться как проявления высоко риска формирования тяжелой формы ХПН.

Среди пациентов, страдающих СД1 и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись: HLA-DR04, HLA-A02, HLA-A24, HLA-DR17, и следующие сочетания антигенов: HLA-A02-DR04, HLA-A24-DR04. Выявление данных АГ и подобных сочетаний АГ может рассматриваться как проявление риска развития СД1 с тяжелой формой ДН. Среди данной группы пациентов наименее часто выявлялись: HLA-A11, HLA-A26, HLA-A30, HLA-A31, HLA-A41, HLA-A210, HLA-B15, HLA-B27, HLA-B37, HLA-B38, HLA-B39, HLA-B49, HLA-B50, HLA-B52, HLA-B55, HLA-B61, HLA-B64, HLA-DR09, HLA-DR10, HLA-DR12 и HLA-DR15; и следующие сочетания: HLA-A03-DR04, HLA-A24-B08-DR04, HLA-A25-B18, HLA-A02-B07, HLA-A24-B07, HLA-B18-DR04, HLA-B35-DR04, HLA-A02-DR04-DR17 и HLA-B08-DR04-DR17. Вероятно, данные АГ и их сочетания могут носить протективный характер при СД1.

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний АГ у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки СД1. Был установлен 100%-й уровень ассоциации HLA-A01 с HLA-DR04, HLA-A03 – с HLA-DR04, HLA-A25 – с HLA-B18, HLA-B08 – с HLA-DR04 и HLA-DR17. Таким образом, выявление подобных ассоциация может расцениваться как проявления высоко риска формирования тяжелой формы СД1 с формированием ДН.

Среди пациентов с СД2, находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись HLA-A24 и HLA-DR07, и следующее сочетания: HLA-A24-DR07. Выявление данных АГ и подобных сочетаний АГ может рассматриваться как проявление риска развития СД2 с тяжелой формой ДН. Среди данной группы пациентов наименее часто выявлялись: HLA-A01, HLA-A03, HLA-B07, HLA-B08, HLA-B40, HLA-B44, HLA-B50, HLA-B51, HLA-B55, HLA-DR01, – DR04, HLA-DR08, HLA-DR14, HLA-DR15, HLA-DR17, и сочетаний антигенов: HLA-A24-A26, HLA-A24-B13, HLA-A24-DR13 и HLA-A24-B62. Вероятно, данные АГ и их сочетания могут носить протективный характер при СД2.

Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний АГ у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки СД2. Был установлен 100%-й уровень ассоциации HLA-B13 с HLA-A24, HLA-B62 с HLA-A24, и 75%-й уровень ассоциации HLA-DR07 с HLA-A24. Таким образом, выявление подобных ассоциаций АГ может расцениваться как проявления более высоко риска формирования тяжелой формы СД2.

Полученные нами данные созвучны с исследованиями из Египта, где также установили высокую ассоциацию HLA-A02 с развитием ДН [38]. Установленная нами выраженная положительная ассоциация HLA-DR04 с СД1 находит отражение и в других исследованиях [1].

Выявленные у наших пациентов с СД HLA-A01 (17,20% случаев) и HLA-B08 (13,79% случаев) ряд исследователей ассоциирует с развитием при СД нефроангиопатии и формированием артериальной гипертензии [25].

Так, среди пациентов, страдающих ПК почек и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись: HLA-A02, HLA-A03, HLA-A01, HLA-A24 и HLA-DR04; и следующие сочетания: HLA-A01-B08 и HLA-A03-DR01. Были проанализированы закономерности выявления HLA в составе различных сочетаний у пациентов, состоящих в листе ожидания трансплантации почки с ПК. Был установлен 100%-й уровень ассоциации HLA-B08 с HLA-A01; HLA-B35 с HLA-DR01; HLA-DR01 с HLA-A03; 80%-й уровень ассоциации HLA-A01 с HLA-B08; 75%-й уровень ассоциации HLA-DR01 с HLA-B35; 75%-й уровень ассоциации HLA-DR07 с HLA-A01. Выявление данных АГ и подобных сочетаний АГ может рассматриваться как проявление риска развития ПК с тяжелой формой нефропатии.

При ПК почек с минимальной частотой встречались: HLA-A11, HLA-A25, HLA-A26, HLA-A31, HLA-A33, HLA-B27, HLA-B38, HLA-B51, HLA-B56, HLA-B57, HLA-B58, HLA-B60, HLA-DR14 и – DR16; и следующие сочетания: HLA-A01-A24-B08, HLA-A01-B08-DR17 и HLA-A03-B35-DR01. Вероятно, данные АГ и их сочетания могут носить протективный характер при ПК.

Так, среди пациентов, страдающих ХИН и находящихся в листе ожидания трансплантации почки в РБ, наиболее часто выявлялись: HLA-A02, HLA-B35, HLA-DR15, HLA-A01, HLA-DR07, HLA-A03, HLA-B07; и следующие сочетания: HLA-A02-B35, HLA-A02-A03, HLA-A02-DR14, HLA-A02-B07 и HLA-B35-DR07. Был установлен 100%-й уровень ассоциации HLA-DR14 с HLA-A02; – 80%-й уровень ассоциации HLA-A03 с HLA-A02; – 80%-й уровень ассоциации HLA-B07 с HLA-A02; – 75%-й уровень ассоциации HLA-DR04 с HLA-A01. Выявление данных АГ и подобных сочетаний может рассматриваться как проявление риска развития ХИН с тяжелой формой нефропатии.

При ХИН с минимальной частотой встречались: HLA-HLA-A26, HLA-A30, HLA-A68, HLA-B08, HLA-B13, HLA-B37, HLA-B50, HLA-B55, HLA-B57, HLA-DR03 и – DR17; и следующие сочетания: HLA-A01-DR11-DR15, HLA-A02-B07-DR11, HLA-A02-B35-B61-DR14, HLA-A02-A24-DR14, HLA-A01-DR04, HLA-A01-DR15 и HLA-A02-B61. Вероятно, данные АГ и их сочетания могут носить протективный характер при ХИН.

Таким образом, установлено как созвучие, так и расхождения полученных нами результатов с литературными данными как в плане наиболее часто встречающихся HLA, так и их сочетаний при том или ином генезе нефропатии. Выявленные различия можно объяснить наличием популяционных особенностей в системе HLA у пациентов, принадлежащим различным этническим группам, так и проживающих на разных географических территориях. Видится, что обнаруженные устойчивые ассоциативные связи между заболеваниями и HLA будут способствовать лучшему пониманию патогенеза заболеваний, их раннему доклиническому выявлению, уточнению риска развития патологических состояний, что позволит своевременно обосновывать назначение профилактических мероприятий [1, 16].

Благодарности

Хотелось бы выразить слова признательности коллективу отделения трансплантации Республиканской клинической больнице им. Г.Г.Куватова (г. Уфа) – врачам Нуриахметову Р.Р., Мусину И.Р., Мухаметовой Р.Р., Амирхановой И.А., врачам клинико-диагностической лаборатории – Вагаповой Д.Р., Азнабаевой Л.Ф., переводчику языковой школы Know and Speak (г. Уфа) – Корженевской А.А.

Список литературы / References

1. Алексеев Л.П., Дедов И.И., Хаитов Р.М., Болдырева М.Н., Трофимов Д.Ю., Петеркова В.А., Кураева Т.Л., Абрамов Д.Д. Иммуногенетика сахарного диабета 1 типа – от фундаментальных исследований к клинике // Вестник РАМН, 2012. Т. 67, № 1. С. 75-80. [Alekseev L.P., Dedov I.I., Khaitov R.M., Boldyreva M.N., Trofimov D.Yu., Peterkova V.A., Kuraeva T.L., Abramov D.D. Immunogenetics of type 1 diabetes mellitus – from fundamental ideas to medical practice. *Vestnik RAMN = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences, 2012, Vol. 67, no. 1, pp. 75-80.* (In Russ.)]

2. Ахметова Ж.Н., Качиева З.С., Салимбекова С.К., Бисмилдина Г.С., Толегенкызы А. Маркеры для выявления хронической почечной недостаточности // Вестник КазНМУ, 2018. № 2. С. 227-231. [Akhmetova Zh.N., Kachiyeva Z.S., Salimbekova S.K., Bismildina G.S., Tolegenkyzy A. Markers for detecting chronic renal failure. *Vestnik KazNMU = Bulletin of the Kazakh National Medical University, 2018, no. 2, pp. 227-231.* (In Russ.)]

3. Белоусова О.Н., Сиротина С.С., Якунченко Т.И., Жернакова Н.И. Молекулярные и генетические механизмы патогенеза сахарного диабета 2 типа // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация, 2015. № 16 (213). Вып. 31. С. 12-19. [Belousova O.N., Sirotina S.S., Jakunchenko T.I., Zhernakova N.I. Molecular and genetic mechanisms of the pathogenesis of type 2 diabetes. *Nauchnye vedomosti. Seriya Meditsina. Farmatsiya = Scientific Statements. Medicine Series. Pharmacy, 2015, no. 16 (213), Iss. 31, pp. 12-19.* (In Russ.)]

4. Бикбов Б.Т., Томилина Н.А. Состояние заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998-2009 гг. (Отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии) // Нефрология и диализ, 2011. Т. 13, №3. С. 150-264. [Bikbov B.T., Tomilina N.A. Renal replacement therapy for ESRD in Russian Federation, 1998-2013 (Report of the Russian Renal Replacement Therapy Registry. Part 1). *Nefrologiya i dializ = Nephrology and Dialysi, 2011, Vol. 13, no. 3, pp. 150-264.* (In Russ.)]

5. Ватазин А.В., Зулькарнаев А.Б. Трансплантация почки как оптимальный метод лечения хронической болезни почек // Лечебное дело, 2013. № 3. С. 47-52. [Vatazin A.V., Zulkarnaev A.B. Kidney transplantation as an optimal treatment for chronic kidney disease. *Lechebnoe delo = Medical Case, 2013, no. 3, pp. 47-52.* (In Russ.)]

6. Вьюшкова Н.В. Дисплазия соединительной ткани как фоновое состояние при пиелонефрите // Кубанский научный медицинский вестник, 2009. № 6 (111). С. 27-30. [Vyushkova N.V. Connective tissue dysplasia as a background of the pyelonephritis. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik = Kuban Scientific Medical Bulletin, 2009, no. 6 (111), pp. 44-46.* (In Russ.)]

7. Гумеров А.А., Ахметшин Р.З., Смаков Ш.С., Коновалов С.А., Коновалова Л.В., Абдуллина А.В., Байбурин Р.А., Яниахметов Р.Р., Шигапов Р.М. Частота встречаемости антигенов HLA-системы у детей с пороками развития мочевых путей // Медицинский вестник Башкортостана, 2015. Т. 10, № 3. С. 27-31. [Gumerov A.A., Akhmetshin R.Z., Smakov Sh.S., Konovalov S.A., Konovalova L.V., Abdullina A.V., Baiburin R.A., Yaniakhmetov R.R., Shigapov R.M. The incidence of hla antigens in children with urinary tract malformations. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Bashkortostan Medical Journal, 2015, Vol. 10, no. 3, pp. 27-31.* (In Russ.)]

8. Данович Г.М. Трансплантация почки. Пер. с англ. / Под ред. Я.Г. Мойсюка. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 848 с. [Danovitch G.M. Handbook of kidney transplantation]. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 848 p.

9. Дедов И.И. Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике // Сахарный диабет, 2010. Т. 13, № 3. С. 6-13. [Dedov I.I. Diabetes mellitus: development of technologies in diagnostics, treatment and prevention. *Sakharnyy diabet = Diabetes Mellitus, 2010, Vol. 13, no. 3, pp. 6-13.* (In Russ.)]

10. Дедов И.И., Кураева Т.Л., Петеркова В.А. Сахарный диабет у детей и подростков: руководство. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 272 с. [Dedov I.I., Kuraeva T.L., Peterkova V.A. Diabetes mellitus in children and adolescents]. Moscow: GEOTAR-Media, 2013. 272 p.

11. Зыблева С.В., Зыблев С.Л., Свистунова Е.А., Кабешев Б.О., Злотникова М.В. Клинико-генетические особенности реципиентов аллотрансплантата почки // Вестник ВГМУ, 2017. Т. 16, № 3. С. 54-62. [Zybleva S.V., Zyblev S.L., Svistunova E.A., Kabeshev B.O., Zlotnikova M.V. Clinical and genetic peculiarities of renal allograft recipients. *Vestnik VGMU = Vitebsk State Medical University Bulletin, 2017, Vol. 16, no. 3, pp. 54-62.* (In Russ.)]

12. Игнатова М.С. Проблемы нефрологии детского возраста на рубеже столетий // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 1998. № 1. С. 37. [Ignatova M.S. Problems of pediatric nephrology at the turn of the century. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics, 1998, no. 1, p. 37.* (In Russ.)]

13. Игнатова М.С., Длин В.В. Приоритетные исследования в детской нефрологии (к 40-летию отделения наследственных и приобретенных болезней почек МНИИ педиатрии и детской хирургии) // Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2010. № 6. С. 62-68. [Ignatova M.S., Dlin V.V. Priority studies in pediatric nephrology (on the occasion of the 40th anniversary of the Department of Hereditary and Acquired Renal Diseases, Moscow Research Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery). *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics, 2010, Vol. 6, pp. 62-68.* (In Russ.)]

14. Иллек Я.Ю., Зайцева Г.А., Тарасова Е.Ю. Антигены системы HLA у детей с острым и хроническим гломерулонефритом // Педиатрия, 1996. № 3. С. 37. [Illek Ya.Yu., Zaitseva G.A.,Tarasova E.Yu. HLA-antigens in children with acute and chronic glomerulonephritis. *Pediatriya = Pediatrics, 1996, no. 3, p. 37.* (In Russ.)]

15. Кураева Т.Л., Зильберман Л.И., Титович Е.В., Петеркова В.А.. Генетика моногенных форм сахарного диабета // Сахарный диабет, 2011. № 1. С. 20-27. [Kuraeva T.L., Zilberman L.I., Titovich E.V., Peterkova V.A. Genetics of monegenic forms of diabetes mellitus. *Sakharnyy diabet = Diabetes Mellitus, 2011, no. 1, pp. 20-27.* (In Russ.)]

16. Лимарева Л.В., Колсанов А.В., Авдеева А.А., Данильченко О.П., Богуш В.В. Клинико-иммунологические особенности реципиентов аллотрансплантата почки с манифестацией цитомегаловирусной инфекции в раннем постоперационном периоде // Вестник трансплантологии и искусственных органов, 2013. Т. 15, № 4. С. 24-31. [Limareva L.V., Kolsanov A.V., Avdeeva A.A., Danilchenko O.P., Bogush W.V. Clinical and immunological features of kidney transplant recipients with cytomegalovirus infection manifestation in the early postoperative period. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov = Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs, 2013, Vol. 15, no. 4, pp. 24-30.* (In Russ.)]

17. Логинова М.А., Парамонов И.В., Павлов В.Н., Сафуанова Г.Ш. Генетические особенности популяции, проживающей на территории республики Башкортостан // Вестник трансплантологии и искусственных органов, 2016 Т. XVIII, № 1. С. 58-66. [Loginova M.A., Paramonov I.V., Pavlov V.N., Safuanova G.S. Genetic characteristics of the population living in the territory of the republic of bashkortostan. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov = Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs, 2016, Vol. 18, no. 1, pp. 58-66.* (In Russ.)]

18. Максеев А.Р., Хасанова М.И., Хакимова Р.Ф., Галеев Ш.Р., Ситкина К.В. Иммуногенетическая детерминированность у реципиентов аллотрансплантата почки // Инновационные технологии в медицине, 2015. Т. 1, № 4 (89). [Makseev A.R., Khasanova M.I., Khakimova R.F., Galeev Sh.R., Sitkina K.V. Immunogenetic determinacy in renal allograft recipients. *Innovatsionnye tekhnologii v meditsine = Innovative Technologies in Medicine, 2015, Vol. 1, no. 4 (89).* (In Russ.)]

19. Нуров Р.М. Хирургическое лечение мегауретера новорожденных и детей раннего возраста: Автореф. дис. … канд. мед. наук. СПб., 1999. 21 с. [Nurov R.M. Surgical treatment of megaureter of newborns and young children: Abstract of PhD thesis]. St. Petersburg, 1999. 21 p.

20. Разин М.П., Зайцева Г.А., Иллек Я.Ю., Батуров М.А. Возможности иммуногенетики в диагностике врожденных обструктивных уропатий у детей // Вятский медицинский вестник, 2012. № 1. С. 31-35. [Razin M.P., Zaytseva G.A., Illek Ya.Yu., Baturov M.A. Potency of immunogenetics in diagnostics innate obstructive uropathy in children. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik = Medical Newsletter of Vyatka, 2012, no. 1, pp. 31-35.* (In Russ.)]

21. Разин М.П., Зайцева Г.А., Сухих Н.К. Роль полиморфизма системы HLA в резистентности к развитию урологической патологии у детей Кировской области // Медицинский вестник Северного Кавказа, 2015. Т. 10, № 3. С. 228-231. [Razin M.P., Zaitseva G.A., Sukhikh N.K. The role of HLA-polymorphism in resistance to the development of urological pathology in children of Kirov region of Russia federation. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of North Caucasus, 2015. Vol. 10, no. 3, pp. 228-231.* (In Russ.)]

22. Ракитянская И.А. Острый гломерулонефрит // Нефрология, 2000. Т. 4, № 2. С. 76. [Rakityanskaya I.A. Acute glomerulonephritis. *Nefrologiya = Nephrology. 2000, Vol. 4, no. 2, p. 76.* (In Russ.)]

23. Рябов С.И., Ракитянская И.А., Наджиб Ваза Абу-Асба. Этиология острого гломерулонефрита // Нефрология, 2000. Т. 5, № 1. С. 7-16. [Ryabov S.f., Rakityanskaya I.A., Nagib Waza Abo-Asba. Etiology of acute glomerulonephritis. *Nefrologiya = Nephrology, 2000, Vol. 5, no. 1, pp. 7-16.* (In Russ.)]

24. Семин Е.В., Блохин Б.М., Каграманова К.Г., Майорова О.А. Система HLA: строение, функции, очевидная и возможная связь с аутоиммунными и атопическими заболеваниями // Лечебное дело, 2012. № 1. С. 4-9. [Syomin E.V., Blokhin B.M., Kagramanova K.G., Mayorova O.A. The HLA system: structure, functions, obvious and possible role in autoimmune and atopic diseases. *Lechebnoe delo = Medical Case, 2012, no. 1, pp. 4-9.* (In Russ.)]

25. Совалкин В.И., Жуков Н.А. О распространенности поражения почек при сахарном диабете и факторах риска их развития // Омский научный вестник, 1999. С. 99-102. [Sovalkin V.I., Zhukov N.A. On the prevalence of kidney damage in diabetes mellitus and risk factors for their development. *Omskiy nauchnyy vestnik = Omsk Scientific Bulletin, 1999, pp. 99-102.* (In Russ.)]

26. Томилина Н.А., Бибков Б.Т. О состоянии заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 2001 году. Отчет по данным Регистра Российского диализного общества // Нефрология и диализ, 2004. Т. 6, № 1. С. 4-42. [Tomilina N.A., Bikbov B.T. On the state of substitution therapy in patients with chronic renal failure in the Russian Federation in 2001. Report on the data of the Register of the Russian Dialysis Society. *Nefrologiya i dializ = Nephrology and Dialysis, 2004, Vol. 6, no. 1, pp. 4-42.* (In Russ.)]

27. Тугушева Ф.А., Зубина И.М., Митрофанова О.В. Оксидативный стресс и ХБП // Нефрология, 2007. № 11. С. 29-47. [Tugusheva F.A., Zubina I.M., Mitrofanova O.V. Oxidative stress and chronic kidney disease. *Nefrologiya = Nephrology, 2007, Vol. 11, pp. 29-47.* (In Russ.)]

28. Турпитко О.Ю. Значение исследований антигенов HLA для характеристики риска развития гломерулопатий у детей: Автореф. дис. … канд. мед. наук. М., 1985. 24 с. Turpitko O.Yu. Significance of HLA antigen studies for characterizing the risk of glomerulopathies in children: Abstract of PhD thesis]. Moscow, 1985. 24 p.

29. Усманова И.З., Куликова С.Н., Кальметьева Л.Р., Хайруллина Р.М. Иммуногенетические аспекты пересадки почки у детей, факторы риска и исходы в долгосрочном периоде // Нефрология, 2013. Т. 17, № 3. С. 54-59. [Usmanova I.Z., Kulikova S.N., Kalmetjeva L.R., Khayrullina R.M. Immunogenetic aspects of kidney transplantation in children, risk factors and long-term outcomes. *Nefrologiya = Nephrology, 2013, Vol. 17, no. 3, pp. 54-59.* (In Russ.)]

30. Хазов М.В., Романов С.В., Липатов К.С. Трансплантация почки в ФГУ «ПОМЦ Росздрава»: опыт и перспективы развития // Медицинский альманах, 2008. № 5. С. 45-48. [Khazov M.V., Romanov S.V., Lipatov K.S. Kidney transplantation at Privolzhsky District Medical Center: experience and development prospects. *Meditsinskiy almanakh =Medical Almanac, 2008, no. 5, pp. 45-48.* (In Russ.)]

31. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы. М.: ВИНИТИ РАН, 2005. 375 с. [Khaitov R.M. Physiology of immune system]. Moscow: All-Russian Institute of Scientific and Technical Information of the Russian Academy of Sciences, 2005. 375 p.

32. Шамов Б.К., Шарков С.М., Яцык С.П. Современные взгляды на патогенез формирования мегауретера у детей // Педиатрическая фармакология, 2008. Т. 5, № 6. С. 123-124. [Shamov B., Sharkov S., Yatsyk S. Modern views on the megaloureter formation pathogenesis in children. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology, 2008, Vol. 5, no. 6, pp. 123-124.* (In Russ.)]

33. Brewerton D.A. Discovery: HLA and disease. Curr. Opin. Rheumatol., 2003, Vol. 15, no. 4. pp. 369-373.

34. Burt C., Cryer C., Fuggle S., Little A.M., Dyer P. HLA-A, -B, -DR allele group frequencies in 7007 kidney transplant list patients in 27 UK centres. *Int. J. Immunogenet., 2013, Vol. 40, no. 3, pp. 209-215.*

35. Cao Q., Xie D., Liu J., Zou H., Zhang Y., Zhang H., Zhang Z., Xue H., Zhou J., Chen P. HLA polymorphism and susceptibility to end-stage renal disease in Cantonese patients awaiting kidney transplantation. *PLoS One, 2014, Vol. 9, no. 6, e90869.* doi: 10.1371/journal.pone.0090869.

36. Crispim J.C., Mendes-Júnior C.T., Wastowski I.J., Palomino G.M., Saber L.T., Rassi D.M., Donadi E.A. HLA polymorphisms as incidence factor in the progression to end-stage renal disease in Brazilian patients awaiting kidney transplant. *Transplant. Proc., 2008, Vol. 40, pp. 1333-1336.*

37. Droguett M.A., Beltran R., Ardiles R., Raddatz N., Labraña C., Arenas A., Flores J., Alruiz P., Mezzano S., Ardiles L. Ethnic differences in HLA antigens in Chilean donors and recipients: data from the National Renal Transplantation Program. *Transplant. Proc., 2008, Vol. 40, no. 9, pp. 3247-3250.*

38. El-Gezawy E.M., Baset H.A., Nasif K.A., Osama A., AbdelAzeem H.G., Ali M., Khalil R.Y. Human leukocyte antigens as a risk factor for the primary diseases leading to end stage renal disease in Egyptian patients. *Egypt J. Immunol., 2011, Vol. 18, no. 2, pp. 13-21.*

39. Faronato P.P., Maioli M., Tonolo G., Brocco E., Noventa F., Piarulli F., Abaterusso C., Modena F., de Bigontina G., Velussi M., Inchiostro S., Santeusanio F., BuetiA. , Nosadini R. Clusterin of albumin excretion rate abnormalities in Caucassian patients with NIDDM. The Italian NIDDM nephropathy study group. *Diabetologia, 1997, Vol. 40, pp. 816-823.*

40. Mori K., Sasazuki T., Kimura A. Ito Y. HI.A-DP antigens and poststreptococcal acute glomerulonephritis. *Acta Paediatr., 1996, Vol. 85, no. 28, pp. 916-918.*

41. Mosaad Y.M., Mansour M., Al-Muzairai I., Al-Otabi T., Abdul-Moneam M., Al-Attiyah R., Shahin M. Association between Human Leukocyte Antigens (HLA-A, -B, and -DR) and end-stage renal disease in Kuwaiti patients awaiting transplantation. *Ren. Fail., 2014, Vol. 36, no. 8, pp. 1317-1321.*

42. Nedal H. A genome – wide search for linkage to chronic kidney disease in a community – based sample: the SAFH. *J. Nephrol. Dial. Transplant., 2008, Vol. 23, no. 10, pp. 3184-3191.*

43. Orsenigo E., Socci C., Carlucci M. Multivariate analysis of factors affecting patient and graft survival after renal transplant. *Transplant. Proc., 2005, Vol. 37, no. 6, pp. 2461-2463.*

44. Ravazzi-Gauch C., Bajay M.M., Caldas H.C., Abbud-Filho M. HLA-A, -B, and -DRB1 allele and haplotype diversity in a cohort of Brazilian renal transplant candidates. *Hum. Immunol., 2016, Vol. 77, no. 6, pp. 464-469.*

45. Saito P.K., Yamakawa R.H., Noguti E.N., Bedendo G.B., Júnior W.V., Yamada S.S., Borelli S.D. HLA-A, HLA-B, and HLA-DRB1 Allele and Haplotype Frequencies in Renal Transplant Candidates in a Population in Southern Brazil. *J. Clin. Lab. Anal., 2016, Vol. 30, no. 3, pp. 258-365.*

46. Tuladhar A., Shrestha S., Raut P.P., Bhandari P., Shrestha P. HLA antigen distribution in renal transplant recipients and donors. *J. Nepal Health Res. Counc., 2013, Vol. 11, no. 25, pp. 289-292.*

47. Zhao J.J., Wang X.B., Luan Y., Liu J.L., Liu L., Jia H.Y. Association of human leukocyte antigen gene polymorphism and mesangial proliferative glomerulonephritis in a large population-based study. *Biomed. Rep., 2013, Vol. 1, no. 5, pp. 751-756.*

Авторы:

Корженевский А.А. *– д.м.н., врач аллерголог-иммунолог хирургического отделения № 3 (отделение трансплантации органов) ГБУЗ «Республиканская клиническая больница имени Г.Г. Куватова», г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия*

Корженевская Н.П. *– врач отделения функциональной диагностики ГБУЗ «Республиканская клиническая больница имени Г.Г. Куватова», г. Уфа, Республика Башкортостан, Россия*

Authors:

Korzhenevsky A.A.*, PhD, MD (Medicine), Clinical Allergologist-Immunologist, Surgical Department No. 3 (Organ Transplantation), G. Kuvatov Republican Clinical Hospital, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation*

Korzhenevskaya N.P.*, Doctor, Department of Functional Diagnostics, G. Kuvatov Republican Clinical Hospital, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russian Federation*

Поступила 30.05.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 30.05.2021
Accepted 07.11.2021

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КЛАСТЕРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Зыблева С.В., Зыблев С.Л.

ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь

Резюме. Для выявления иммунопатологических нарушений при трансплантации почки важное значение принадлежит лабораторным исследованиям. Как правило, выбор тестов проводится индивидуально и строится на основании клинических особенностей и предполагаемого диагноза. Чаще всего у пациентов после трансплантации почки фиксируются нетипичные и не всегда стандартные изменения иммунологических параметров, что связано с совокупностью многих факторов, приводящих к различным по характеру реагирования иммунным реакциям. Все это послужило основанием для проведения типирования иммунологических показателей у реципиентов почечного аллотрансплантата с помощью одного из методов системного анализа – кластерного анализа. Выполнена трансплантация почки у 104 реципиентов. Иммунологическое обследование проведено на 360-е сутки после операции. Выделены группы реципиентов: РПТ1 – с первичной функцией почечного трансплантата на 7-е сутки и удовлетворительной функцией трансплантата в течение года, РПТ2 – с дисфункцией почечного трансплантата на 7-е сутки и в течение года. С помощью кластерного анализа выделили и охарактеризовали иммунотипы регуляторных комплексов при различных вариантах течения посттрансплантационного периода. Для оценки иммунного ответа при аллогенной трансплантации почки следует определять совокупность иммунных клеток, имеющих фенотип: $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$, $CD3^+CD4^-CD8^-$, $CD3^+CD4^+CD69^+$, $CD3^+CD16^+CD56^+$, $CD19^+CD5^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$, $CD3^+CD8^+CD69^+$, $CD3^+CD4^+CD8^+$, $CD3^+CD8^+CD38^+$, $CD19^+CD86^+$, $CD19^+IgD^+CD27^-$, $CD3^-CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD38^+$, $CD14^{+low}CD86^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$. По нашим данным, иммунологический клеточный состав центральной точки кластеризации толерогенного иммунологического комплекса представлен $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$ регуляторными и $CD3^+CD4^-CD8^-$ даблнегативными Т-лимфоцитами. Состав центральной точки кластеризации гиперергического иммунологического комплекса представлен кооперацией $CD3^+CD8^+CD69^+$ и $CD3^+CD4^+CD8^+$ клеток. В основе структуры толерогенного иммунного ответа у пациентов после трансплантации почки лежат межклеточные взаимодействия, имеющие иерархическую систему, основа которой представлена кооперацией регуляторных клеток $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$, $CD3^+CD4^-CD8^-$, $CD3^+CD4^+CD69^+$, $CD3^+CD16^+CD56^+$, $CD19^+CD5^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$. В основе гиперергического варианта иммунного реагирования при почечной аллотрансплантации лежит избыточная активация следующих звеньев иммунного ответа: $CD3^+CD8^+CD38^+$, $CD19^+CD86^+$, $CD3^+CD38^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$, $CD19^+IgD^+CD27^-$, $CD3^-CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD8^+CD69^+$ и $CD14^{+low}CD86^+$. Выделенные иммунотипы позволят осуществить персонифицированный подход к диагностике и лечению пациентов с различными вариантами иммунного реагирования при трансплантации почки.

Ключевые слова: толерогенный, гиперергический, иммунотип, трансплантация почки, кластерный анализ

Адрес для переписки:

Зыблева Светлана Валерьевна
ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»
246000, Республика Беларусь, г. Гомель, ул. Ильича, 290.
Тел.: +375 232 38-99-09.
E-mail: zyb-svetlana@yandex.ru

Address for correspondence:

Zybleva Svetlana V.
Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology
246000, Republic of Belarus, Gomel, Ilyich str., 290.
Phone: +375 232 38-99-09.
E-mail: zyb-svetlana@yandex.ru

Образец цитирования:

С.В. Зыблева, С.Л. Зыблев «Иммунологические кластерные комплексы при трансплантации почки» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 69-80.
doi: 10.15789/1563-0625-ICC-2212

© Зыблева С.В., Зыблев С.Л., 2022

For citation:

S.V. Zybleva, S.L. Zyblev "Immunological cluster complexes in kidney transplantation", Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 69-80.
doi: 10.15789/1563-0625-ICC-2212

DOI: 10.15789/1563-0625-ICC-2212

IMMUNOLOGICAL CLUSTER COMPLEXES IN KIDNEY TRANSPLANTATION

Zybleva S.V., Zyblev S.L.

Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Pepublic of Belarus

Abstract. Laboratory tests are significant for the detection of immunopathological disorders in kidney transplantation. As a rule, the choice of tests is carried out individually and is based on the clinical characteristics and the presumptive diagnosis. Most often, in patients after kidney transplantation, atypical and not always standard changes in immunological parameters are observed, which is associated with a combination of many factors leading to different immune responses. All this served as the basis for typing immunological parameters in renal allograft recipients using one of the methods of system analysis – cluster analysis. Kidney transplantation was performed in 104 recipients. Immunological examination was performed on the 360th day after the surgery. The following groups of recipients were identified: KTR1 – with primary graft function on the 7th day and satisfactory graft function within a year, KTR2 – with renal graft dysfunction on the 7th day and within a year. By means of cluster analysis, immunotypes of regulatory complexes were detected and characterized in various courses of the post-transplant period. To assess the immune response in allogeneic kidney transplantation, a set of immune cells with a phenotype should be determined: $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$, $CD3^+CD4^-CD8^-$, $CD3^+CD4^+CD69^+$, $CD3^+CD16^+CD56^+$, $CD19^+CD5^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$, $CD3^+CD8^+CD69^+$, $CD3^+CD4^+CD8^+$, $CD3^+CD8^+CD38^+$, $CD19^+CD86^+$, $CD19^+IgD^+CD27^-$, $CD3^-CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD38^+$, $CD14^{+low}CD86^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$. According to our data, the immunological cellular composition of the central point of clustering of the tolerogenic immunological complex is represented by regulatory $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$ and double-negative $CD3^+CD4^-CD8^-$ T lymphocytes. The composition of the central point of clustering of the hyperergic immunological complex is represented by the cooperation of $CD3^+CD8^+CD69^+$ and $CD3^+CD4^+CD8^+$ cells. The structure of the tolerogenic immune response in patients after kidney transplantation is based on intercellular interactions, which has a hierarchical system, the basis of which is represented by the cooperation of regulatory cells $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$, $CD3^+CD4^-CD8^-$, $CD3^+CD4^+CD69^+$, $CD3^+CD16^+CD56^+$, $CD19^+CD5^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$. The hyperergic variant of the immune response in renal allograft transplantation is based on excessive activation of the following links of the immune response: $CD3^+CD8^+CD38^+$, $CD19^+CD86^+$, $CD3^+CD38^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$, $CD19^+IgD^+CD27^-$, $CD3^-CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD8^+CD69^+$ and $CD14^{+low}CD86^+$. The detected immunotypes will make it possible to implement a personalized approach to the diagnosis and treatment of patients with various types of immune response in kidney transplantation.

Keywords: tolerogenic, hyperergic, immunotype, kidney transplantation, cluster analysis

Введение

В современной медицине персонализированный подход основывается на индивидуальных молекулярно-генетических и морфофункциональных особенностях пациента и рассматривается как приоритетная стратегия диагностики, лечения и профилактики болезней [4, 14, 24]. Виды иммунного реагирования фенотипически гетерогенны и базируются на взаимодействии различных генетических и эпигенетических факторов. В целом иммунотипы могут определяться как кластеры клинико-лабораторных признаков заболевания и индивидуальных особенностей ответа на терапевтическое воздействие [11, 13, 22].

Как известно, варианты дисфункции иммунной системы могут проявляться гипо- и/или гиперреактивационными процессами, являясь ключевым фактором развития заболевания [5, 6]. При этом гипореактивность может быть связана как с количественной, так и функциональной недостаточностью компонентов иммунитета, а также с отсутствием необходимой активации при контакте с патогеном. В свою очередь возникновение гиперактивационных процессов коррелирует с повышением количественно-функциональных параметров эффекторного звена иммунитета и/или с недостаточностью супрессорных факторов [10]. Следовательно, именно дисфункциональные расстройства являются основой развития инфекционной, онкологической и аутоиммунной патологий, аллергических заболеваний, трансплантационного иммунного ответа и части других хронических заболеваний [5, 6].

Для выявления иммунопатологических нарушений при трансплантации почки важное значение принадлежит лабораторным исследо-

ваниям, основной целью которых является выявление или подтверждение иммунологических нарушений. Как правило, выбор тестов проводится индивидуально и строится на основании клинических особенностей и предполагаемого диагноза [2, 3, 7]. Чаще всего у пациентов после трансплантации почки фиксируются нетипичные и не всегда стандартные изменения иммунологических параметров, что связано с совокупностью многих факторов, приводящих к различным по характеру реагирования иммунным реакциям. Все это послужило основанием для проведения типирования иммунологических показателей у реципиентов почечного аллотрансплантата с помощью одного из методов системного анализа – кластерного анализа.

Цель – выделить с помощью кластерного анализа и охарактеризовать иммунотипы регуляторных комплексов при различных вариантах течения посттрансплантационного периода.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе ГУ «Республиканский научно практический центр радиационной медицины и экологии человека» г. Гомеля. В исследовании участвовало 104 реципиента почечного трансплантата с терминальной стадией хронической болезни почек, которым выполнена трансплантация аллогенной почки в хирургическом отделении (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Клиническое исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 года и одобрено комитетом по этике ГУ «РНПЦ РМиЭЧ» (протокол № 5 от 02.12.2013).

Были сформированы две группы реципиентов почечного трансплантата. Первая группа РПТ1 состояла из 76 человек с первичной функцией почечного трансплантата на 7-е сутки и удовлетворительной функцией трансплантата в течение года. Мужчин в данной группе было 49 (64,47%), женщин 27 (35,53%). Возраст в изучаемой группе был от 19 до 70 лет, средний возраст составил 46,89±1,37 лет (44,16-49,63). До трансплантации 76,32% пациентов находилось на программном гемодиализе и 23,68% на перитонеальном диализе. Среднее время нахождения на диализе составило 33,72 месяца (29,19-38,25). По продолжительности диализа отмечалось следующее распределение: 5 и более лет составило 33 пациента (16,58%), от 1 года до 5 лет – 117 (58,79%) и до 1 года – 46 (23,12%), додиализная стадия – 3 (1,51%). Показатели креатинина до проведения трансплантации почки составил 649,50 мкмоль/л (540,00-923,00), мочевины 20,10 ммоль/л (17,10-23,00), цистацина С 5,94 мг/л (3,71-6,22). Среднее время холодовой ишемии было 11,87±0,43 час. Отрицательный результат прямой перекрестной пробы (cross-match) наблюдался в 100% случаев.

Вторая группа реципиентов почечного трансплантата (РПТ2) состояла из 28 человек с первичной дисфункцией почечного трансплантата на 7-е сутки и дисфункцией трансплантата через год. Мужчин в данной группе было 22 (78,57%), женщин 6 (21,43%). Возраст в изучаемой группе был от 24 до 71 лет, средний возраст составил 45,04 ±2,34 лет (40,44-49,63). До трансплантации 82,14% пациентов находилось на программном гемодиализе и 17,86% на перитонеальном диализе. Среднее время нахождения на диализе составило 32,21 месяца (16,02-48,41). По продолжительности диализа отмечалось следующее распределение: 5 и более лет составило 2 пациента (7,14%), от 1 года до 5 лет – 17 (60,71%) и до 1 года – 9 (32,14%). Показатели креатинина до проведения трансплантации почки составил 818,50 мкмоль/л (615,0-1005,0), мочевины 15,80 ммоль/л (11,50-27,55), цистацина С 6,47 мг/л (6,24-6,54). Среднее время холодовой ишемии было 13,38±0,87 час. Отрицательный результат прямой перекрестной пробы (cross-match) наблюдался в 100% случаев. В качестве группы сравнения (ГС) участвовало 90 практически здоровых пациентов.

Все пациенты получали иммуносупрессивную терапию согласно клиническим протоколам трансплантации почки (Приложение 1 к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 05.01.2010 № 6). Пациенты получали индукционную терапию моноклональными анти-CD25-антителами. Схема иммуносупрессивной терапии включала: ингибиторы кальциневрина в сочетании с микофенолатом (89,47% в группе РПТ1 и 71,43% в группе РПТ2) или азатиоприном (РПТ1 – 11,84% и РПТ2 – 28,57%), а также кортикостероиды. Моноклональные анти-CD25-антитела вводились дважды в дозе 20 мг в 0-е и 4-е сутки послеоперационного периода. Причем, 73,68% пациентов в группе РПТ1 и 78,57% в группе РПТ2 получали в качестве ингибитора кальциневрина циклоспорин, а 26,32% и 21,43% соответственно – такролимус.

Иммунологическое исследование, включающие определение более 40 субпопуляций лейкоцитов выполняли на 360-е посттрансплантационные сутки. Для определения экспрессии поверхностных маркеров лимфоцитов методом проточной цитометрии проводили пробоподготовку по безотмывочной технологии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter и BD, США) CD4 PC7, CD8 FITC, CD3 PC5.5, CD3 FITC, CD45 PerCP, CD19 APC, $CD56^{+}$ CD16 PE, CD3 PC5.5, HLA-DR APC, CD38 PE, CD4 FITC, CD3 PC5.5, CD8 APC, CD69 PE, CD127 PE, CD25 APC CD154 PE, CD3

APC-AF750, IgD FITC, CD27 PC5.5, CD5 APC-AF750, CD40PE, CD86 PE, CD14 PC7, CD64 FITC, CD86 PE LIN PE, CD11c PC5, CD123 PC7, Anti-HLADR APC-AF750 в объемах, рекомендуемых фирмой-производителем.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ Statistica 10,0. Описательная статистика качественных признаков представлена абсолютными и относительными частотами, а количественных признаков в формате: среднее [95% доверительный интервал] – M [Confidence Interval -95%; +95%] и медиана (интерквартильный размах) – Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$). Для определения различий между группами по уровням количественных признаков использовали непараметрические критерии (Mann-Whitney U Test). Определение связи между показателями осуществляли с использованием ранговой корреляции Спирмана (Spearman Rank Order Correlations). Для типирования по классам реципиентов почечного трансплантата использовали метод кластерного анализа. Перед проведением кластерного анализа осуществлена стандартизация данных. Число кластеров определялось при иерархической классификации путем проведения объединения, дающего минимальное приращение внутригрупповой суммы квадратов отклонений (метод Варда). В качестве меры сходства был выбран метод Манхэттенского расстояния.

Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали равным и менее 0,05.

Результаты

Выявлено, что ряд показателей имели статистически достоверные различия между группами, при этом в группе РПТ1 значения части показателей преобладали, а некоторых были ниже чем в группе РПТ2, что носило адаптационный характер и обеспечило благоприятное течение посттрансплантационного периода (табл. 1).

Учитывая разнородность субпопуляций лейкоцитов для оценки их взаимодействия, проведена попытка объединения их в группы.

Результат иерархической кластеризации иммунофенотипов в ГС, группах РПТ1 и РПТ2 представлены на рисунках 1, 2 и 3.

Из представленных дендрограмм следует, что статистически значимо различающиеся в группе сравнения и группах РПТ субпопуляции лейкоцитов образовали три основных кластера, имеющих неоднородные составы в группах с различными вариантами течения посттрансплантационного периода.

Исходя из полученных кластерных комбинаций можно проанализировать характер взаимодействия и особенности формирования подгрупп субпопуляций лейкоцитов. Так, в группе сравнения, РПТ1 и РПТ2 в составе второго кластера находятся три субпопуляции клеток $CD19^+CD5^+$, $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$ и $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$. В состав этого кластера в группе РПТ1 относительно ГС оказались добавлены субпопуляции $CD3^+CD4^+CD69^+$, $CD3^+CD4^-CD8^-$ и $CD3^+CD16^+CD56^+$. В группе РПТ2 в состав второго кластера дополнительно включились активированные Т-хелперы $CD3^+CD4^+HLA\text{-}DR^+$ и моноциты $CD14^{+low}CD64^+$.

Сравнив структуры клеточных кластеров пациентов с различными вариантами течения посттрансплантационного периода выявили, что 2 кластер группы РПТ1 характеризовался субпопуляционным составом клеток, содержание которых в периферической крови было статистически достоверно выше чем в группе РПТ2 (табл. 1). Центры кластеров с минимальным расстоянием между субпопуляциями лимфоцитов в изучаемых группах представлены в таблице 2.

Данные, приведенные в таблице 2, отражают центральные, наиболее сильные межклеточные кооперации в группах, с последующим включением в кластеры субпопуляций клеток с меньшим характером взаимного влияния. Выявлено, что центральным звеном иммунного ответа при благоприятном течении посттрансплантационного периода является взаимодействие таких клеток, как $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$ регуляторных и $CD3^+CD4^-CD8^-$ даблнегативных Т-лимфоцитов. В последующем к данному комплексу добавляется блок из $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$ и $CD19^+CD5^+$ (linkage distance 21,35), формируя центральный блок. На следующем этапе к центральному блоку подключается субпопуляция $CD3^+CD4^+CD69^+$ (linkage distance 28,14) и следующим этапом является формирование полного кластера 1 с включением в него NKT-лимфоцитов $CD3^+CD16^+CD56^+$ (linkage distance 42,00).

Состав центральной точки кластеризации иммунологических показателей при хронической дисфункции почечного трансплантата по нашим данным представлен двумя основными блоками с примерно одинаковым linkage distance: $CD3^+CD8^+CD69^+$ и $CD3^+CD4^+CD8^+$ клетки (linkage distance 9,35) и $CD3^+CD8^+CD38^+$ и $CD19^+CD86^+$ (linkage distance 10,20). Затем подключаются комплексы $CD19^+IgD^+CD27^-$ и $CD3^-CD16^+CD56^+$ (linkage distance 10,85), а так же $CD3^+CD38^+$, $CD14^{+low}CD86^+$ и $CD14^{+mid/high}CD86^+$ (linkage distance 10,86). Субпопуляции $CD3^+CD4^+CD38^+$ и $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$ подключаются к вышеуказанным блокам в по-

следнюю очередь (linkage distance 16,00 и 20,60 соответственно).

Применив корреляционный анализ Спирмана с учетом прямой или обратной связи с уровнем сывороточного креатинина из полученных кластерных кооперации нами был выделен толерогенный иммунологический комплекс клеток, сформировавшийся в отдельный кластер в группе РПТ1 и имеющий статистически значимую отрицательную корреляционную связь с уровнем креатинина через год после операции у реципиентов почечного трансплантата. Также был определен гиперергический иммунологический комплекс, преобладающий в группе РПТ2, состоящий из представителей 2 и 3 кластеров и имеющий положительную корреляционную связь с сывороточным креатинином (табл. 3).

ТАБЛИЦА 1. РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГРУПП РПТ1 И РПТ2

TABLE 1. RESULTS OF A COMPARATIVE ANALYSIS OF IMMUNOLOGICAL INDICATORS OF THE KTR1 AND KTR2 GROUPS

Иммунологические показатели Immunological indicators	**U-критерий Манна–Уитни** Mann–Whitney U test	**Z**	**Уровень значимости p** Significance level p	**Сравнение групп** Comparison of groups
$CD3^+CD8^+CD69^+$	38,00	-6,29	< 0,0001	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD19^+IgD^-CD27^-$	138,00	-5,03	< 0,0001	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD14^{+low}CD86^+$	112,50	-4,93	< 0,0001	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD3^-CD16^+CD56^+$	198,00	-4,51	< 0,0001	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD3^+CD38^+$	251,00	-3,48	0,001	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD3^+CD4^+CD8^+$	280,50	-3,36	0,001	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD19^+CD86^+$	150,00	-2,89	0,004	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$	342,00	-2,64	0,008	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD3^+CD4^+CD38^+$	337,00	-2,45	0,014	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD3^+CD8^+CD38^+$	334,00	-2,33	0,020	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD14^{+mid/high}CD86^+$	346,00	-1,98	0,047	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$CD14^{+low}CD64^+$	306,00	2,49	0,013	**РПТ2 > РПТ1** KTR2 > KTR1
$LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$	342,00	2,64	0,008	**РПТ1 > РПТ2** KTR1 > KTR2
$CD3^+CD4^+HLA\text{-}DR^+$	191,00	3,01	0,003	**РПТ1 > РПТ2** KTR1 > KTR2
$CD19^+CD5^+$	287,00	3,05	0,002	**РПТ1 > РПТ2** KTR1 > KTR2
$CD3^+CD16^+CD56^+$	325,00	3,28	0,001	**РПТ1 > РПТ2** KTR1 > KTR2
$CD3^+CD4^-CD8^-$	281,00	3,57	< 0,0001	**РПТ1 > РПТ2** KTR1 > KTR2
$CD3^+CD4^+CD69^+$	173,00	4,37	< 0,0001	**РПТ1 > РПТ2** KTR1 > KTR2
$CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$	190,50	4,50	< 0,0001	**РПТ1 > РПТ2** KTR1 > KTR2

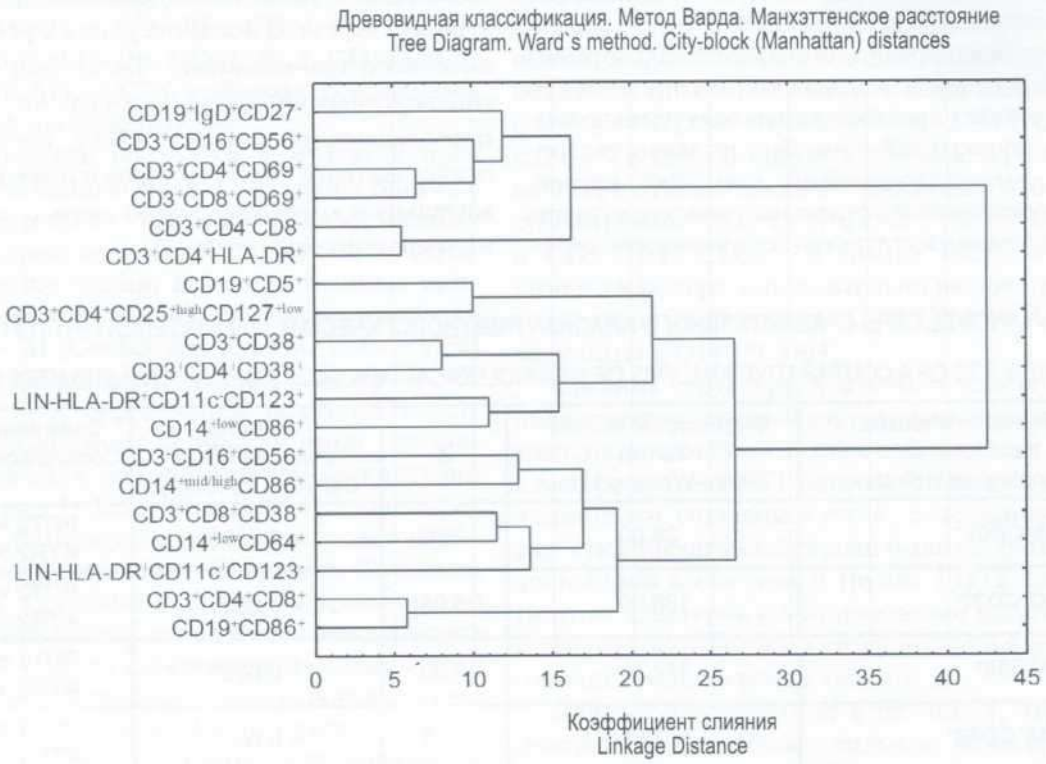


Рисунок 1. Дендрограмма субпопуляций лейкоцитов у пациентов группы сравнения

Figure 1. Dendrogram of leukocyte subpopulations in patients from the comparison group

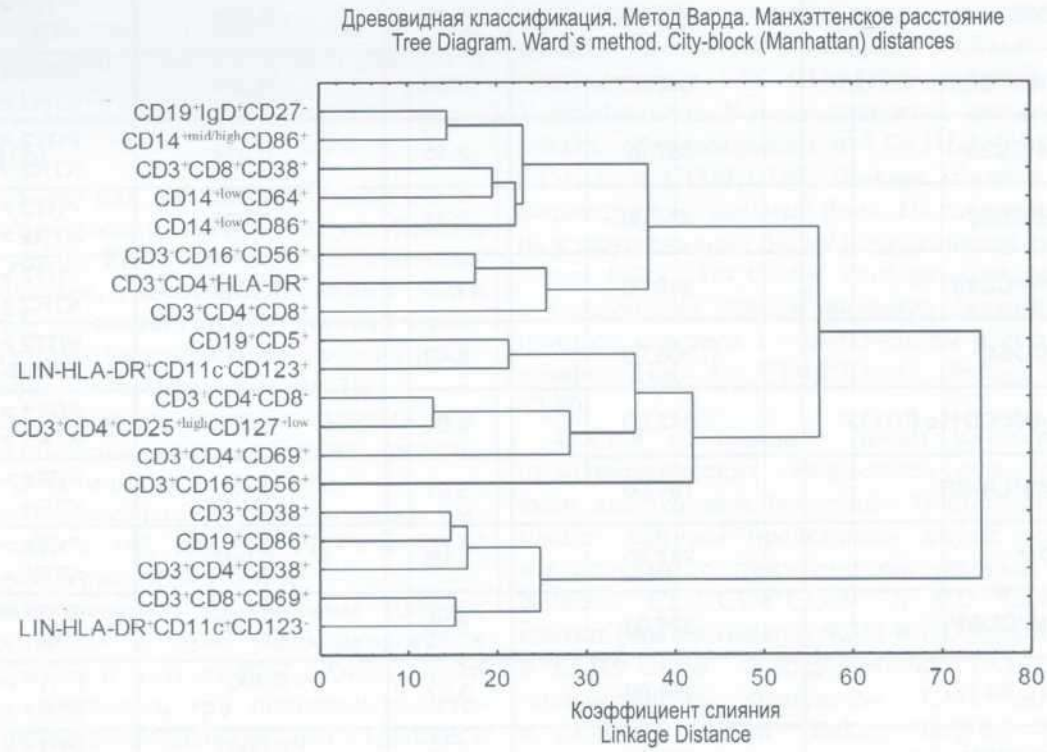


Рисунок 2. Дендрограмма субпопуляций лейкоцитов у реципиентов почечного трансплантата (РПТ1) на 360-е сутки

Figure 2. Dendrogram of leukocyte subpopulations in kidney transplant recipients (KTR1) on the 360th day

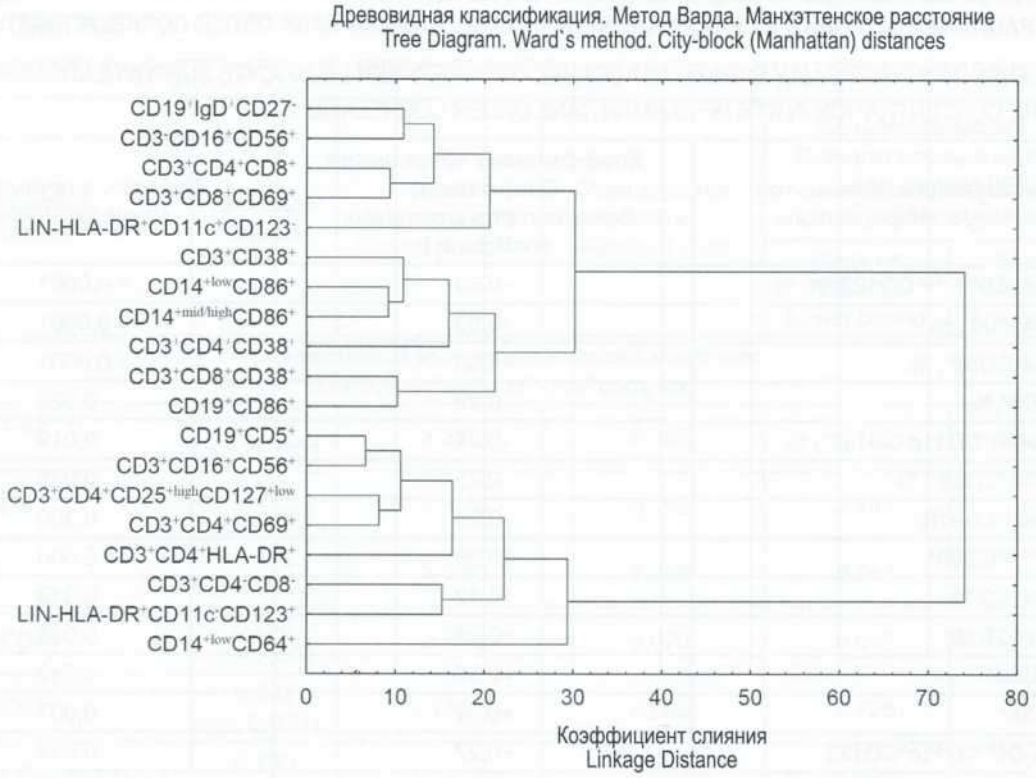


Рисунок 3. Дендрограмма субпопуляций лейкоцитов у реципиентов почечного трансплантата (РПТ2) на 360-е сутки

Figure 3. Dendrogram of leukocyte subpopulations in kidney transplant recipients (KTR2) on the 360th day

ТАБЛИЦА 2. СУБПОПУЛЯЦИОННЫЕ СОСТАВЫ ЦЕНТРОВ КЛАСТЕРОВ ГРУПП РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА И ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ

TABLE 2. SUBPOPULATION COMPOSITIONS OF THE CLUSTER CENTERS IN THE GROUPS OF KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS AND THE COMPARISON GROUP

Кластер Cluster	**ГС** CG		**РПТ1** KTR1		**РПТ2** KTR2	
	Объект кластера Cluster object	**Коэффициент слияния** Linkage distance	**Объект кластера** Cluster object	**Коэффициент слияния** Linkage distance	**Объект кластера** Cluster object	**Коэффициент слияния** Linkage distance
1	$CD3^+CD4^-CD8^-$	5,55	$CD19^+IgD^+CD27^-$	14,42	$CD3^+CD4^+CD8^+$	9,35
	$CD3^+CD4^+HLA\text{-}DR^+$		$CD14^{+mid/high}CD86^+$		$CD3^+CD8^+CD69^+$	
2	$CD3^+CD38^+$	8,06	$CD3^+CD4^-CD8^-$	12,79	$CD19^+CD5^+$	6,64
	$CD3^+CD4^+CD38^+$		$CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$		$CD3^+CD16^+CD56^+$	
3	$CD3^+CD4^+CD8^+$	6,47	$CD3^+CD38^+$	14,72	$CD14^{+low}CD86^+$	19,18
	$CD19^+CD86^+$		$CD19^+CD86^+$		$CD14^{+mid/high-}CD86^+$	

ТАБЛИЦА 3. УРОВЕНЬ СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМОЙ КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ СУБПОПУЛЯЦИЯМИ ЛЕЙКОЦИТОВ И КОНЦЕНТРАЦИЕЙ КРЕАТИНИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ РПТ (SPEARMAN RANK ORDER CORRELATIONS)

TABLE 3. LEVEL OF STATISTICALLY SIGNIFICANT CORRELATION BETWEEN LEUKOCYTE SUBPOPULATIONS AND SERUM CREATININE CONCENTRATION IN KTR (SPEARMAN RANK ORDER CORRELATIONS)

Субпопуляции лейкоцитов Leukocyte subpopulations	**Коэффициент корреляции Спирмена, r_s** Spearman's rank correlation coefficient, r_s	**Уровень значимости p** Significance level p
$CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$, %	-0,50	< 0,0001
$CD3^+CD4^-CD8^-$, %	-0,53	< 0,0001
$CD3^+CD4^+CD69^+$, %	-0,60	< 0,0001
$CD19^+CD5^+$,%	-0,29	0,022
$LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$, %	-0,27	0,019
$CD3^+CD16^+CD56^+$, %	-0,25	0,025
$CD3^+CD4^+HLA\text{-}DR^+$	-0,25	0,300
$CD14^{+mid/high}CD86^+$	+0,08	0,500
$CD3^+CD4^+CD38^+$	+0,12	0,319
$CD3^+CD8^+CD38^+$	+0,28	0,016
$CD19^+CD86^+$	+0,36	0,010
$CD3^+CD38^+$	+0,37	0,001
$LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$	+0,27	0,019
$CD19^+IgD^+CD27^-$	+0,40	0,001
$CD3^-CD16^+CD56^+$	+0,32	0,005
$CD3^+CD8^+CD69^+$	+0,57	< 0,0001
$CD14^{+low}CD86^+$	+0,38	0,001
$CD3^+CD4^+CD8^+$, %	+0,30	0,009

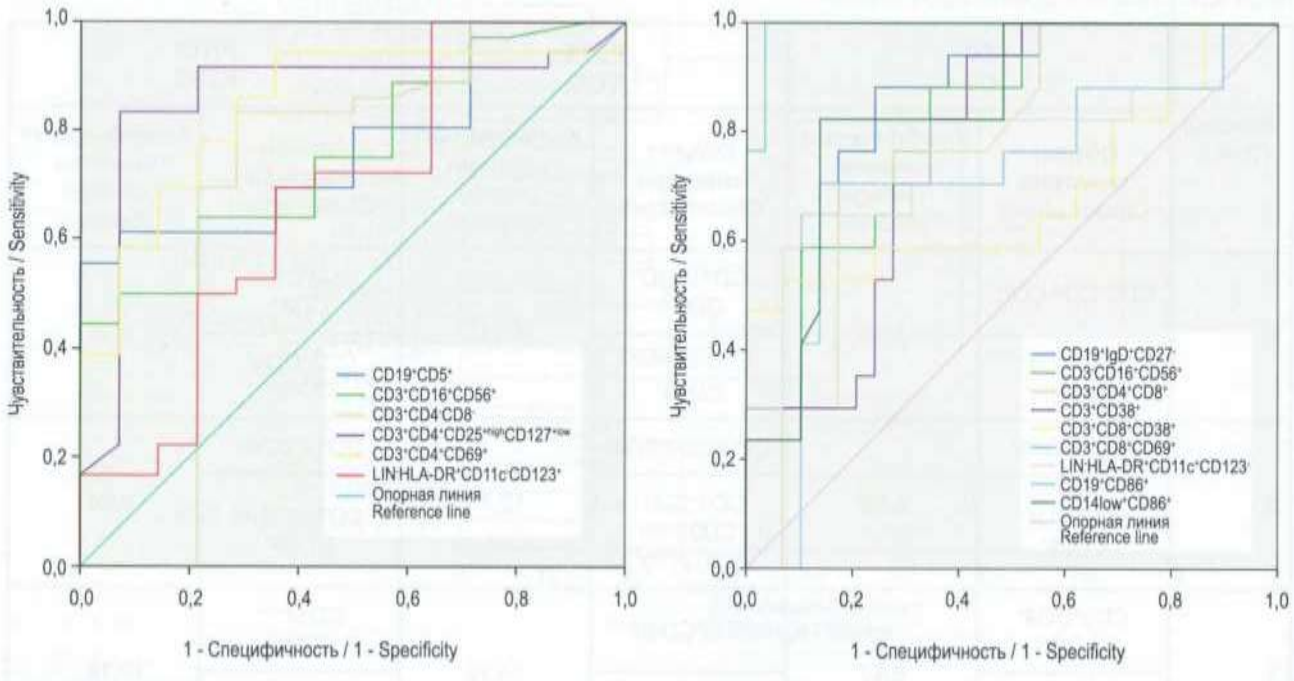


Рисунок 4. Диагностические характеристики субпопуляций лейкоцитов реципиентов почечного аллотрансплантата

Figure 4. Diagnostic characteristics of leukocyte subpopulations in renal allograft recipients

ТАБЛИЦА 4. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛЕЙКОЦИТОВ РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА

TABLE 4. DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS OF LEUKOCYTE SUBPOPULATIONS IN RENAL ALLOGRAFT RECIPIENTS

Показатель Indicator	**Площадь** Square	**Точка отсечения, %** Cut-off point, %	**Стандартная ошибка** Standard error	**Асимптотический 95% Доверительный интервал** Asymptotic 95% Confidence interval	
				Нижняя граница Lower bound	**Верхняя граница** Upper bound
Толерогенный иммунологический комплекс Tolerogenic immunological complex					
$CD3^+CD4^+CD25^{+high-}CD127^{+low}$	0,859 p < 0,0001	≥ 3,90	0,065	0,732	0,986
$CD3^+CD4^-CD8^-$	0,667 p = 0,028	≥ 3,78	0,105	0,432	0,901
$CD19^+CD5^+$	0,772 p = 0,003	≥ 6,30	0,066	0,642	0,902
$CD3^+CD16^+CD56^+$	0,756 p = 0,005	≥ 7,50	0,070	0,619	0,893
$CD3^+CD4^+CD69^+$	0,843 p < 0,0001	≥ 13,80	0,060	0,725	0,962
$LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$	0,700 p = 0,047	≥ 12,17	0,091	0,497	0,853
Гиперергический иммунологический комплекс Hyperergic immunological complex					
$CD19^+IgD^+CD27^-$	0,854 p < 0,0001	< 61,50	0,056	0,744	0,964
$CD3^-CD16^+CD56^+$	0,822 p < 0,0001	< 16,30	0,061	0,702	0,941
$CD3^+CD8^+CD38^+$	0,684 p = 0,039	< 37,20	0,092	0,503	0,864
$CD3^+CD38^+$	0,777 p = 0,002	< 23,70	0,068	0,644	0,909
$CD3^+CD8^+CD69^+$	0,992 p = 0,0001	< 17,18	0,009	0,973	1,000
$CD19^+CD86^+$	0,710 p = 0,019	< 13,08	0,085	0,543	0,877
$CD14^{+low}CD86^+$	0,841 p = 0,0001	< 92,30	0,060	0,724	0,957
$LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$	0,779 p = 0,002	< 87,20	0,076	0,629	0,928
$CD3^+CD4^+CD8^+$	0,754 p = 0,001	< 1,713	0,058	0,640	0,868

Далее, с использованием ROC-анализа, выявлены диагностические характеристики толерогенного и гиперергического иммунологических комплексов (табл. 4, рис. 4).

Обсуждение

Создаваемое под влиянием иммуносупрессивной терапии состояние относительного иммунодефицита помимо профилактики иммунологической агрессии, направленной на чужеродные антигены, также препятствует активации естественных механизмов выработки толерантности. Постепенное снижение доз иммуносупрессантов реципрокно будет способствовать активации естественных толерогенных механизмов [1]. Возможность использования стратегии минимиза-

ции иммуносупрессивной терапии определяется особенностями врожденной и адаптивной систем иммунитета каждого пациента. При оценке трансплантационной толерантности изучались многочисленные регуляторные группы, способные подавлять отторжение аллотрансплантата, однако в комплексе их адаптационные возможности так и не были четко продемонстрированы.

Использованная методика кластерного анализа позволяет по особенностям распределения исследуемых показателей выделять группы иммунологических параметров, имеющих схожую направленность действия и составляющих толерогенный, либо гиперреактивный потенциал иммунного ответа [8, 18, 20, 23].

По представлению ряда авторов, образование отличных друг от друга кластеров, применительно к медицинским данным, можно считать функциональной стадией организации гомеостаза [8, 9]. Одним из основных следствий образования кластеров является зависимость характеристик элемента от расстояния до центра кластеризации (т.е. дистанции от центра кластера – linkage distance) [8, 31]. Центральная точка кластеризации, вокруг которой возникает кооперация иных факторов с целью улучшить свои характеристики, является оптимальной по своим составляющим для компенсации и адаптации иммунологических реакций при совокупном воздействии аллоантигенной нагрузки и иммуносупрессивной терапии [8, 31].

На этапе формирования кластерных центров, все представленные в таблице 2 субпопуляции лимфоцитов, также были отнесены к регуляторному пулу клеток рядом авторов [12, 15, 16, 17, 19, 21, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32]. Существуют данные, что NKT-лимфоциты угнетают активированные (аутореактивные) Т-лимфоциты, а данный процесс ассоциирован с продукцией IL-4 [21]. Кроме того, в ряде публикаций даблнегативные Т-лимфоциты рассматриваются как субпопуляции, обладающие способностью подавлять антиген-специфические ауто-, алло- или ксенореактивные CD8 Т-лимфоциты [12, 15, 16, 17, 19, 29, 30, 32]. Существует ряд исследований, описывающих CD25-регуляторные клетки, которые в определенном микроокружении цитокинов, толерогенных антигенпредставляющих клеток или иммуносупрессивных лекарственных средств способны подавлять иммунный ответ на собственные и чужеродные антигены [25, 26]. Также описана разнонаправленная функция дендритных клеток в трансплантологии, при этом субпопуляции, способствующие приживлению трансплантата, рассматриваются как толерогенные, а индуцирующие отторжение донорского органа – как иммуногенные [25, 27].

Баланс между эффекторными и толеризующими реакциями клеток врожденного и адаптивного иммунитета следует признать перспективной и патогенетически обоснованной стратегией предотвращения негативного исхода при трансплантации почки. Проведенный анализ позволил объективизировать и систематизировать полученные ранее данные, сформировав представление о наличии регуляторных клеточных сетей, имеющих синергический потенциал при трансплантации почки.

По нашим данным иммунологический клеточный состав центральной точки кластеризации толерогенного иммунологического комплекса представлен $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$ регуляторными и $CD3^+CD4^-CD8^-$ даблнегативными Т-лимфоцитами. Состав центральной точки кластеризации гиперергического иммунологического комплекса представлен кооперацией $CD3^+CD8^+CD69^+$ и $CD3^+CD4^+CD8^+$ клеток. Разработанные иммунологические комплексы будут способствовать объективной оценке индивидуальных возможностей выработки пациентом толерантности к аллоантигенам, что позволит обоснованно применять медикаментозную иммунокоррекцию с целью продления срока жизни, как трансплантированного органа, так и пациента.

Выводы

1. В результате проведенного исследования разработана система оценки иммунного статуса реципиента почечного трансплантата, обеспечивающая персонифицированный мониторинг, анализ и прогнозирование течения посттрансплантационного периода. Описаны виды регуляторных клеточных сетей и их синергический потенциал при трансплантации почки.

2. Для оценки иммунного ответа при аллогенной трансплантации почки следует определять совокупность иммунных клеток, имеющих фенотип: $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$, $CD3^+CD4^-CD8^-$, $CD3^+CD4^+CD69^+$, $CD3^+CD16^+CD56^+$, $CD19^+CD5^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$, $CD3^+CD8^+CD69^+$, $CD3^+CD4^+CD8^+$, $CD3^+CD8^+CD38^+$, $CD19^+CD86^+$, $CD19^+IgD^+CD27^-$, $CD3^-CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD38^+$, $CD14^{+low}CD86^+$, $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$.

3. В основе толерогенного иммунологического комплекса у пациентов после трансплантации почки лежат межклеточные взаимодействия, имеющие иерархическую систему, основа которой представлена кооперацией клеток $CD3^+CD4^+CD25^{+high}CD127^{+low}$, $CD3^+CD4^-CD8^-$, $CD3^+CD4^+CD69^+$, $CD3^+CD16^+CD56^+$, $CD19^+CD5^+$ и $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^-CD123^+$.

4. В основе гиперергического иммунологического комплекса при почечной аллотрансплантации лежат избыточно активированные ком-

поненты иммунного ответа: $CD3^+CD8^+CD69^+$, $CD3^+CD4^+CD8^+$, $CD3^+CD8^+CD38^+$, $CD19^+CD86^+$, $CD19^+IgD^+CD27^-$, $CD3^-CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD38^+$, $CD14^{+low}CD86^+$ и $LIN^-HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$ клетки.

5. Выделенные иммунотипы позволят осуществить персонифицированный подход к диагностике и лечению пациентов с различными вариантами иммунного реагирования при трансплантации почки.

Список литературы / References

1. Артамонов С.Д., Великий Д.А., Онищенко Н.А., Башкина Л.В., Никольская А.О., Крашенинников М.Е., Иванов И.М. Баланс взаимодействия эффекторных и регуляторных клеток памяти как основа выработки устойчивой иммунной толерантности при пересадке органов (Анализ проблемы на примере трансплантации печени) // Вестник трансплантологии и искусственных органов, 2012. Т. 14, № 2. С. 86-97. [Artamonov S.D., Velikiy D.A., Onischenko N.A., Bashkina L.V., Nikolskaya A.O., Krasheninnikov M.E., Ivanov I.M. The balance of effectory and regulatory memory cell interactions as a base for producing of steady immune tolerance state after organ transplantation (analysis of problem at the liver transplantation example). *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov = Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs, 2012, Vol. 14, no. 2, pp. 86-97.* (In Russ.)]

2. Борисов А.Г. Кластерный анализ типов иммунных нарушений при инфекционно-воспалительных заболеваниях // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8 (17), № 4. С. 1002-1011. [Borisov A.G. Cluster analysis of types of immune disorders in infectious and inflammatory diseases. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology, 2014, Vol. 8 (17), no. 4, pp. 1002-1011.* (In Russ.)]

3. Борисов А.Г. Клиническая характеристика нарушения функции иммунной системы // Медицинская иммунология, 2013. Т. 15, № 1. С. 45-50. [Borisov A.G. Clinical characterization of functional disorders affecting immune system. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2013, Vol. 15, no. 1, pp. 45-50.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2013-1-45-50.

4. Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Арчаков А.И., Мошковский С.А. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы // Вестник Российской академии медицинских наук, 2012. № 12. С. 4-12. [Dedov I.I., Tyulpakov A.N., Chekhonin V.P., Baklaushev V.P., Archakov A.I., Moshkovskii S.A. Personalized medicine: State-of-the-art and prospects. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences, 2012, no. 12, pp. 4-12.* (In Russ.)].

5. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунопатологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 640 с. [Kovalchuk L.V., Gankovskaya L.V., Meshkova R.Ya. Clinical immunology and allergology with the basics of general immunopathology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2011. 640 p.

6. Козлов В.А., Борисов А.Г., Смирнова С.В., Савченко А.А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений. Новосибирск: Наука, 2009. 274 с. [Kozlov V.A., Borisov A.G., Smirnova S.V., Savchenko A.A. Practical aspects of diagnosis and treatment of immune disorders]. Novosibirsk: Nauka, 2009. 274 p.

7. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунная недостаточность: выявление и лечение. М.: Медицинская книга, 2003. 442 с. [Lebedev K.A., Ponyakina I.D. Immune deficiency: detection and treatment]. Moscow: Meditsinskaya kniga, 2003. 442 p.

8. Сарап П.В., Винник Ю.С., Останин А.А. Формирование кластеров иммунной системы и действие иммунотропных лекарственных средств у пациентов с ургентной хирургической патологией // Российский иммунологический журнал, 2012. Т. 6, № 1. С. 85-92. [Sarap P.V., Vinnik Yu.S., Ostanin A.A. Formation of the immune system clusters and immunoactive medicines action in patients with urgent surgical pathology. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology, 2012, Vol. 6, no. 1, pp. 85-92.* (In Russ.)]

9. Сорокин О.Г., Ушаков И.Б. Возможности и перспективы использования оценки адаптационного потенциала в практической медицине // Экология человека, 2005. № 10. С. 11-17. [Sorokin O.G., Ushakov I.B. Possibilities and perspectives of using evaluation of adaptation potential in practical medicine. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology, 2005, no. 10, pp. 11-17.* (In Russ.)]

10. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. Immunology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 752 p.

11. Akdis C.A., Bachert C., Cingi C., Dykewicz M.S., Hellings P.W., Naclerio R.M., Schleimer R.P., Ledford D. Endotypes and phenotypes of chronic rhinosinusitis: a PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J. Allergy Clin. Immunol., 2013, Vol. 131, no. 6, pp. 1479-1490.*

12. Brandt D., Hedrich C.M. TCRαβ(+)CD3(+)CD4(-)CD8(-) (double negative) T cells in autoimmunity. *Autoimmun. Rev., 2018, Vol. 17, no. 4, pp. 422-430.*

13. Campo P., RodriguezF., Sanchez-Garcia S., Barranco P., Quirce S., Pérez-Francés C., Gómez-Torrijos E., Cárdenas R., Olaguibel J.M., Delgado J. Severe Asthma Workgroup; SEAIC Asthma Committee. Phenotypes and endotypes of uncontrolled severe asthma: new treatments. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol., 2013, Vol. 23, no. 2, pp. 76-88.*

14. Chadwell K. Clinical practice on the horizon: personalized medicine. *Clin. Nurse Spec., 2013, Vol. 27, no. 1, pp. 36-43.*
15. Chen W., Ford M.S., Young K.J., Cybulsky M.I., Zhang L. Role of double-negative regulatory T cells in long-term cardiac xenograft survival. *J. Immunol., 2003, Vol. 170, no. 4, pp. 1846-1853.*
16. Chen W., Zhou D., Torrealba J.R., Waddell T.K., Grant D., Zhang L. Donor lymphocyte infusion induces long-term donor-specific cardiac xenograft survival through activation of recipient double-negative regulatory T cells. *J. Immunol., 2005, Vol. 175, no. 5, pp. 3409-3416.*
17. Ford M.S., Chen W., Wong S., Li C., Vanama R., Elford A.R., Asa S.L., Ohashi P.S., Zhang L. Peptide-activated double-negative T cells can prevent autoimmune type-1 diabetes development. *Eur. J. Immunol., 2007, Vol. 37, no. 8, pp. 2234-2241.*
18. Franceschini J., Jardim J.R., Fernandes A.L., Jamnik S., Santoro I.L. Relationship between the magnitude of symptoms and the quality of life: a cluster analysis of lung cancer patients in Brazil. *J. Bras. Pneumol., 2013, Vol. 39, no. 1, pp. 23-31.*
19. Hillhouse E.E., Beauchamp C., Chabot-Roy G., Dugas V., Lesage S. Interleukin-10 limits the expansion of immunoregulatory CD4 CD8 T cells in autoimmune-prone non-obese diabetic mice. *Immunol. Cell Biol., 2010, Vol. 88, no. 8, pp. 771-780.*
20. Karim R., Mack W.J., Stiller T., Operskalski E., Frederick T., Landay A., Young M.A., Tien P.C., Augenbraun M., Strickler H.D., Kovacs A. Association of HIV clinical disease progression with profiles of early immune activation: results from a cluster analysis approach. *AIDS, 2013, Vol. 27, no. 9, pp. 1473-1481.*
21. Lee P.T., Putnam A., Benlagha K., Teyton L., Gottlieb P.A., Bendelac A. Testing the NKT cell hypothesis of human IDDM pathogenesis. *J. Clin. Invest., 2002, Vol. 110, no. 6, pp. 793-800.*
22. Lin T.Y., Poon A.H., Hamid Q. Asthma phenotypes and endotypes. *Curr. Opin. Pulm. Med., 2013, Vol. 19, no. 1, pp. 18-23.*
23. Marques E.A., Pizarro A.N., Figueiredo P., Mota J., Santos M.P. Modifiable lifestyle behavior patterns, sedentary time and physical activity contexts: a cluster analysis among middle school boys and girls in the SALTA study. *Prev. Med., 2013, Vol. 56, no. 6, pp. 413-415.*
24. Miller D.B., O'Callaghan J.P. Personalized medicine in major depressive disorder – opportunities and pitfalls. *Metabolism, 2013, Vol. 62, Suppl. 1, pp. 34-39.*
25. Morelli A.E., Thomson A.W. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance. *Nat. Rev. Immunol., 2007, Vol. 7, no. 8, pp. 610-621.*
26. Shevach E.M. From vanilla to 28 flavors: Multiple varieties of T regulatory cells. *Immunity, 2006, Vol. 25, pp. 195-201.*
27. Solari M.G., Thomson A.W. Human dendritic cells and transplant outcome. *Transplantation, 2008, Vol. 85, no. 11, pp. 1513-1522.*
28. Stephen P.C. Herman W. Regulatory Cells and Transplantation Tolerance. Transplantation : a subject collection from Cold Spring Harbor perspectives in medicine. Ed. L.A. Turka, Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital, and K.J. Wood, University of Oxford, 2014, pp. 191-209.
29. Voelkl S., Gary R., Mackensen A. Characterization of the immunoregulatory function of human TCR-αβ CD4 CD8 double-negative T cells. *Eur. J. Immunol., 2011, Vol. 41, no. 3, pp. 739-748.*
30. Zhang D., Yang W., Degauque N., Tian Y., Mikita A., Zheng X.X. New differentiation pathway for double-negative regulatory T cells that regulates the magnitude of immune responses. *Blood, 2007, Vol. 109, no. 9, pp. 4071-4079.*
31. Zhang X., Fu M., Xiao J., Hu G. Self-organization of chaos synchronization and pattern formation in coupled chaotic oscillators. *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft. Matter. Phys., 2006, Vol. 74, no. 1, Pt 2, pp. 1520-1522.*
32. Zhang Z., Yang L., Young K., DuTemple B., Zhang L. Identification of a previously unknown antigen-specific regulatory T cell and its mechanism of suppression. *Nat. Med., 2000, Vol. 6, no. 7, pp. 782-789.*

Авторы:

Зыблева С.В. *– к.м.н., врач-иммунолог, ученый секретарь ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь*

Зыблев С.Л. *– к.м.н., доцент, врач-хирург хирургического отделения (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь*

Authors:

Zybleva S.V.*, PhD (Medicine), Immunologist, Academic Secretary, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus*

Zyblev S.L.*, PhD (Medicine), Associate Professor, Surgeon, Transplantation, Endocrine and Reconstructive Surgery Department, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus*

Поступила 25.02.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 25.02.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 81-88
© 2022, СПб РО РААКИ

Оригинальные статьи
Original articles

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 81-88
© 2022, SPb RAACI

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ТЕЧЕНИЯ НАЧАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ ХОРИОИДЕИ ПОСЛЕ ОРГАНОСОХРАННОГО ЛЕЧЕНИЯ, ОСНОВАННАЯ НА КЛИНИКО-МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЯХ

Мякошина Е.Б., Куликова И.Г., Балацкая Н.В., Катаргина Л.А., Саакян С.В.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Меланома хориоидеи – злокачественная опухоль, характеризующаяся ранним метастазированием и неблагоприятным витальным прогнозом. Прогностические показатели развития опухолевого процесса имеют важное значение, зависят от различных факторов и дают возможность оптимизировать лечебные мероприятия. Применение существующих способов и моделей прогнозирования течения увеальной меланомы дают возможность оптимизировать ведение первичных приемов, улучшать консультирование пациентов со злокачественной опухолью с максимальной эффективностью. Однако до настоящего времени роль комплекса клинико-морфометрических и иммунологических показателей в создании прогностической модели неблагоприятного течения начальной меланомы хориоидеи после органосохранного лечения остается не до конца изученной. Цель – создание прогностической модели течения начальной меланомы хориоидеи после органосохранного лечения, основанной на клинико-морфометрических и иммунологических показателях.

Обследования и лечение выполняли 31 пациенту с начальной меланомой хориоидеи – средний возраст 53,7±12,2 года. Для анализа были взяты клинические (возраст, снижение зрения, локализация опухоли, степень пигментации, наличие кровоизлияний, оранжевого пигмента), морфометрические (интра- и субретинальный экссудат и дезорганизация пигмента в ретинальном пигментном эпителии) и иммунологические (уровень провоспалительных, проангиогенных, пролиферативных, вызывающих метастазирование цитокинов в сыворотке крови) параметры. Отбор переменных для включения в модель – оценка значимости различий между группами с хориоретинальным рубцом (n = 14) и остаточной опухолью и/или продолженным ростом (n = 17).

Проведенный многофакторный анализ с условным исключением переменных выявил прогностическую значимость 4 показателей: морфометрического – дезорганизации пигмента в ретинальном пигментном эпителии – Z_1 (r_s = 0,455) и иммунологических – увеличения в сыворотке крови концентрации фактора роста гепатоцитов (HGF) – Z_2 (r_s = 0,377), уровня провоспалительного хемокина RANTES – Z_3 (r_s = 0,362), содержания трансформирующего фактора роста (TGF-2β) – Z_4 (r_s = 0,431).

Адрес для переписки:

Мякошина Елена Борисовна
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ
105062, Россия, Москва,
ул. Садовая-Черногрязская, 14/19.
Тел.: 8 (916) 196-90-30.
E-mail: myakoshina@mail.ru

Address for correspondence:

Myakoshina Elena B.
Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases
105062, Russian Federation, Moscow,
Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19.
Phone: 7 (916) 196-90-30.
E-mail: myakoshina@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Б. Мякошина, И.Г. Куликова, Н.В. Балацкая, Л.А. Катаргина, С.В. Саакян «Прогностическая модель течения начальной меланомы хориоидеи после органосохранного лечения, основанная на клинико-морфометрических и иммунологических показателях» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 81-88.
doi: 10.15789/1563-0625-PMO-2180

© Мякошина Е.Б. и соавт., 2022

For citation:

E.B. Myakoshina, I.G. Kulikova, N.V. Balatskaya, L.A. Katargina, S.V. Saakyan "Predictive model of small choroidal melanoma progression after eye-saving treatment based on clinical, morphometric and immunological parameters", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 81-88.
doi: 10.15789/1563-0625-PMO-2180

DOI: 10.15789/1563-0625-PMO-2180

Вычислили формулу, где P (z) – значение логистической функции, Z – линейная комбинация показателей, b_0 – свободный член (константа), b_i – регрессионные коэффициенты для показателей Z_i.

$$P(z) = \frac{1}{1 + e^{-b_0 - b_1 z_1 - b_2 z_2 - b_3 z_3 - b_4 z_4}}$$

Логистическая функция является монотонно возрастающей и принимает значения от 0 до 1 при любых значениях b и Z [P∈ (0;1)]. Если P(Z) меньше значения отсечения – прогноз – хориоретинальный рубец, больше – остаточная опухоль или продолженный рост. Для модели площадь под ROC-кривой составила 0,891±0,11 – предсказание хорошего качества.

Использование прогностической модели является возможным решением планирования и коррекции тактики лечения больных с начальной меланомой хориоидеи с целью сведения к минимуму осложнений и ошибок, обеспечения контроля лечения.

Ключевые слова: прогностическая модель, начальная меланома хориоидеи, органосохранное лечение, фактор роста гепатоцитов, RANTES, трансформирующий фактор роста

PREDICTIVE MODEL OF SMALL CHOROIDAL MELANOMA PROGRESSION AFTER EYE-SAVING TREATMENT BASED ON CLINICAL, MORPHOMETRIC AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS

Myakoshina E.B., Kulikova I.G., Balatskaya N.V., Katargina L.A., Saakyan S.V.

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Abstract. Choroidal melanoma is a malignant tumor characterized by early metastasis and poor vital prognosis. Prognostic indexes for the tumor development are of importance, depending on various factors and making it possible to optimize therapeutic measures. Usage of present models for prediction of the uveal melanoma course enables optimal management of the patients with a malignant tumor upon primary admission, and to perform maximally efficient counseling. So far, however, a complex of clinical, morphometric and immunological indexes predictive for unfavorable course of initial choroidal melanoma following the eye-saving treatment remains not fully determined. Our purpose was to create a prognostic model for initial choroidal melanoma after eye-saving treatment, basing on clinical, morphometric and immunological parameters.

We have performed examination and treatment of 31 patients with small choroidal melanoma (53.7 to 12.2 years old). To perform the analysis, we used clinical data (age, decreased vision, tumor localization, degree of pigmentation, presence of hemorrhages, orange pigmentation), morphometric indexes (intra- and subretinal exudate and disorganization of pigment of the retinal epithelium) and immunological parameters (serum levels of pro-inflammatory, pro-angiogenic, proliferative, metastasis-causing cytokines). Selection of variables for this model was based on assessment of significant differences between the groups with chorio-retinal scar (n = 14) and residual tumor and/or continued tumor growth (n = 17).

Multivariate analysis with conditional exclusion of variables revealed prognostic significance with four markers: morphometric, i.e., disorganization of the pigment in retinal pigment epithelium – Z_1 (r_s = 0.455); immunological, increased blood serum concentration of hepatocyte growth factor (HGF) – Z_2 (r_s = 0.377); level of pro-inflammatory chemokine RANTES – Z_3 (r_s = 0.362), content of transforming growth factor (TGF-2β) – Z_4 (r_s = 0.431). A formula was calculated where P (z) is the value of the logistic function; Z, linear combination of symptoms; b_0 , intercept (free term), b_i – regression coefficients for parameters Z_i.

$$P(z) = \frac{1}{1 + e^{-b_0 - b_1 z_1 - b_2 z_2 - b_3 z_3 - b_4 z_4}}$$

The logistic function increases monotonically and takes the values from 0 to 1 for any b and Z values [P∈ (0;1)]. If P (Z) is under the cutoff value, chorioretinal scar prognosis is predicted, at the higher values, a residual tumor or continued growth is expected. In ROC analysis, the area under the curve with this model was 0.891±0.11, thus providing good predictive quality.

Usage of the predictive model is a possible solution for planning and correcting treatment strategy in the patients with small choroidal melanoma, in order to minimize complications and errors, and to ensure control of treatment.

Keywords: prognostic model, small choroidal melanoma, eye-saving treatment, hepatocyte growth factor, RANTES, transforming growth factor

Введение

Меланома хориоидеи – злокачественная опухоль, характеризующаяся ранним метастазированием и неблагоприятным витальным прогнозом [5, 11, 19]. Прогностические показатели развития опухолевого процесса имеют важное значение [1], зависят от различных факторов и дают возможность оптимизировать лечебные мероприятия [2].

Применение существующих способов и моделей прогнозирования течения увеальной меланомы дают возможность оптимизировать ведение первичных приемов, улучшать консультирование пациентов со злокачественной опухолью с максимальной эффективностью [3].

Однако до настоящего времени роль комплекса клинико-морфометрических и иммунологических показателей в создании прогностической модели неблагоприятного течения начальной меланомы хориоидеи после органосохранного лечения остается не до конца изученной.

Цель – создание прогностической модели течения начальной меланомы хориоидеи после органосохранного лечения, основанной на клинико-морфометрических и иммунологических показателях.

Материалы и методы

Обследования и органосохранное лечение выполняли 31 пациенту с начальной меланомой хориоидеи, средний возраст которых составил 53,7±12,2 года, в ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России. Стадию опухоли устанавливали в соответствии с классификацией J. Shields [4].

До лечения в комплекс клинико-инструментальных и лабораторных исследований входили спектральная оптическая когерентная томография (SOCT) на спектральном оптическом когерентном томографе (SOCT Copernicus HR, Optopol, Польша) и определение хемоаттрактантных медиаторов в сыворотке крови методом мультиплексного анализа по технологии xMAP (Luminex Corporation, США) в программе xPONENT 3.1 с помощью магнитных флюоресцирующих микросфер и набора для определения концентрации цитокинов и хемокинов Procarta Plex (Austria, eBioscience).

Отбор переменных для создания модели выполняли методом оценки различий между группами с наличием офтальмоскопических и морфометрических признаков хориоретинального рубца (группа 1 – благоприятный прогноз) и остаточной опухоли и/или продолженного роста (группа 2 – неблагоприятный прогноз) с анализом клинико-морфометрических показателей [9] и хемоаттрактантных медиаторов в сыворотке крови до лечения. Для создания модели применяли метод условного исключения. Оценка влияния нескольких показателей на течение опухолевого процесса проводили с помощью бинарной логистической регрессии.

Изучали клинические (возраст, снижение зрения, локализацию опухоли, степень пигментации, наличие кровоизлияний, оранжевого пигмента (рис. 1А, см. 3-ю стр. обложки)) и морфометрические (дезорганизацию пигмента в ретинальном пигментном эпителии и интра- и субретинальный экссудат, проявляющийся в виде кистовидного, диффузного ретинального отека, отслойки нейроэпителия (рис. 1Б, см. 3-ю стр. обложки)) критерии.

В сыворотке крови анализировали содержание цитокинов IL-1β, TNFα, TNFβ, IFNα, IFNβ, IFNγ, GM-CSF, MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, RANTES, GRO-α, IL-31, IL-8, IP-10, IL-1α, IL-2, LIF, IL-6, IL-1ra, IL-22, IL-4, IL-13, IL-12p70, IL-10, IL-5, IL-17A, IL-18, IL-27, IL-23, ITGF-1β, TGF-2β, FGF-2, HGF, SCF, IL-15, PDGF-BB, Eotaxin, NGF-β, BDNF, EGF, IL-7, IL-21, IL-9, VEGF-D, VEGF-A, PIGF-1, SDF-1α.

Применяли программу IBM SPSS Statistics 20, использовали коэффициенты логистической регрессии. Использовали методы χ^2 (Хи-квадрат), корреляционный анализ по Спирмену.

Срок наблюдения – в среднем 3±0,6 года.

Результаты

При формировании обучающей матрицы отобран 31 случай с начальной меланомой хориоидеи (14 глаз с благоприятным течением меланомы хориоидеи (рис. 2А, Б, В, см. 3-ю стр. обложки) и 17 глаз с неблагоприятным течением новообразования (рис. 3А, Б, см. 3-ю стр. обложки)).

Для прогнозирования неблагоприятного течения применяли корреляционный анализ и установлена прямая корреляционная зависимость неблагоприятного течения опухолевого процесса от четырех факторов. Морфометрически подтвержденная дезорганизация пигмента в пигментном эпителии сетчатки в виде гиперрефлективных фокусов умеренной степени – до 5 фокусов (дистрофия) ($r_s = 0,455$) [8], увеличение в сыворотке крови уровня фактора роста гепатоцитов (HGF) выше 100 пг/мл, ($r_s = 0,377$), провоспалительного хемокина RANTES выше 55 пг/мл, ($r_s = 0,362$), увеличение содержания трансформирующего фактора роста (TGF-2β) выше 3900 пг/мл, ($r_s = 0,431$).

$$P(z) = \frac{1}{1 + e^{-b_0 - b_1 z_1 - b_2 z_2 - b_3 z_3 - b_4 z_4}}$$

Рисунок 4. Формула прогноза течения начальной меланомы хориоидеи после органосохранного лечения

Figure 4. Formula for predicting the course of small choroidal melanoma after eye-saving treatment

Вычислили формулу (рис. 4), содержащую величины P (z) (значение логистической функции – ее увеличение характеризует вероятность формирования рубца), Z – линейная комбинация показателей (z_i – известные значения показателей), b_0 – константа, b_i – регрессионные коэффициенты для z_i (b_i – подбираемые коэффициенты модели).

Показатели z_1 – морфометрически подтвержденная дезорганизация пигмента в ретинальном пигментном эпителии сетчатки в виде гиперрефлективных фокусов умеренной степени – до 5 фокусов (дистрофия), z_2 – увеличение уровня HGF в сыворотке крови, z_3 – увеличение уровня RANTES в сыворотке крови, z_4 – увеличение уровня TGF-2β в сыворотке крови.

Логистическая функция имеет значения от 0 до 1 при различных показателях b и Z [P∈ (0;1)]. Если P(Z) меньше определенной цифры, дается прогноз, что у больного с начальной меланомой хориоидеи сформируется хориоретинальный рубец после примененного лечения, а в случае большего значения – дается прогноз о том, что будет сохраняться остаточная опухоль или будет выявлен продолженный рост.

Для исследования прогностических качеств модели строилась ROC-кривая, при этом получено значение отсечения – 0,65, чувствительности – 94%, специфичности – 64 % (рис. 5).

Оценку эффективности модели выполняли по площади под ROC-кривой. Для данной модели площадь под ROC-кривой – 0,891±0,11, что свидетельствовало о предсказании хорошего качества (рис. 6).

Обсуждение

Меланома хориоидеи – злокачественная опухоль, сопровождающаяся ранним метастазированием и неблагоприятным витальным прогнозом [6, 11, 19]. К прогностическим факторам относят возраст пациента, размеры, локализацию опухоли, гистологический тип, склеральную инвазию, эпибульбарный рост, наличие субретинального экссудата, характер ангиогенеза, показатели клеточной пролиферации, состав опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, присутствие генетических аберраций и др. [10, 23].

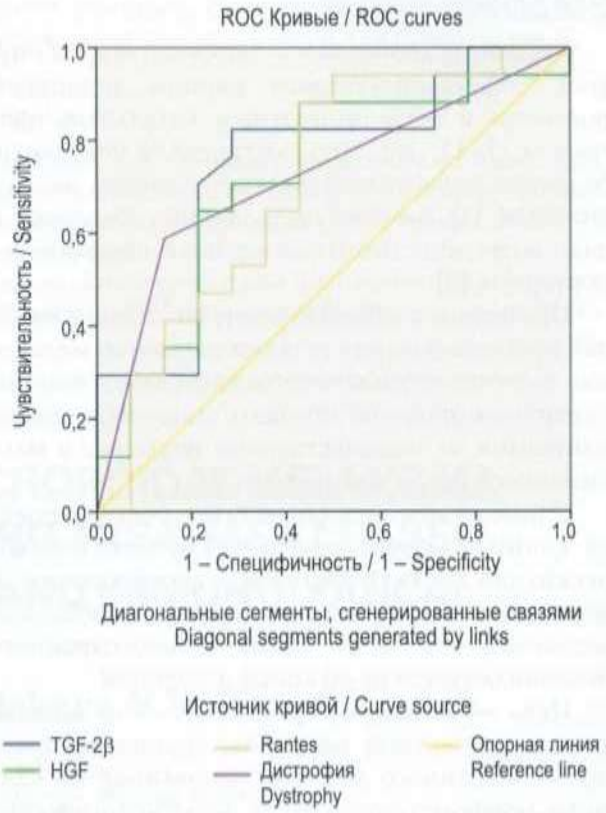


Рисунок 5. Результаты ROC-анализа прогностически значимых показателей для неблагоприятного течения начальной меланомы хориоидеи после органосохранного лечения

Figure 5. Results of ROC-analysis of prognostically significant indicators for the unfavorable course of small choroidal melanoma after eye-saving treatment

Примечание / Note.

Площадь под кривой Area under the curve	
Переменные результата проверки Test result variables	**Область** Range
Дезорганизация пигмента в ретинальном пигментном эпителии с формированием гиперрефлективных фокусов умеренной степени – до 5 фокусов (дистрофия) Disorganization of pigment of retinal pigment epithelium with the formation of moderate degree hyperreflective foci – up to 5 foci (dystrophy)	0,723
Повышение в сыворотке крови уровня HGF Increase in blood serum level of HGF	0,718
Повышение в сыворотке крови уровня RANTES Increase in blood serum level of RANTES	0,710
Повышение в сыворотке крови содержания TGF-2β Increase in blood serum level of TGF-2β	0,750

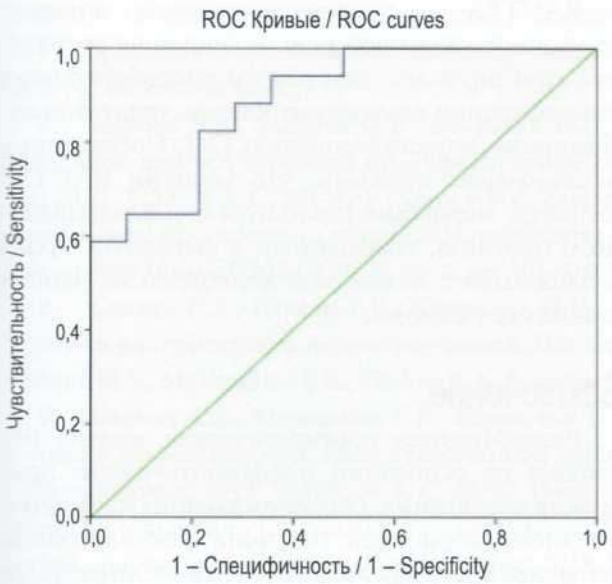


Рисунок 6. Результаты ROC-анализа эффективности прогностической модели течения начальной меланомы хориоидеи после органосохранного лечения

Figure 6. Results of ROC-analysis of the effectiveness of a predictive model of small choroidal melanoma course after eye-saving treatment

Примечание / Note.

		Площадь под кривой Area under the curve		
Область Range	**Стандартная ошибка** Standard error	**Асимптотическая знач. b** Asymptotic value b	**Асимптотический 95% доверительный интервал** Asymptotic 95% confidence interval	
			Нижняя граница Lower limit	**Верхняя граница** Upper limit
0,891	0,056	0,000	0,781	1,000

Пигментный эпителий непосредственно прилежит к опухоли (меланоме), манифестирующей в сосудистой оболочке глаза. Именно в этой области развивается опухоль-ассоциированная эпителиопатия, проявляющаяся пролиферацией, отслойкой, атрофией и метаплазией, наличием твердых и мягких друз в сочетании с базальными ламинарными отложениями в мембране Бруха [16]. Эти явления морфометрически сопровождаются гиперрефлективными фокусами различного размера на уровне всех слоев сетчатки [5].

По мнению Arrigo A. и соавт. (2020) и Schreur V. и соавт. (2018), наличие гиперрефлективных фокусов как на уровне пигментного эпителия, так и в слоях сетчатки можно расценить как морфометрические биомаркеры воспаления при различных патологических состояния глазного дна [12, 22]. Эти явления отмечают и при начальной меланоме [5], что может свидетельствовать о наличии воспалительных процессов, сопровождающих развитие опухоли. Именно этот критерий определен в настоящей работе как наиболее значимый клинико-морфометрический показатель неблагоприятного течения меланомы.

Фактор роста гепатоцитов (HGF) – цитокин, являющийся гликопротеином, вырабатываемым в печени, участвует в регенерации гепатоцитов за счет митогенного действия [7, 21].

HGF обладает способностью усиливать подвижность клеток и их матриксную инвазию через связывание с рецептором плазматической мембраны c-Met и играет важную роль в пролиферации опухолевых клеток, ангиогенезе и метастазировании [14].

Ряд авторов показали, что повышение концентрации HGF в сыворотке крови является плохим прогностическим фактором при раке легких, органов желудочно-кишечного тракта и меланоме [18, 20]. Печень является органом-мишенью при метастазировании увеальной меланомы. Направленное метастазирование в печень, по мнению ряда авторов, обеспечивается усиленной экспрессией клетками меланомы протоонкогена c-Met, мембранного белка, который имеет сродство с HGF. В результате этих взаимодействий клетки увеальной меланомы становятся очень подвижными и инвазивными. Благодаря механизмам хемоаттрактации опухолевые клетки формируют комплексы связывания HGF и C-Met, которые гематогенно распространяются в печень, и, ингибируя апоптоз, формируют метастатический узел (рис. 7) [13].

Собственные исследования показали, что одним из признаков неблагоприятного прогноза при увеальной меланоме оказался трансформирующий фактор роста TGF-2β, продуцирующийся злокачественными новообразованиями, обладающий способностями подавлять иммунитет, усиливать неоангиогенез и метастазирование [15]. Полученные данные согласуются с мнением Esser P. и соавт. (2001), которые в результате иммуногистохимических исследований выявили изучаемый ростовой фактор в ткани опухоли и доказали его влияние на прогрессию меланомы сосудистой оболочки глаза [17].

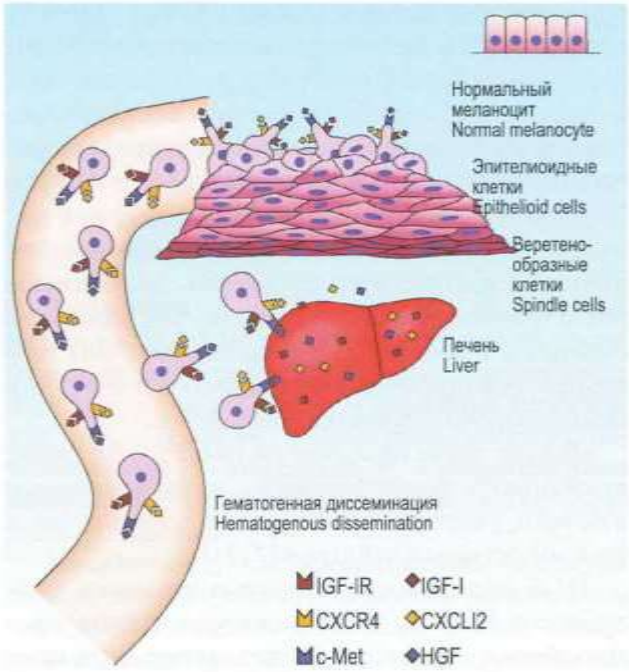


Рисунок 7. Схема метастазирования клеток увеальной меланомы с участием фактора роста гепатоцитов (HGF) (из [13])

Figure 7. Scheme of metastasis of uveal melanoma cells with the participation of hepatocyte growth factor (HGF) (from [13])

RANTES – провоспалительный хемокин, играющий ключевую роль в усилении воспаления при опухолях, тем самым способствующий пролиферации опухолевых клеток, усилению ангиогенеза, метастазированию [24]. Собственные исследования показали, что хемокин RANTES является значимым показателем неблагоприятного прогноза, выявленным в сыворотке крови у пациентов с меланомой хориоидеи на ранних стадиях ее развития.

Заключение

Разработанная прогностическая модель позволяет на основании морфометрических признаков воспаления, сопровождающих начальную меланому хориоидеи (наличие дезорганизации пигмента в ретинальном пигментном эпителии) и иммунологических критериев (повышение уровня HGF, RANTES, TGF-2β в сыворотке крови) прогнозировать течение опухолевого процесса.

Дальнейшее накопление клинического материала даст возможность использовать прогностическую модель для планирования и коррекции тактики лечения больных с начальной меланомой хориоидеи с целью сведения к минимуму осложнений и ошибок, обеспечения контроля лечения.

Список литературы / References

1. Амирян А.Г., Саакян С.В. Факторы прогноза увеальной меланомы // Вестник офтальмологии, 2015. Т. 131, № 1. С. 90-95. [Amiryan A.G., Saakyan S.V. Prognosis factors of uveal melanoma. *Vestnik oftalmologii = Bulletin of Ophthalmology, 2015, Vol. 131, no. 1, pp. 90-95.* (In Russ.)]

2. Бровкина А.Ф., Панова И.Е., Саакян С.В. Офтальмоонкология: новое за последние два десятилетия // Вестник офтальмологии, 2014. Т. 130, № 6. С. 13-19. [Brovkina A.F., Panova I.E., Saakyan S.V. Ophthalmic Oncology: New for the Last Two Decades. *Vestnik oftalmologii = Bulletin of Ophthalmology, 2014, Vol. 130, no. 6, pp. 13-19.* (In Russ.)]

3. Важенин А.В., Панова И. Е., Семёнова Л.Е., Ефименко И.Н., Важенина Д.А. Способ прогнозирования вероятности ранних и поздних лучевых осложнений при брахитерапии увеальной меланомы. Патент №2 290 071. [Vazhenin A.V., Panova I.E., Semyonova L.E., Efimenko I.N., Vazhenina D.A. A method for predicting the likelihood of early and late radiation complications in brachytherapy of uveal melanoma. Patent No. 2 290 071].

4. Клинические рекомендации «Увеальная меланома», 2020 [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://oncology-association.ru/files/new-clinical-guidelines/uvealnaja_melanoma.pdf (дата обращения: 15.11.20). [Clinical guidelines "Uveal melanoma", 2020 [Electronic resourse]. Access mode: https://oncology-association.ru/files/new-clinical-guidelines/uvealnaja_melanoma.pdf (date of the application 15.11.20)].

5. Мякошина Е.Б. Комплексная диагностика начальной меланомы хориоидеи // Российский электронный журнал лучевой диагностики, 2016. Т. 6, № 4. С. 19-28. [Myakoshina E.B. Complex diagnostics of early choroidal melanoma. *Rossiyskiy elektronnyy zhurnal luchevoy diagnostiki = Russian Electronic Journal of Radiology, 2016, Vol. 6, no. 4, pp. 19-28.* (In Russ.)]

6. Мякошина Е.Б. Начальная меланома хориоидеи и псевдомеланомы: методы дифференциальной диагностики. Часть 1. Офтальмоскопия // Российский офтальмологический журнал, 2019. Т. 12, № 4.

С. 99-108. [Myakoshina E.B. Small choroidal melanoma and pseudomelanomas: methods of differential diagnosis. Part 1. Ophthalmoscopy. *Rossiyskiy oftalmologicheskiy zhurnal = Russian Ophthalmological Journal), 2019, Vol. 12, no. 4, pp. 99-108.* (In Russ.)]

7. Нероев В.В., Зайцева О.В., Балацкая Н.В., Лазутова А.А. Локальная и системная продукция 45 цитокинов при осложненной пролиферативной диабетической ретинопатии // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 2. С. 301-310. [Neroev V.V., Zaytseva O.V., Balatskaya N.V., Lazutova A.A. Local and systemic production of 45 cytokines in complicated proliferative diabetic retinopathy. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2020, Vol. 22, no. 2, pp. 301-310.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-LAS-1802.

8. Саакян С.В., Нероев В.В., Юровская Н.Н., Рябина М.В., Мякошина Е.Б., Тацков Р.А. Способ диагностики внутриглазных новообразований. Патент № 2 387378. [Saakyan S.V., Neroev V.V., Yurovskaya N.N., Ryabina M.V., Myakoshina E.B., Tatskov R.A. A method for diagnosing intraocular neoplasms. Patent No. 2 387378].

9. Саакян С.В., Мякошина Е.Б., Юровская Н.Н. Спектральная оптическая когерентная томография в оценке эффективности транспупиллярной термотерапии начальной меланомы хориоидеи // Вестник офтальмологии, 2013. Т. 129, № 3. С. 32-37. [Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Yurovskaya N.N. Spectral optical coherence tomography in evaluating the effectiveness of transpupillary thermotherapy of initial choroidal melanoma. *Vestnik oftalmologii = Bulletin of Ophthalmology,2013, Vol. 129, no. 3, pp. 32-37.* (In Russ.)]

10. Саакян С.В., Балацкая Н.В., Катаргина Л.А., Куликова И.Г., Мякошина Е.Б. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови при увеальной меланоме // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 4. С. 765-772. [Saakyan S.V., Balatskaya N.V., Katargina L.A., Kulikova I.G., Myakoshina E.B. Subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in uveal melanoma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2019, Vol. 21, no. 4, pp. 765-772.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-765-772.

11. Саакян С.В., Мякошина Е.Б., Захарова Г.П., Гарри Д.Д. Выживаемость пациентов с увеальной меланомой малых и средних размеров // Эффективная фармакотерапия, 2020. Т. 16, № 21. С. 18-22. [Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Zakharova G.P., Garri D.D. Survival of patients with small and medium-sized uveal melanoma. *Effective pharmacotherapy = Effective Pharmacotherapy, 2020, Vol. 16, no. 21, pp. 18-22.* (In Russ.)]

12. Arrigo A., Capone L., Lattanzio R., Capone L., Lattanzio R., Emanuela Aragona E., Piero Zollet P., Bandello F. Optical Coherence Tomography Biomarkers of Inflammation in Diabetic Macular Edema Treated by Fluocinolone Acetonide Intravitreal Drug-Delivery System Implant. *Ophthalmol. Ther., 2020, Vol. 9, no. 4, pp. 971-980.*

13. Bakalian S., Marshall J.C., Logan P., Faingold D., Maloney S., Di Cesare S., Martins C., Fernandes B.F., Burnier M.N. Jr. Molecular pathways mediating liver metastasis in patients with uveal melanoma. *Clin. Cancer Res., 2008, Vol. 14, pp. 951-956.*

14. Birchmeier C., Birchmeier W., Gherardi E., Vande Woude G.F. Met, metastasis, motility and more. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2003, Vol. 4, no. 12, pp. 915-925.*

15. Blobe G.C., Schiemann W.P., Lodish H.F. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N. Engl. J. Med., 2000, Vol. 342, pp. 1350-1358.*

16. Damato B.E., Foulds W.S. Tumor-associates retinal pigment epitheliopathy. *Eye, 1990, Vol. 4, pp. 382-387.*

17. Esser P., Grisanti S. Bartz Schmidt K.U. TGF β in uveal melanoma. *Microsc. Res. Tech., 2001, Vol. 52, pp. 396-400.*

18. Kwon M.J., Kim D.H., Park H.R., Shin H.S., Kwon J.H., Lee D. J., Kim J.H., Cho S.J., Nam E.S. Frequent hepatocyte growth factor overexpression and low frequency of c-Met gene amplification in human papillomavirus-negative tonsillar squamous cell carcinoma and their prognostic significances. *Hum. Pathol., 2014, Vol. 45, pp. 1327-1338.*

19. Li Y., Shi J., Yang J., Ge S., Zhang J., Jia R., Fan X. Uveal melanoma: progress in molecular biology and therapeutics. *Ther. Adv. Med. Oncol., 2020, Vol. 12, pp. 1-27.*

20. Naldini L., Vigna E., Narsimhan R.P., Gaudino G., Zarnegar R., Michalopoulos G.K., Comoglio P.M. Hepatocyte growth factor (HGF) stimulates the tyrosine kinase activity of the receptor encoded by the proto-oncogene c-MET. *Oncogene, 1991, Vol. 6, pp. 501-504.*

21. Rychli K., Richter B., Hohensinner P.J., Kariem Mahdy A., Neuhold S., Zorn G., Berger R., Mörtl D., Huber K., Pacher R., Wojta J., Niessner A., Hülsmann M. Hepatocyte growth factor is a strong predictor of mortality in patients with advanced heart failure. *Heart, 2011, Vol. 97, no. 14, pp. 1158-1163.*

22. Schreur V., Altay L., van Asten F., Groenewoud J.M.M., Fauser S., Klevering B.J., Hoyng C.B., de Jong E.K. Hyperreflective foci on optical coherence tomography associate with treatment outcome for anti-VEGF in patients with diabetic macular edema, *PLoS One, 2018, Vol. 13, no. 10, e0206482.* doi: 10.1371/journal.pone.0206482.

23. Seider M.I., Mruthyunjaya P. Molecular prognostics for uveal melanoma. *Retina, 2018, Vol. 38, no. 2, pp. 211-219.*

24. Yong C., Jing F., Xuemei Z., Jianhong L. Cytokines concentrations in aqueous humor of eyes with uveal melanoma. *Medicine, 2019, Vol. 98, no. 5, e14030.* doi: 10.1097/MD.0000000000014030.

Авторы:

Мякошина Е.Б. *– к.м.н., старший научный сотрудник отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Куликова И.Г. *– старший научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Балацкая Н.В. *– к.б.н., ведущий научный сотрудник, начальник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Катаргина Л.А. *– д.м.н., профессор, начальник отдела патологии глаз у детей, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Саакян С.В. *– д.м.н., профессор, начальник отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Authors:

Myakoshina E.B., *PhD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Ophthalmology and Radiology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Kulikova I.G., *Senior Research Associate, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Balatskaya N.V., *PhD (Biology), Leading Research Associate, Head, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Katargina L.A., *PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Children's Eye Pathology Department, Deputy Director for Research, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Saakyan S.V., *PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Ophthalmooncology and Radiology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Поступила 10.01.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 10.01.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 89-96
© 2022, СПб РО РААКИ

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 89-96
© 2022, SPb RAACI

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХОЙ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ХОЛАНГИОКАРЦИНОМОЙ

Смирнова О.В.[1], Губанов Б.Г.[1], Каспаров Э.В.[1], Даренская М.А.[2], Колесникова Л.И.[2], Колесников С.Н.[2]

[1] *Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр "Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук"», г. Красноярск, Россия*

[2] *ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия*

Резюме. Механическая желтуха, обусловленная холангиокарциномой, занимает особое место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями и хирургической патологии в России. Участие неспецифического звена иммунитета и роль нейтрофилов в канцерогенезе в настоящее время оцениваются неоднозначно. Целью настоящего исследования явилось изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови и его фенотипа при механической желтухе, обусловленной холангиокарциномой. В исследование были включены 56 больных с механической желтухой, обусловленной холангиокарциномой ($T_{2-3}N_{0-1}M_0$ стадий (II-III клинические стадии) и 90 практически здоровых добровольцев аналогичного возраста. Нейтрофильные гранулоциты выделяли в двойном градиенте плотности фиколл-урографина из венозной крови, которая забиралась у пациентов утром натощак из локтевой вены в вакутейнеры с гепарином при поступлении на стационарное лечение до операции. Спонтанную цитокиновую продукцию (IL-8, IFNα) определяли иммуноферментным анализом с использованием наборов АО «Вектор-Бест». Для оценки фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов рассчитывали фагоцитарный индекс (по Гамбургеру), фагоцитарное число (по Райту) и индекс завершенности фагоцитоза (по Рудик, 2006). Иммунофенотипирование нейтрофильных гранулоцитов с использованием моноклональных антител к $CD11b^+$, $CD16^+$, $CD95^+$ осуществлялось с помощью проточного цитометра FC500 (Beckman Coulter, США).

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программы Statistica v. 12.0 (StatSoft Inc., США). Для оценки различий в группах использовались непараметрические критерии Краскела–Уоллиса (для трех и более групп сравнения) и Манна–Уитни (для попарного сравнения). Сравнение групп по качественному бинарному признаку проводилось с помощью двустороннего точного критерия Фишера. Данные представлены в виде медианы (25 квартиль-75 квартиль).

Изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови у больных механической желтухой, обусловленной холангиокарциномой, выявило увеличение их отно-

Адрес для переписки:
Смирнова Ольга Валентиновна
Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера
660022, Россия, г. Красноярск,
ул. Партизана Железняка, 3г.
Тел.: 8 (913) 567-97-19.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Address for correspondence:
Smirnova Olga V.
Research Institute of Medical Problems of the North
660022, Russian Federation, Krasnoyarsk, Partizan Zheleznyak str., 3g.
Phone: 7 (913) 567-97-19.
E-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Образец цитирования:
О.В. Смирнова, Б.Г. Губанов, Э.В. Каспаров, М.А. Даренская, Л.И. Колесникова, С.Н. Колесников «Характеристика нейтрофильных гранулоцитов периферической крови у больных механической желтухой, обусловленной холангиокарциномой» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 89-96. doi: 10.15789/1563-0625-CON-2339

© Смирнова О.В. и соавт., 2022

For citation:
O.V. Smirnova, B.G. Gubanov, E.V. Kasparov, M.A. Darenskaya, L.I. Kolesnikova, S.I. Kolesnikov "Characteristics of neutrophilic granulocytes of peripheral blood in patients with mechanical jaundice caused by cholangiocarcinoma", Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 89-96. doi: 10.15789/1563-0625-CON-2339

DOI: 10.15789/1563-0625-CON-2339

сительного и абсолютного количества, увеличение фагоцитарного индекса и снижение фагоцитарного числа нейтрофильных гранулоцитов, увеличение экспрессии $CD11b^+$, $CD16^+$, $CD95^+$ – иммунологических маркеров. Изменение секреторной активности нейтрофилов характеризовалось снижением продукции цитокинов (IL-2, IFNα). Увеличение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов со снижением их продукции цитокинов позволяет предположить, что при механической желтухе, обусловленной холангиокарциномой, на клинических стадиях $T_{2-3}N_{0-1}M_0$ обнаруживается стадия равновесия между клетками иммунной системы и злокачественной опухолью.

Ключевые слова: механическая желтуха, нейтрофильные гранулоциты, холангиокарцинома

CHARACTERISTICS OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH MECHANICAL JAUNDICE CAUSED BY CHOLANGIOCARCINOMA

Smirnova O.V.[a], Gubanov B.G.[a], Kasparov E.V.[a], Darenskaya M.A.[b], Kolesnikova L.I.[b], Kolesnikov S.I.[b]

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

[b] *Research Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation*

Abstract. Obstructive jaundice caused by cholangiocarcinoma takes a special place among malignant disorders and surgical pathology in Russia. Involvement of nonspecific immunity and the role of neutrophils in carcinogenesis are ambiguously evaluated. The aim of this study was to study functional activity of peripheral blood neutrophilic granulocytes and their phenotype in obstructive jaundice caused by cholangiocarcinoma. The study included 56 patients with obstructive jaundice associated with cholangiocarcinoma at the $T_{2-3}N_{0-1}M_0$ stage (clinical stages II-III), and 90 apparently healthy volunteers of similar age group. Neutrophilic granulocytes were isolated from peripheral blood by means of double-density Ficoll-Urografin gradient. Venous blood was collected in patients into vacutainers with heparin upon admission to the hospital, before the surgery was performed. Spontaneous cytokine production (IL-8, IFNα) was determined by enzyme-linked immunosorbent assay using Vector-Best diagnostic kits. To assess phagocytic activity of neutrophilic granulocytes, the phagocytic index (according to Hamburger), number of phagocytes (according to Wright) and the index of completed phagocytosis (according to Rudik, 2006) were calculated. Immunophenotyping of neutrophilic granulocytes was carried out using an FC500 flow cytometer (Beckman Coulter, USA) with monoclonal antibodies to $CD11b^+$, $CD16^+$, $CD95^+$. The results were statistically analyzed using the Statistica v.12.0 software (StatSoft Inc., USA). To assess intergroup differences, the nonparametric Kruskal-Wallis tests (for three or more comparison groups) and Mann-Whitney tests (for pairwise comparison) were used. Comparison of groups for a qualitative binary trait was carried out using the two-sided Fisher's exact test. Data are presented as Median (25 quartile-75 quartile).

The study of the functional activity of peripheral blood neutrophiles in obstructive jaundice patients caused by cholangiocarcinoma revealed an increase in their relative and absolute number, increased phagocytic index and decreased phagocytic number of neutrophilic granulocytes, increased expression of $CD11b^+$, $CD16^+$, $CD95^+$ immunological markers. The changes in neutrophil secretory activity were characterized by a decrease in cytokine production (IL-2, IFNα). An increase in functional activity of neutrophilic granulocytes, along with a decrease in their cytokine production suggests that, in obstructive jaundice observed in cholangiocarcinoma at clinical stage $T_{2-3}N_{0-1}M_0$, an equilibrium stage is revealed between the cells of immune system and malignant tumor.

Keywords: obstructive jaundice, neutrophilic granulocytes, cholangiocarcinoma

Введение

Механическая желтуха (МЖ), обусловленная холангиокарциномой, занимает особое место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями и хирургической патологии в России [4, 19, 22, 23]. Развитие осложнения в виде МЖ свидетельствует о прогрессировании холангиокарциномы, способствуя повышению смертности в данной группе больных [2, 6, 11, 24]. Участие неспецифического звена иммунитета и роль нейтрофилов в канцерогенезе в настоящее время оцениваются неоднозначно [7, 9, 21]. Имеются данные о проопухолевом действии нейтрофильных гранулоцитов при злокачественной опухолевой прогрессии в виде активации неоангиогенеза, инвазии опухолевых клеток, индукции Т-клеточной иммуносупрессии [1, 20, 25, 26]. Одновременно нейтрофилы являются эффекторными противоопухолевыми клетками. Цитотоксическое действие гранул нейтрофилов способствует уничтожению опухоли [3, 10, 27, 28, 29]. Продуцируемые нейтрофилами цитокины активируют другие эффекторные клетки. В настоящее время выделяют две популяции опухолеассоциированных нейтрофилов с противоопухолевой (N1) и проопухолевой активностью (N2). Микроокружение опухоли влияет на фенотип опухолеассоциированных нейтрофильных гранулоцитов, при этом конечный вариант зависит от вида опухоли, ее локализации и стадии [5, 8, 12, 30, 31].

Целью настоящего исследования явилось изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови и его фенотипа при МЖ, обусловленной холангиокарциномой.

Материалы и методы

В исследование были включены 56 больных с МЖ, обусловленной холангиокарциномой ($T_{2-3}N_{0-1}M_0$ стадий (II-III клинические стадии). Возраст обследованных больных был от 45 до 73 лет, средний возраст составил 57,3±5,03 лет. Все больные МЖ получали комплексное лечение, включающее хирургическую коррекцию МЖ в виде декомпрессии желчных протоков с дальнейшим назначением стандартной полихимиотерапии, операции и/или химиолучевой терапии или сочетанной лучевой терапии. В качестве контрольной группы были 90 практически здоровых добровольцев аналогичного возраста.

Объектом исследования была венозная кровь, которая забиралась у пациентов утром натощак из локтевой вены в вакутейнеры с гепарином при поступлении на стационарное лечение до операции. Нейтрофильные гранулоциты выделяли в двойном градиенте плотности фиколл-урографина (р = 1,117 и 1,077 г/мл). Суспензию из нейтрофилов отмывали физиологическим раствором трижды. Чистота фракции нейтрофильных гранулоцитов составила 94-95%. Спонтанную цитокиновую продукцию (IL-8, IFNα) определяли иммуноферментным анализом с использованием наборов АО «Вектор-Бест». Для оценки фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов рассчитывали фагоцитарный индекс (по Гамбургеру), фагоцитарное число (по Райту) и индекс завершенности фагоцитоза (по Рудик, 2006). Иммунофенотипирование нейтрофильных гранулоцитов с использованием моноклональных антител к $CD11b^+$, $CD16^+$, $CD95^+$ осуществлялось с помощью проточного цитометра FC500 (Beckman Coulter, США).

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программы Statistica v. 12.0 (StatSoft Inc., США). Для оценки различий в группах использовались непараметрические критерии Краскела–Уоллиса (для трех и более групп сравнения) и Манна–Уитни (для попарного сравнения). Сравнение групп по качественному бинарному признаку проводилось с помощью двустороннего точного критерия Фишера. Данные представлены в виде Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$).

Результаты

Выявлено увеличение относительного и абсолютного количества нейтрофильных гранулоцитов в периферической крови больных МЖ, обусловленной холангиокарциномой, относительно контрольной группы (таблица 1). Имеются данные, что прогрессирование злокачественного роста ассоциировано с нейтрофилезом периферической крови вследствие опухолеиндуцированного гранулоцитопоэза, который осуществляет противоопухолевый механизм воспалительного процесса при раке. Три типа антимикробных эффекторных гранул (азурофильные, желатиназные и секреторные), при активации клетки выбрасываются во внеклеточное пространство для создания внеклеточных нейтрофильных ловушек, либо в фаголизосому, осуществляя цитотоксичное действие в отношении клеток опухоли. Везикулы нейтрофилов осуществляют с одной стороны цитолитическое действие, с другой – оказывают влияние на функцию собственно нейтрофилов и других эффекторных клеток.

У пациентов основной группы обнаруживалось увеличение фагоцитарного индекса и снижение фагоцитарного числа нейтрофильных гранулоцитов относительно контрольной группы. Увеличение числа нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, может свидетельствовать о нормаль-

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ МЖ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ХОЛАНГИОКАРЦИНОМОЙ ОТНОСИТЕЛЬНО КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH OBSTRUCTIVE JAUNDICE DUE TO CHOLANGIOCARCINOMA IN RELATION TO CONTROL GROUP, Me ($Q_{0.25}$-$Q_{0.75}$)

Показатели Indicators	**Контрольная группа** Control group	**Больные МЖ** Patients with obstructive jaundice	**p, критерий Манна–Уитни** p, Mann–Whitney test
Нейтрофилы, % Neutrophils, %	54,3 (43,8-61,3)	66,2 (48,2-72,1)	p = 0,032
Нейтрофилы, × 10^9 Neutrophils, × 10^9	3,5 (3,1-3,9)	7,1 (6,0-8,1)	p = 0,02
ФИ, % Phagocytic index, %	40,2 (34,4-47,2)	51,3 (45,2-55,8)	p = 0,043
ФЧ, ед. Phagocytic number, unit	3,2 (2,5-3,8)	1,5 (1,2-1,6)	p = 0,03
$CD11b^+$, %	28,4 (25,2-32,1)	39,3 (35,1-42,4)	p = 0,02
$CD16^+$, %	49,1 (47,3-51,2)	55,2 (48,3-56,1)	p = 0,045
$CD95^+$, %	18,3 (16,1-21,4)	68,3 (49,2-73,6)	p < 0,001
IL-8, пг/мл IL-8, pg/ml	57,2 (53,1-61,2)	26,2 (18,9-31,2)	p < 0,001
IFNα, ед/мл IFNα, unit/ml	7,1 (6,4-7,3)	3,6 (2,9-4,2)	p < 0,001

ном киллинге патогенов, а при избыточном образовании активных радикалов о повреждении иммунных клеток и окружающих тканей. Альтернативой фагоцитозу является участие нейтрофилов в нейтрофильных внеклеточных ловушках (NET), которые выбрасываются во внеклеточное пространство нейтрофилами после активации. По данным Brinkmann и соавт. (2004), в составе NET имеются ДНК, гистоны, белки, ферменты везикул нейтрофилов. С помощью NET нейтрофильные гранулоциты способны ограничить патологический объект и его уничтожить. Имеется мнение, что создание NET нейтрофилами относится к механизмам врожденного иммунитета, благодаря которому осуществляется основная защита организма нейтрофилами от инфекционных микроорганизмов. У пациентов, страдающих злокачественными заболеваниями, отмечается проопухолевый механизм NET.

Обсуждение

Существуют различные популяции нейтрофильных гранулоцитов с различными возможностями. Под действием цитокинов нейтрофилы активируются и дифференцируются, экспрессируя на поверхности различные CD-рецепторы. Соответствующий набор CD-маркеров отражает активационные и эффекторные особенности данных клеток. Поверхностные рецепторы запускают в нейтрофилах внутриклеточные каскадные реакции, активируют процессы создания активных радикалов, создание NET, фагоцитоз, адгезию, продукцию цитокинов. У больных МЖ, обусловленной холангиокарциномой, в нейтрофилах выявлялось увеличение экспрессии $CD11b^+$ относительно контрольной группы. Маркер $CD11b^+$ является адгезионным рецептором и рецептором комплемента, взаимодействующим с компонентом C3 комплемента. Активация $CD11b^+$ в нейтрофильных гранулоцитов усиливает их цитотоксичность при иммунологическом ответе. Отмечалось увеличение экспрессии $CD16^+$ у больных МЖ, обусловленной холангиокарциномой относительно контрольной группы, что, вероятно, указывает на увеличение их функциональной активности из-за гипербилирубинемии, хронического воспалительного процесса и наличия опухолевого фактора. $CD95^+$ – показатель апоптоза клеток. Отмечалось увеличение экспрессии $CD95^+$ нейтрофилами у больных МЖ, обусловленной холангиокарциномой, относительно контрольной группы. Длительная и интенсивная интоксикация организма из-за увеличения содержания билирубина в периферической крови, наличие патогенов увеличивают фагоцитарную активность микрофагов, повыша-

ют активность микробицидных компонентов их гранул.

Нейтрофилы осуществляют продукцию цитокинов. У больных МЖ, обусловленной холангиокарциномой, отмечалось снижение содержания IL-8 и IFNα относительно практически здоровых добровольцев. Уменьшение содержания IL-8 снижает хемотаксис нейтрофилов, выброс лизосомальных ферментов, дегрануляцию и «дыхательный взрыв», уменьшает сродство нейтрофилов к эндотелиальным клеткам, выход лейкотриенов В4 из клеток. Снижение содержания IFNα уменьшает антивирусную и противоопухолевую активность, снижает иммунную цитотоксичность.

Изменения в иммунитете при злокачественных опухолях [13, 16, 18] сопровождаются изменениями метаболического статуса клеток иммунной системы [14, 15] и нарушениями в системе ПОЛ-АОЗ [17].

Заключение

Результаты проведенного исследования предполагают влияние механической желтухи и самой опухоли – холангиокарциномы на нейтрофильные гранулоциты периферической крови. Имеется теория иммунноредактирования, которая оценивает взаимодействие иммунной системы и злокачественной опухоли в три стадии – элиминации, равновесия и избегания. На стадии элиминации опухолевые цитокины и факторы роста изменяют морфологические и функциональные характеристики нейтрофилов. Увеличивается секреторная активность клеток, образование активных форм кислорода, повышается экспрессия рецепторов на поверхности клеток как результат влияния опухоли на нейтрофильные гранулоциты. Для стадии равновесия характерно наличие морфологических изменений в клетках (увеличение размеров клетки, их адгезионной способности) при повышенной функциональной активности. На стадии избегания снижается функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов, уменьшается спонтанная и индуцированная продукция активных форм кислорода, противоопухолевая активность клеток заменяется на проопухолевую.

Таким образом, изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови у больных МЖ, обусловленной холангиокарциномой, выявило увеличение их относительного и абсолютного количества, увеличение фагоцитарного индекса и снижение фагоцитарного числа нейтрофильных гранулоцитов, увеличение экспрессии $CD11b^+$, $CD16^+$, $CD95^+$ – иммунологических маркеров. Изменение секреторной активности нейтрофилов характеризовалось снижением продукции цитокинов (IL-2, IFNα). Увеличение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов со снижением их продукции цитокинов позволяет предположить, что при МЖ, обусловленной холангиокарциномой, на клинических стадиях $T_{2-3}N_{0-1}M_0$ имеется стадия равновесия между клетками иммунной системы и злокачественной опухолью.

Список литературы / References

1. Антонеева И.И., Генинг Т.П. Нейтрофильные гранулоциты в динамике прогрессии рака яичников // Клиническая лабораторная диагностика, 2007. № 8. С. 43-45. [Antoneeva I.I., Gening T.P. Neutrophilic granulocytes in the dynamics of ovarian cancer progression. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics, 2007, no. 8, pp. 43-45.* (In Russ.)]

2. Гальперин Э.И., Ахаладзе Г.Г., Ветшев П.С., Дюжева Т.Г. Дифференциальный подход к применению минимально инвазивных методов лечения опухолевой механической желтухи // Анналы хирургической гепатологии, 2019. Т. 24, № 8. С. 10-24. [Galperin E.I., Akhaladze G.G., Vetshev P.S., Dyuzheva T.G. Differential approach to the use of minimally invasive methods of treating neoplastic obstructive jaundice. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of Surgical Hepatology, 2019, Vol. 24, no. 8, pp. 10-24.* (In Russ.)]

3. Долгушин И.И., Шишкова Ю.С., Семенова А.Б., Казачков Е.Л., Важенин А.В., Шаманова А.Ю., Димов Г.П. Взгляд на роль нейтрофильной внеклеточной ДНК, как компонента микроокружения опухоли, в процессах канцерогенеза // Уральский медицинский журнал, 2014. № 2 (116). С. 19-22. [Dolgushin I.I, Shishkova Yu.S., Semenova A.B., Kazachkov E.L., Vazhenin A.V., Shamanova A.Yu., Dimov G.P. A look at the role of neutrophilic extracellular DNA as a component of the tumor microenvironment in the processes of carcinogenesis. *Uralskiy meditsinskiy zhurnal = Ural Medical Journal, 2014, no. 2 (116), pp. 19-22.* (In Russ.)]

4. Земсков А.М., Земскова В.М., Земсков М.А., Воронцова З.А., Золоедов В.И. Инновационно-аналитические технологии по итогам традиционного иммунологического мониторинга больных // Вестник новых медицинских технологий, 2019. Т. 26, № 2. С. 40-43. [Zemskov A.M., Zemskova V.M., Zemskov M.A., Vorontsova Z.A., Zoloedov V.I. Innovative and analytical technologies based on the results traditional immunological monitoring of patients. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy = Bulletin of New Medical Technologies, 2019, Vol. 26, no. 2, pp. 40-43.* (In Russ.)]

5. Котовский А.Е., Глебов К.Г., Дюжева Т.Г., Сюмарева Т.А., Магомедова Б.М. Ретроградное эндопротезирование желчных протоков при доброкачественных заболеваниях органов гепатопанкреатодуоденальной зоны // Анналы хирургической гепатологии, 2019. Т. 24, № 1. С. 61-70. [Kotovsky A.E., Glebov K.G., Dyuzheva T.G., Syumareva T.A., Magomedova B.M. Retrograde bile duct endoprosthetics in benign diseases of the hepatopancreatoduodenal zone. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of Surgical Hepatology, 2019, Vol. 24, no. 1, pp. 61-70.* (In Russ.)]

6. Кукош М.В., Демченко В.И., Колесников Д.Л., Ветюгов Д.Е. Этапное лечение механической желтухи, вызванной желчнокаменной болезнью // Ульяновский медико-биологический журнал, 2018. № 2. С. 26-31. [Kukosh M.V., Demchenko V.I., Kolesnikov D.L., Vetyugov D.E. Staged treatment of obstructive jaundice caused by cholelithiasis. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskiy zhurnal = Ulyanovsk Medico-Biological Journal, 2018, no. 2, pp. 26-31.* (In Russ.)]

7. Мальцева В.Н., Сафронова В.Г. Неоднозначность роли нейтрофилов в генезе опухоли // Цитология, 2009. № 51 (6). С. 467-474. [Maltseva V.N., Safronova V.G. ambiguity of the role of neutrophils in tumor genesis. *Tsitologiya = Cytology, 2009, no. 51 (6), pp. 467-474.* (In Russ.)]

8. Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Коков Е.А., Сторожук С.В. Особенности трансформации фенотипа субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов CD64(-) CD32(+) CD16(+) CD11b(+) и CD64(+)CD32(+)CD16(+)CD11b(+) пациентов с колоректальным раком под влиянием Г-КСФ, ИФН (альфа) и ИФН (гамма) в системе *in vitro* // Аллергология и иммунология, 2011. № 12 (3). С. 256-268. [Nesterova I.V., Kovaleva S.V., Chudilova G.A., Lomtatidze L.V., Kokov E.A., Storozhuk S.V. Peculiarities of transformation of the phenotype of subpopulations of neutrophilic granulocytes CD64 (-) CD32 (+) CD16 (+) CD11b (+) and CD64 (+) CD32 (+) CD16 (+) CD11b (+) in patients with colorectal cancer under the influence of G-CSF, IFN (alpha) and IFN (gamma) in the *in vitro* system. *Allergologiya i immunologiya = Allergology and Immunology, 2011, no. 12 (3), pp. 256-268.* (In Russ.)]

9. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Клещенко Е.И., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Смерчинская Т.В., Сапун О.И., Сторожук С.В. Варианты трансформации фенотипа нейтрофильных гранулоцитов $CD64^+CD32^+$ $CD11b^+$ у новорожденных с различными инфекционно-воспалительными заболеваниями // Цитокины и воспаление, 2011. № 10 (4). С. 61-65. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Kleshchenko E.I., Chudilova G.A., Lomtatidze L.V., Smerchinskaya T.V., Sapun O.I., Storozhuk S.V. Variants of transformation of the phenotype of neutrophilic granulocytes $CD64^+$ $CD32^+$ $CD11b^+$ in newborns with various infectious and inflammatory diseases. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation, 2011, no. 10 (4), pp. 61-65.* (In Russ.)]

10. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Ковалева С.В. Ремоделирование фенотипа нейтрофильных гранулоцитов пациентов с колоректальным раком под влиянием рекомбинантного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) // Цитокины и воспаление, 2012. № 11 (3). С. 21-26. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Kovaleva S.V. Phenotype remodeling of neutrophilic granulocytes in patients with colorectal cancer under the influence of recombinant granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF). *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation, 2012, no. 11 (3), pp. 21-26.* (In Russ.)]

11. Праздников Е.Н., Баранов Г.А., Зинатулин Д.Р., Умяров Р.Х., Шевченко В.П., Николаев Н.М. Возможности антеградного доступа в лечении холангиолитиаза, осложненного синдромом механической желтухи // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова, 2018. № 1. С. 21-25. [Prazdnikov E.N., Baranov G.A., Zinatulin D.R., Umyarov R.Kh., Shevchenko V.P., Nikolaev N.M. Possibilities of antegrade access in the treatment of cholangiolithiasis complicated by obstructive jaundice syndrome. *Hirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova = Surgery. N. Pirogov Journal, 2018, no. 1, pp. 21-25.* (In Russ.)]

12. Рудик Д.В., Тихомирова Е.И. Методы изучения процесса фагоцитоза и функционально-метаболического состояния фагоцитирующих клеток. Саратов: Изд-во Саратовского университета, 2006. 112 с. [Rudik D.V., Tikhomirova E.I. Methods for studying the process of phagocytosis and functional-metabolic state of phagocytic cells]. Saratov: Publishing House of Saratov University, 2006. 112 p.

13. Смирнова О.В., Манчук В.Т., Агилова Ю.Н. Роль неспецифического иммунитета при прогрессировании миеломной болезни // Современные проблемы науки и образования, 2014. № 2. С. 515. [Smirnova O.V., Manchuk V.T., Agilova Yu.N. The role of nonspecific immunity in the progression of myeloma. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education, 2014, no. 2, p. 515.* (In Russ.)]

14. Смирнова О.В., Манчук В.Т., Савченко А.А. Метаболический статус лимфоцитов крови при хроническом миелолейкозе и хроническом лимфолейкозе // Медицинская иммунология, 2008. Т. 10, № 1. С. 21-26. [Smirnova O.V., Manchuk V.T., Savchenko A.A. Metabolic status of blood lymphocytes in chronic myeloid leukemia and chronic lymphocytic leukemia. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2008, Vol. 10, no. 1, pp. 21-26.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2008-1-21-26.

15. Смирнова О.В., Манчук В.Т. Особенности клеток иммунной системы при остром лимфобластном лейкозе // Медицинская иммунология, 2013. Т. 15, № 6. С. 577-584. [Smirnova O.V., Manchuk V.T. Features of cells of the immune system in acute lymphoblastic leukemia. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2013, Vol. 15, no. 6, pp. 577-584.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2013-6-577-584.

16. Смирнова О.В., Савченко А.А., Манчук В.Т., И Москов В. Особенности клеточного и гуморального иммунитета у больных острыми нелимфобластным и лимфобластным лейкозами // Сибирский медицинский журнал (Иркутск), 2006. Т. 59, № 1. С. 35-38. [Smirnova O.V., Savchenko A.A., Manchuk V.T., I Moskov V.

Features of cellular and humoral immunity in patients with acute non-lymphoblastic and lymphoblastic leukemia *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk), 2006, Vol. 59, no. 1, pp. 35-38.* (In Russ.)]

17. Смирнова О.В., Титова Н.М., Елманова Н.Г. Роль прооксидантной системы в прогрессировании миеломной болезни // Врач-аспирант, 2013. Т. 60, № 5.1. С. 152-157. [Smirnova O.V., Titova N.M., Elmanova N.G. The role of the prooxidant system in the progression of myeloma. *Vrach-aspirant = Postgraduate Doctor, 2013, Vol. 60, no. 5.1, pp. 152-157.* (In Russ.)]

18. Смирнова О.В., Савченко А.А., Манчук В.Т. Хронические лейкозы. Клинические и иммунологические особенности возникновения и развития. Новосибирск, 2012. [Smirnova O.V., Savchenko A.A., Manchuk V.T. Chronic leukemia. Clinical and immunological features of occurrence and development]. Novosibirsk, 2012.

19. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. Под ред. М.И. Давыдова и Е.М. Аксель. М.: Издательская группа РОНЦ, 2014. 226 с. [Statistics of malignant neoplasms in Russia and the CIS countries in 2012. Ed. Davydov M.I., Axel E.M.]. Moscow: Ed. RCRC Group, 2014. 226 p.

20. Abshagen K. König M., Hoppe A., Müller I., Ebert M., Weng H., Holzhütter H.-G., Zanger U.M., Bode J., Vollmar B., Thomas M., Dooley S. Pathobiochemical signatures of cholestatic liver disease in bile duct ligated mice. *BMC Syst. Biol., 2015, Vol. 9, 83.* doi: 10.1186/s12918-015-0229-0.

21. Gomi H., Takada T., Hwang T.L., K. Akazawa, Mori R., Endo I., Miura F., Kiriyama S., Matsunaga N., Itoi T., Yokoe M., Chen M.F., Jan Y.Y., Ker C.G., Wang H.P., Wada K., Yamaue H., Miyazaki M., Yamamoto M. Updated comprehensive epidemiology, microbiology, and outcomes among patients with acute cholangitis. *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci., 2017, Vol. 24, no. 6, pp. 310-318.*

22. Martinez-Cecilia D. Oxidative stress influence on renal dysfunction in patients with obstructive jaundice: A case and control prospective study. *Redox Biol., 2016, Vol. 8, pp. 160-164.*

23. Mayumi T., Okamoto K., Takada T. Tokyo Guidelines 2018: Management bundles for acute cholangitis and cholecystitis. *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci., 2018, Vol. 25, no. 1, pp. 96-100.*

24. Mazuski J.E., Tessier J.M., May A.K., Sawyer R.G., Nadler E.P., Rosengart M.R., Chang P.K., O'Neill P.J., Mollen K.P., Huston J.M., Diaz J.J. Jr., Prince J.M. The Surgical Infection Society Revised Guidelines on the Management of Intra-Abdominal Infection. *Surg. Infect. (Larchmt), 2017, Vol. 18, no. 1, pp. 1-76.*

25. Melnick S., Fareedy S., Gish D., Nazir S. Duodenal diverticulum: incidental finding with potentially dangerous outcomes. *J. Community Hosp. Intern. Med. Perspect., 2017, Vol. 7, no. 1, pp. 56-57.*

26. Mendonça E.Q., Bernardo W.M., Moura E.G., Chaves D.M., Kondo A., Pu L.Z., Baracat F.I. Endoscopic versus surgical treatment of ampullary adenomas: a systematic review and meta-analysis. *Clinics (Sao Paulo), 2016, Vol. 71, no. 1, pp. 28-35.*

27. Tsai C.H., Yeh C.H., Sheen Chen S.M., Huang C.Y., Liu Y.W., Huang C.C., Shen S.C., Tang R.P. The kinetic expression of lipopolysaccharide-binding protein and CD14 gene in obstructive jaundice. *J. Invest. Surg., 2015, Vol. 28, no. 1, pp. 18-23.*

28. Uysal E., Dokur M. The Helminths Causing Surgical or Endoscopic Abdominal Intervention: A Review Article. *Iran J. Parasitol., 2017, Vol. 12, no. 12, pp. 156-168.*

29. Williams E., Beckingham I., Sayed G., Gurusamy K., Sturgess R., Webster G., Young T. Updated guideline on the management of common bile duct stones (CBDS). *Gut, 2017, Vol. 66, no. 5, pp. 765-782*

30. Yang Z., Zhang Y., Dong L., Yang C., Gou S., Yin T., Wu H., Wang C. The Reduction of Peripheral Blood $CD4^+$ T Cell Indicates Persistent Organ Failure in Acute Pancreatitis. *PLoS One, 2015, Vol. 10, no. 5, e0125529.* doi: 10.1371/journal.pone.0125529.

31. Yokoe M., Hata J., Takada T. Tokyo Guidelines 2018: diagnostic criteria and severity grading of acute cholecystitis (with videos). *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci., 2018, Vol. 25, no. 1, pp. 41-54.*

Авторы:

Смирнова О.В. *– д.м.н., доцент, заведующая лабораторией 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*

Губанов Б.Г. *– младший 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*

Authors:

Smirnova O.V., *PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Gubanov B.G., *Junior 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*

Каспаров Э.В. – *д.м.н., профессор, директор, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера; заместитель директора ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр "Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук"», г. Красноярск, Россия*

Даренская М.А. – *д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия*

Колесникова Л.И. – *д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия*

Колесников С.И. – *д.м.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск, Россия*

Kasparov E.V., *PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Research Institute of Medical Problems of the North; Deputy Director, Krasnoyarsk Science Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation*

Darenskaya M.A., *PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Pathophysiology Laboratory, Research Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation*

Kolesnikova L.I., *PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Scientific Supervisor, Research Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation*

Kolesnikov S.I., *PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Chief Research Associate, Research Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation*

Поступила 12.04.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 12.04.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 97-108
© 2022, СПб РО РААКИ

Оригинальные статьи
Original articles

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 97-108
© 2022, SPb RAACI

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА В СОЧЕТАНИИ С ХРОНИЧЕСКИМ РИНОСИНУСИТОМ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Куликова О.А., Орлова Е.А., Баранова Н.И., Костина Е.М., Левашова О.А.

Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, г. Пенза, Россия

Резюме. Риниты являются социально значимыми и широко распространенными заболеваниями. Нередко различные формы ринитов сочетаются и тем самым обуславливают тяжелые клинические проявления, недостаточную эффективность медикаментозного лечения, а также трудности в дифференциальной диагностике. Известно, что у значительного количества пациентов имеется сочетание аллергического ринита (АР) с хроническим риносинуситом бактериальной этиологии. В основе этого состояния лежит хронический многофакторный воспалительный процесс слизистой носа, определяющий неуклонное прогрессирование заболевания. Интерес представляет изучение ряда аллерго-иммунологических показателей в назальном секрете с целью оценки локального воспаления и изменения мукозального иммунитета при аллергическом рините в сочетании с хроническим риносинуситом бактериальной этиологии (АР с ХРСБЭ). Мукозальный иммунитет и биологические медиаторы определяют локальное воспаление и патофизиологический ответ на этиологические факторы в иммунопатогенезе АР с ХРСБЭ. В работе проведено определение уровня цитокинов: IL-4, IL-10, TGF-β1, IFNγ спонтанного и индуцированного; иммуноглобулинов: IgA, IgM, IgG, sIgA в назальном секрете; лейкотриенов: LT C4/D4/E4 и LTB4 в плазме и общего IgE в сыворотке крови у больных с АР с ХРСБЭ среднетяжелого течения вне обострения. Показано, что ведущая роль в формировании воспалительного процесса при АР с ХРСБЭ принадлежит цитокинам: IL-4, IL-10, TGF-β; иммуноглобулинам: IgM, sIgA; лейкотриенам: LT C4/D4/E4 и LTB4 и общему IgE. Индуцированная продукция цитокинов в большей степени отражает резервные возможности иммунокомпетентных клеток в ответ на действие патогенного фактора. Полученные результаты связаны с персистирующим течением аллергического и инфекционного воспаления и прогрессированием заболевания. Таким образом, цитокины: IL-4, IL-10, TGF-β1; иммуноглобулины: IgM, sIgA, IgE общий и LT C4/D4/E4 и LTB4 вносят значимый вклад в патогенетические механизмы, определяя клиническое течение АР с ХРСБЭ, и могут служить биологическими маркерами активности патологического процесса. Несомненно, иммунные механизмы при сочетанной патологической воспалительной реакции со стороны слизистой при АР с ХРСБЭ сложны и многогранны. Персонифицированный подход к терапии больных с АР с ХРСБЭ определяется выраженностью и интенсивностью воспалительной реакции, а также нарушениями мукозального иммунитета слизистой. Изучение роли и значимости продукции ведущих цитокинов, иммуноглобулинов в назальном секрете, а также лейкотриенов и общего IgE в крови поможет врачу в определении тактики и длительности фармакотерапии.

Ключевые слова: аллергический ринит, мукозальный иммунитет, хронический риносинусит, воспаление, цитокины, иммуноглобулины, лейкотриены

Адрес для переписки:

Куликова Ольга Алексеевна
Пензенский институт усовершенствования врачей
440067, Россия, г. Пенза, ул. Колхозная, 112, кв. 57.
Тел.: 8 (987) 514-17-59.
E-mail: zai461@yandex.ru

Address for correspondence:

Kulikova Olga A.
Penza Institute for Advanced Training of Physicians
440067, Russian Federation, Penza, Kolkhoznaya str., 112, apt 57.
Phone: 7 (987) 514-17-59.
E-mail: zai461@yandex.ru

Образец цитирования:

О.А. Куликова, Е.А. Орлова, Н.И. Баранова, Е.М. Костина, О.А. Левашова «Иммунологические особенности аллергического ринита в сочетании с хроническим риносинуситом бактериальной этиологии» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 97-108. doi: 10.15789/1563-0625-IFO-2161

© Куликова О.А. и соавт., 2022

For citation:

O.A. Kulikova, E.A. Orlova, N.I. Baranova, E.M. Kostina, O.A. Levashova "Immunological features of allergic rhinitis in combination with chronic rhinosinusitis of bacterial etiology", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 97-108. doi: 10.15789/1563-0625-IFO-2161

DOI: 10.15789/1563-0625-IFO-2161

IMMUNOLOGICAL FEATURES OF ALLERGIC RHINITIS IN COMBINATION WITH CHRONIC RHINOSINUSITIS OF BACTERIAL ETIOLOGY

Kulikova O.A., Orlova E.A., Baranova N.I., Kostina E.M., Levashova O.A.

Penza Institute for Advanced Training of Physicians, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Penza, Russian Federation

Abstract. Rhinitis is a socially significant and widespread disease. Often, various forms of rhinitis are combined, and thus cause severe clinical manifestations, insufficient effectiveness of drug treatment, as well as difficulties in differential diagnosis. It is known that a significant number of patients have a combination of allergic rhinitis (AR) with chronic rhinosinusitis of bacterial etiology. This condition is based on a chronic multifactorial inflammatory process of the nasal mucosa, which determines the steady progression of the disease. Of interest is the study of a number of allergo-immunological parameters in nasal secretions in order to assess local inflammation and changes in mucosal immunity in allergic rhinitis in combination with chronic rhinosinusitis of bacterial etiology (AR with HRSBE). Mucosal immunity and biological mediators determine local inflammation and pathophysiological response to etiological factors in the immunopathogenesis of AR with CRSBE. The work carried out the determination of the level of cytokines: IL-4, IL-10, TGF-β1, IFNγ spontaneous and induced; immunoglobulins: IgA, IgM, IgG, sIgA in nasal secretions; leukotrienes: LT C4/D4/E4 and LTB4 in plasma and total IgE in serum in patients with AR with moderate-severity HRSBE without exacerbation. It has been shown that the leading role in the formation of the inflammatory process in AR with CRSBE belongs to cytokines: IL-4, IL-10, TGF-β; immunoglobulins: IgM, sIgA; leukotrienes: LT C4/D4/E4 and LTB4 and total IgE. Induced cytokine production largely reflects the reserve capabilities of immunocompetent cells in response to the action of a pathogenic factor. The results obtained are associated with the persistent course of allergic and infectious inflammation and the progression of the disease. Thus, cytokines: IL-4, IL-10, TGF-β1; immunoglobulins: IgM, sIgA, IgE total and LT C4/D4/E4 and LTB4 make a significant contribution to pathogenetic mechanisms, determining the clinical course of AR with CRSBE, and can serve as biological markers of the activity of the pathological process. Undoubtedly, the immune mechanisms in the combined pathological inflammatory reaction from the mucosa in AR with HRSBE are complex and multifaceted. A personalized approach to the treatment of patients with AR with CRSBE is determined by the severity and intensity of the inflammatory reaction, as well as mucosal mucosal immunity disorders. The study of the role and significance of the production of leading cytokines, immunoglobulins in nasal secretions, as well as leukotrienes and total IgE in the blood will help the doctor in determining the tactics and duration of pharmacotherapy.

Keywords: allergic rhinitis, mucosal immunity, chronic rhinosinusitis, inflammation, cytokines, immunoglobulins, leukotrienes

Введение

Риниты являются мультидисциплинарной проблемой, поскольку имеют широкую распространенность и различные клинико-патогенетические проявления [2, 33].

С каждым годом регистрируется все больше новых случаев, прогнозируется и дальнейший рост заболевания. Данная патология значительно снижает качество жизни, влияет на трудоспособность у социально-активного населения [2, 28]. Достаточно часто выявляется сочетание различных этиопатогенетических форм ринита. Нередко встречается сочетание аллергического ринита с бактериальным риносинуситом. Клинические проявления сочетанной патологии более тяжелые, заболевание характеризуются длительным течением и безуспешностью фармакотерапии. Эффективное проведение аллергенспецифической иммунотерапии у данной категории пациентов затруднено [15, 29]. Наибольшую сложность в вопросах этиопатогенеза, дифференциальной диагностики и терапии представляет АР, осложненный хронической инфекцией верхних дыхательных путей, и в частности, хроническим риносинуситом. Согласно данным литературы, сочетание АР с ХРСБЭ встречается в 41% случаев [5, 6].

АР с ХРСБЭ характеризуется хроническим персистирующим воспалением слизистой полости носа, при этом в его основе имеется сочетание аллергического и инфекционного ком-

понентов, что приводит к снижению защитной функции слизистых и нарушению местного иммунитета [5].

Одной из причин утяжеления течения патологического процесса при АР с ХРСБЭ связано со способностью антигенов микроорганизмов проявлять свойства суперантигенов и индуцировать нарушения иммунитета [5, 6]. Изучению патогенетических механизмов отдельных форм ринитов (аллергического ринита или хронического риносинусита) посвящено множество исследований. Однако многие патогенетические вопросы формирования и прогрессирования хронического воспалительного процесса в слизистой носа при сочетанной форме заболевания остаются дискутабельными и открытыми. Важную роль в патогенезе воспаления слизистой носа при АР с ХРСБЭ играет состояние иммунной реактивности организма. Особое значение имеет локальный иммунный ответ в очаге воспаления. Механизм воспаления в слизистой носа при АР с ХРСБЭ значительно отличается от такового при изолированном АР и хроническом бактериальном риносинусите, определяя особенности клинического течения и ответа на проводимую терапию. В каскад патологической иммуновоспалительной реакции вовлекаются различные медиаторы, цитокины и иммуноглобулины. При этом наиболее информативное значение будет иметь изменение данных показателей в очаге воспаления, а именно назальном секрете. В этой связи интерес представляет изучение у больных с АР с ХРСБЭ цитокинового профиля назального секрета. Согласно современным представлениям, цитокины – это многофункциональные медиаторы, продуцируемые иммунокомпетентными клетками в ответ на различные стимулы, как аллергического, так и инфекционного происхождения. Цитокины имеют широкий спектр биологической активности и участвуют в межклеточных взаимодействиях, регулируя каскадный иммуновоспалительный ответ. Значимая роль цитокинов как медиаторов заключается в регулировании активности и длительности иммунного ответа. При патологических состояниях они ответственны за характер и интенсивность воспалительного процесса [16]. Ключевым цитокином в развитии и поддержании хронического аллергического воспаления в слизистой полости носа является такой медиатор, как IL-4 [14, 15, 27]. В работе Кудайбергенова С.Ф. и соавт. в мазках-отпечатках со слизистой носа было выявлено значительное повышение уровня IL-4 у больных с АР, в то время как при инфекционных ринитах наблюдались следовые концентрации этого цитокина как в сыворотке, так и в носовом секрете. По мнению авторов, повышенный уровень IL-4 в назальном секрете с мазков-отпечатков со слизистой носа является ценным диагностическим критерием и показателем активности воспаления [14]. Зарубежными исследователями показано, что стимуляция IL-4 супернатанта В-клеток пациентов с аллергопатологией верхних дыхательных путей приводит подавлению продукции IgA, IgG и IgM и активации синтеза IgE [48].

Известно, что IL-4 способствует ремоделированию слизистой полости носа посредством стимуляции выработки фактора роста TGF-β, а также инициирует дифференциацию лимфоцитов по Th2-типу и экспрессию их цитокинов [27, 32]. В работе Булкиной О.З. и соавт. показано, что у больных с АР, осложненным очагами хронической инфекции рото- и носоглотки, отмечается нарушение мукозального иммунитета, характеризующееся достоверным повышением IL-4 и TGF-α и снижением содержания IFNγ, sIgA в слюне в сравнении с больными АР без очагов хронической инфекции. По мнению автора, выявленный дисбаланс изучаемых иммунных параметров является отрицательным прогностическим маркером, свидетельствующим о нарушении регуляторной функции цитокинов, что способствует поддержанию воспалительного процесса при АР в сочетании с хронической инфекцией [5].

IL-10 – наиболее важный противовоспалительный цитокин, оказывающий, главным образом, антивоспалительное и антицитокиновое действие. Основная роль IL-10 заключается в подавлении цитокинового каскада и тем самым ограничении и купировании воспалительного процесса. IL-10 усиливает функциональную активность В-лимфоцитов посредством активации Th2, и в сочетании с другими цитокинами, способен индуцировать синтез Ig [12, 24]. TGF-β, являясь одним из основных медиаторов воспаления, проявляет три основных вида биологической активности: ингибирует пролиферацию, обладает иммунносупрессорным эффектом и усиливает формирование межклеточного матрикса. Секретируется TGF-β различными иммунокомпетентными клетками только при их активации.

TGF-β существует в виде 3 изоформ, которые обозначаются как TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3. TGF-β1 характеризуется выраженной экспрессией и играет важную роль при воспалении слизистой. TGF-β1 обладает важными иммунорегуляторными свойствами, частично неблагоприятного характера: TGF-β1 ингибирует пролиферацию В- и Т-клеток, дифференцировку и синтез антител, а также созревание и активацию макрофагов. Кроме того он подавляет активность NK-клеток, а также блокирует синтез цитокинов [20, 47]. Определение TGF-β1 в периферической крови рекомендуется при диагностике различных заболеваний, связанных с хроническим воспалительным процессом [18]. Выявлено, что TGF-β1 участвует в процессе регуляции

восстановления эпителия верхних дыхательных путей [32]. Кроме того, TGF-β участвует в ремоделировании сосудов, а также принимает участие в процессе неоангиогенеза [55]. Однако работ по изучению роли данного цитокина при воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей на данный момент практически нет.

Согласно современным представлениям, секретируемый Т-лимфоцитами IFNγ – ключевой цитокин, проявляющий противовирусную и антибактериальную активность. Он оказывает иммуномодулирующий эффект, регулируя взаимодействия иммунокомпетентных клеток, активирует естественные киллеры и усиливает фагоцитоз [23]. Являясь продуктом Th1-типа, он вместе с другими провоспалительными цитокинами участвует в активации макрофагов, цитотоксических Т-лимфоцитов, натуральных киллеров, подавляя активность В-лимфоцитов, активизирует простагландиновую и кортикостероидную системы. За счет этих факторов усиливаются фагоцитарные и цитотоксические реакции в зоне очага воспаления, что способствует эффективной элиминации инфекционного агента [25].

Несомненно, изучение роли цитокинов в иммунопатогенезе АР с ХРСБЭ является актуальной задачей. На данный момент работы по изучению цитокинового профиля при сочетанной форме ринитов малочисленны. Следует отметить, что большая часть исследовательских работ по изучению уровня цитокинов проводилась в сыворотке крови. Современный научный интерес представляет изучение продукции цитокинов как резервной возможности иммунокомпетентных клеток именно в очаге воспаления. Определение уровня изучаемых медиаторов непосредственно в очаге воспаления, а именно назальном секрете, на наш взгляд, может более точно отражать характер и интенсивность воспалительной реакции и, соответственно, данный метод имеет большую информативность. Таким образом, исследование цитокинового профиля в биологическом экссудате непосредственно в очаге воспаления необходимо для изучения патологического механизма развития воспалительного процесса при данной патологии.

На современном этапе считается, что ведущая роль в патогенезе АР принадлежит IgE-опосредуемым аллергическим реакциям. В то же время известна роль общего IgE в развитии инфекционного процесса. IgE-опосредованные реакции участвуют в защите от большинства антигенов, включая и инфекционные. В ряде работ было установлено, что при развитии инфекции иммунная система отвечает активацией Th2 типа с повышением продукции IgE [7, 10]. Однако иммунный ответ на аллергены и инфекционные агенты не ограничивается образованием только IgE. Он связан и с другими классами иммуноглобулинов, которые также имеют большое значение. Определение уровня иммуноглобулинов в совокупности с другими показателями дает возможность оценить состояние иммунитета. Особый интерес представляет изучение уровня иммуноглобулинов в назальном секрете, поскольку хроническое воспаление способствует развитию локального транзиторного иммунодефицитного состояния, которое может быть обусловлено изменением их продукции.

Одним из компонентов защитной системы назального секрета является sIgA, имеющей большое значение в механизмах противомикробной и противовирусной защиты верхних дыхательных путей [51]. sIgA синтезируется плазматическими клетками под действием цитокинов и проявляет свою бактерицидную и противовирусную активность, связываясь с токсинами и лизоцимом. Так установлено, что снижение sIgA может указывать на недостаточность функции местного иммунитета, а его повышенное количество – на дисбаланс в иммунной системе [17]. В отечественной работе было выявлено снижение sIgA в слюне ($p < 0,05$) у больных среднетяжелым и тяжелым течением АР в сочетании с очагами хронической инфекции [5]. Помимо слизистых оболочек, IgA встречается в сыворотке крови. Оба IgA, секреторный и сывороточный, способны нейтрализовать и удалять патогены.

Основная роль IgA в защите слизистой оболочки заключается в обеспечении иммунного барьера, препятствующего проникновению микробных патогенов, посредством нейтрализации инфекционных агентов за счет блокирования поверхностных бактериальных адгезинов и активации фагоцитоза [19, 40, 44].

IgA способен снижать вязкость в воздухоносных путях, участвовать в механизмах микробного лизиса и фагоцитоза, запускать процесс инактивации патогенов, высвобождать провоспалительные медиаторы фагоцитами. Эти возможности свидетельствуют о его противовоспалительных свойствах [31]. IgG участвует в реакции воспаления, как аллергического, так и инфекционного, образуя комплекс «антиген-антитело», что способствует нейтрализации бактериальных экзотоксинов, фагоцитозу, фиксации комплемента [22].

IgM – первое антитело, секретируемое иммунной системой, в очаге воспаления, в ответ на действие чужеродного агента. IgM продуцируются плазматическими клетками, участвует в нейтрализации и в удалении патогенов, осуществляя воспалительный ответ через систему комплемента.

IgM может проникать через слизистые оболочки и, взаимодействуя с IgA, нейтрализует инфекционные агенты и облегчает клиренс апоптозных клеток [52].

Лейкотриены, LTB4 и цистеиниловые LT C4/D4/E4, генерируемые из арахидоновой кислоты, вовлечены в широкий спектр воспалительных реакций [49]. Общий биологический эффект лейкотриенов заключается в непосредственном участии в сложных биохимических реакциях аллергической и инфекционной воспалительной альтерации, что обуславливает основные симптомы ринита [9]. Суммарные лейкотриены вырабатываются преимущественно эозинофилами, базофилами, тучными клетками, в то время как LTB4 – нейтрофилами [13]. Лейкотриены LTC4 и LTD4 ответственны за такие патофизиологические реакции как спазм гладкомышечной мускулатуры, повышение сосудистой проницаемости и выделение слизистого секрета [21]. LTB4 обладает мощной хемоаттрактивной активностью в отношении нейтрофилов, обеспечивая их трансмиграцию в ткани.

Кроме того, LTB4 усиливает фагоцитарную активность макрофагов и вызывает высвобождение ими провоспалительных цитокинов, тем самым модулируя каскад воспалительной реакции [38]. Таким образом, LTB4 привлекая в очаг воспаления нейтрофилы, выступает в защите организма от различных патогенных факторов, в первую очередь инфекционного генеза. В то же время гиперпродукция данного медиатора может приводить к хронизации гнойно-воспалительного процесса. Имеет значение и взаимодействие LTB4 с другими иммунокомпетентными клетками. В присутствии IL-4 под действием LTB4 происходит дифференцировка В лимфоцитов и активируется синтез IgE [39, 46, 53]. LTB4, стимулируя как Т-хелперы ($CD4^+$), так и Т-супрессоры ($CD8^+$), регулирует механизм выработки интерферона. Остается открытым вопрос о роли лейкотриенов в патогенезе и прогнозе АР с ХРСБЭ.

Таким образом, имеющиеся сведения говорят об исключительной важности различных иммунологических показателей с точки зрения их патофизиологической роли и вклада в развитие воспалительной реакции при АР с ХРСБЭ.

Цель исследования – изучить иммунологические показатели у больных АР с ХРСБЭ.

Материалы и методы

В исследование включено 37 пациентов в возрасте от 18 до 55 лет с диагнозом «АР с ХРСБЭ» и 30 практически здоровых доноров, сопоставимых с исходной группой по возрасту и полу. Исследование проводилось на базе кафедры аллергологии и иммунологии и ЦНИЛ ГБОУ ДПО ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, иммуно-биохимической лаборатории ГБУЗ «Пензенский городской родильный дом».

Диагноз «АР с ХРСБЭ» выставлен в соответствии с клиническими рекомендациями и согласительным документом [1, 36, 41]. Критерии включения в исследование: больные с диагнозом «АР с ХРСБЭ» средней степени тяжести вне обострения, получающие базисную терапию интраназальными глюкокортикостероидами и антигистаминные препаратами, возраст пациентов от 18 до 55 лет, наличие информированного согласия на участие в исследовании. Критерии исключения: пациенты с диагнозом «АР с ХРСБЭ» с легкой и тяжелой формой заболевания, обострение на момент осмотра, тяжелая декомпенсированная соматическая и онкологическая патология, беременность и грудное вскармливание, а также нежелание участвовать в исследовании.

С целью верификации диагноза в соответствии со стандартами проводилось полное клинико-лабораторное, аллерго-иммунологическое и инструментальное обследование, а также консультации смежных специалистов по показаниям. Исследование иммунологических показателей назального секрета: IgA, IgG, IgM, sIgA, цитокинов: IL-4, IL-10, IFNγ, TGF-β проведено в Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ПИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (заведующая ЦНИЛ – доцент, д.б.н. Баранова Н.И.).

Определение концентрации цитокинов в назальном секрете: IL-4, IL-10, IFNγ, TGF-β осуществлялось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи тест-систем «Интерлейкина-4-ИФА-Бест», «Интерлейкина-10-ИФА-Бест», «IFNγ-ИФА-Бест» (АО «Вектор-БЕСТ», Россия), «Human TGF beta 2 Platinum ELISA TGF-β2 человека» (eBioscience, США).

Определение концентрации иммуноглобулинов в назальном секрете: IgA, IgG, IgM, sIgA осуществлялось методом радиальной иммунодиффузии в агаровом геле по Манчини.

Назальный секрет для исследования собирали на смоченный изотоническим раствором 0,9 % NaCl ватный тупфер, который помещали в средний носовой ход на 30 сек, затем ватку переносили в пластиковую микропробирку с физиологическим раствором в объеме 0,75 мл и замораживали при температуре минус 20 °С. Перед исследованием производили быстрое размораживание. Пробирки центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об/мин, в дальнейшем работали с надосадочной жидкостью. Определение общего IgE в сыворотке крови проведено методом ИФА наборами («Алкор Био», Россия).

Исследование уровня лейкотриенов LT C4/D4/E4 и LTB4 в плазме крови проведено в иммуно-биохимической лаборатории ГБУЗ «Пензенский городской родильный дом». Определение уровня суммарных LT C4/D4/E4 и LTB4 проведено в плазме крови методом ИФА при помощи реактивов Neogencorporation (США).

Статистическая обработка материала проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 на персональном компьютере. Показатели представлены в виде: среднее ± стандартное отклонение, медианы (Me) и квартилей ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$). При сравнении групп между собой использовался критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считали результаты при ($p < 0,05$).

Результаты

В группу с АР с ХРСБЭ вошли 24 женщины (65,12%) и 13 мужчин (34,88), средний возраст пациентов составил 34,40±1,42 года.

В ходе исследования у больных с АР с ХРСБЭ в сравнении с группой контроля были получены следующие параметры, представленные в таблице 1.

Значимых изменений уровня цитокинов: IFNγ спонтанного, IFNγ индуцированного, а также иммуноглобулинов: IgA, IgG между АР с ХРСБЭ и контрольной группой выявлено не было ($p > 0,05$).

Показатель спонтанного и индуцированного IFNγ в группе с АР с ХРСБЭ составил 1,87±0,56 пг/мл и 271,95±62,91 пг/мл, в контрольной группе – 1,25±0,55 пг/мл ($p = 0,1486$) и 215,20±35,37 пг/мл ($p = 0,9434$) соответственно.

Значения уровня иммуноглобулинов: IgA – 2,27±0,12 г/л и IgG – 13,32±0,5 г/л у больных АР с ХРСБЭ и здоровых лиц IgA – 2,28±0,16 г/л и IgG – 13,37±0,66 г/л также существенно не отличались ($p = 0,8363$ и $p = 0,7713$ соответственно).

Значимые изменения по сравнению с группой контроля выявлены по показателям уровня цитокинов: IL-4, IL-10, TGF-β; иммуноглобулинов: IgE, IgM, sIgA и лейкотриенов: LT C4/D4/E4 и LTB4 ($p > 0,05$).

У больных АР с ХРСБЭ отмечено повышение продукции IL-4 в 3,4 раза в сравнении с результатами, полученными у здоровых. В группе пациентов с АР с ХРСБЭ уровень IL-4 составил 32,38±2,61 пг/мл, в то время как в группе здоровых доноров показатель был 9,60±1,38 пг/мл ($p = 0,0000$).

Значение IL-10 у больных АР с ХРСБЭ составило 6,87±0,81 пг/мл, что в 1,6 раза выше в сравнении с результатами, полученными у здоровых лиц 4,13±0,55 пг/мл ($p = 0,3662$).

Продукция TGF-β в назальном секрете у больных с АР с ХРСБЭ также значимо различалась в сравнении со здоровыми донорами. В нашем исследовании уровень TGF-β у больных АР с ХРСБЭ составил 1390,540±91,75 пг/мл, что в 2,7 раза выше в сравнении с результатами, полученными у здоровых лиц – 520,69±64,01 пг/мл ($p = 0,0000$).

При сравнении данных нами было выявлено достоверное увеличение уровня IgE в 3,6 раза, у больных с АР с ХРСБЭ показатель составил – 200,30±10,09 г/л, у здоровых доноров – 55,08±6,2 г/л ($p = 0,000$).

По уровню IgM также выявлены значимые отличия у больных с АР с ХРСБЭ в сравнении с группой контроля. Уровень IgM в группе больных был снижен 1,5 раза и составил 1,45±0,10 г/л, в то время как в контрольной группе – 2,14±0,25 г/л ($p = 0,0375$).

Аналогичные данные получены и по sIgA. Средний уровень показателя sIgA в группе больных АР с ХРСБЭ был достоверно снижен 2,2 раза и составил 7,47±0,75 г/л, у здоровых лиц – 16,44±2,75 г/л ($p = 0,0481$).

При анализе данных LT C4/D4/E4 и LTB4 выявлено достоверное увеличение показателей у пациентов с АР с ХРСБЭ в сравнении со здоровыми донорами. Согласно нашим данным, уровень LT C4/D4/E4 в группе АР с ХРСБЭ был в 5,1 раза, а LTB4 в 9,5 раз выше по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,05$). У больных АР с ХРСБЭ уровень суммарных LT C4/D4/E4 составил 3,25±0,16 нг/мл, у здоровых – 0,64±0,12 нг/мл ($p = 0,00$). Уровень LTB4 у пациентов с АР с ХРСБЭ составил 14,43±0,57 нг/мл, в то время как в группе контроля данный показатель был 1,52±0,21 нг/мл ($p = 0,00$).

Обсуждение

Отсутствие изменений цитокинов назального секрета: IFNγ спонтанного, IFNγ индуцированного у больных АР с ХРСБЭ возможно обусловлено тем, что повышенная выработка данного цитокина связана прежде всего с вирусной инфекцией. В нашем исследовании у больных АР с ХРСБЭ этиопатогенетической причиной воспалительной реакции была персистирующая бактериальная инфекция. Полученные результаты нашли отражение в других исследовательских работах [3, 4, 42].

Известно, что IgA, IgG взаимодействуют друг с другом, ослабляя тем самым воспалительные реакции. В нашем исследовании иммунопатологические изменения назального секрета при АР с ХРСБЭ не затронули продукцию иммуноглобулинов: IgA, IgG. Это может быть связано с тем, что данные иммуноглобулины не имеют ведущего значения в патогенезе воспаления при АР с ХРСБЭ. В доступной литературе, имеются сведения об изменении концентрации данных Ig при различных формах ринитов, однако в отличие от нашего исследования эти показатели определялись в сыворотке крови [30, 37].

Высокие значения IL-4, IL-10 в назальном секрете указывают на персистенцию воспаления в слизистой полости носа, причем как аллерги-

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПАЦИЕНТОВ С АР С ХРСБЭ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ, M±m, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)

TABLE 1. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF PATIENTS WITH AR WITH HRSBE AND HEALTHY DONORS, M±m, Me ($Q_{0.25}$-$Q_{0.75}$)

Параметры Parameters	**Здоровые** Healthy (n = 30)	**АР с ХРСБЭ** AR with CRoBE (n = 37)
Общий IgE, МЕ/мл Total IgE, ME/ml	55,08±6,20 55,20 (32,00-72,60)	200,30±10,09* 216,50 (158,90-240,60)
sIgA, МЕ/мл sIgA, ME/ml	16,44±2,75 12,00 (5,50-26,00)	7,47±0,75* 7,80 (5,00-8,80)
IgM, МЕ/мл IgM, ME/ml	2,14±0,25 1,80 (1,40-2,60)	1,45±0,10 * 1,40 (1,00-1,80)
IgA, МЕ/мл IgA, ME/ml	2,28±0,16 2,20 (2,00-2,80)	2,270±0,12 2,20 (2,00-2,80)
IgG, МЕ/мл IgG, ME/ml	13,37±0,66 13,80 (11,00-13,80)	13,32±0,50 13,80 (11,00-14,40)
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	4,13±0,55 4,80 (1,30-5,90)	6,87±0,81* 5,90 (4,20-8,10)
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	9,60±1,38 7,80 (1,90-17,00)	32,380±2,61 * 32,80 (22,40-44,00)
TGF-β, пг/мл TGF-β, pg/ml	520,69±64,01 515,00 (245,00-675,00)	1390,540±91,75* 1385,00 (1045,00-1790,00)
IFNγ спонтанный, пг/мл IFNγ spontaneous, pg/ml	1,25±0,55 0,00 (0,00-0,50)	1,87±0,56 0,60 (0,00-2,00)
IFNγ индуцированный, пг/мл IFNγ induced, pg/ml	215,20±35,57 185,40 (53,00-311,50)	271,95±62,91 160,80 (72,30-353,00)
LT C4/D4/E4, нг/мл LT C4/D4/E4, ng/ml	0,64±0,12 0,43 (0,21-1,00)	3,25±0,16 * 3,19 (2,64-4,12)
LTB4, нг/мл LTB4, ng/ml	1,52±0,21 1,21 (0,96-1,45)	14,43±0,57* 15,06 (12,27-17,05)

Примечание. * – статистически значимое различие показателей между группами больных АР с ХРСБЭ и контрольной группой (Mann–Whitney тест, p < 0,05).

Note. *, statistically significant difference in indicators between the groups of patients with AR with CRSBE and the control group (Mann–Whitney test, p < 0.05).

ческого, так и инфекционного его компонентов, несмотря на лечение назальными глюкокортикостероидами. IL-4 является потенциально ключевым медиатором в патогенезе аллергического воспаления слизистой носа. Полученные нами результаты согласуются с литературными данными [8, 35]. В то же время есть данные об участии IL-4, IL-10, как противовоспалительных медиаторов в индукции и поддержании инфекционно-воспалительного процесса [48]. Таким образом, наши результаты гиперпродукции изучаемых цитокинов, можно объяснить сложным механизмом воспаления в слизистой носа.

TGF-β1 – многофункциональный цитокин, одно из свойств которого заключается в регуляции воспалительной реакции посредством межклеточных взаимодействий с иммунокомпетентными клетками [20, 47]. Второе не менее важное свойство этого цитокина это непосредственное участие в процессах пролиферации и заживления на фоне воспалительного процесса через активацию им хемотаксиса иммунокомпетентных клеток и фибробластов. Возможно, что положительная противовоспалительная роль TGF-β становится проблематичной в тот момент, когда степень активации клеток, продуцирующих этот цитокин, перестает быть адекватной, и первоначально защитный механизм перерастает в патологический процесс, что и способствует хронизации воспалительного процесса. По нашему мнению, выявленное повышение в несколько раз уровня TGF-β1 также обусловлено плохо контролируемым воспалительным процессом в слизистой полости носа у пациентов с АР с ХРСБЭ. Исходя из биологических особенностей TGF-β1, можно предположить, что результатом отрицательного «перепроизводства» данного цитокина является нарушение пролиферативных процессов в слизистой носа. Кроме того, возможно, что повышенное содержание этого фактора при АР с ХРСБЭ также отражает механизм неоангиогенеза и ремоделирования сосудов слизистой, которое сопровождает данную патологию [26]. Согласно современным исследованиям, известно, что в основе

хронического воспаления имеется увеличение продукции ростовых факторов, к которым и относится TGF-β1 [18], поэтому полученные нами результаты совпадают с имеющимися современными сведениями о биологичекой роли данного цитокина. Ряд авторов [18] рассматривает дисбаланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами в сторону последних, считая их основой развития и поддержания хронического воспаления, исходом которого является развитие иммунодефицитного состояния [20, 47]. Таким образом, учитывая патофизиологические эффекты IL-4, IL-10, TGF-β1 и полученные нами собственные данные можно полагать, что они играют значимую роль в формировании воспалительной реакции в слизистой у больных АР с ХРСБЭ. Изучение уровня IL-4, IL-10 и TGF-β1 при АР с ХРСБЭ безусловно, имеет фундаментальное и практическое значение с позиций поиска средств для целенаправленного воздействия на процессы воспаления.

В нашем исследовании выявлено повышенное содержание общего IgE в сыворотке крови, что связано с наличием аллергического воспаления в ответ на аллергенную стимуляцию у пациентов с АР с ХРСБЭ. Повышенное содержание IgE стимулирует тучные клетки и базофилы к высвобождению гистамина и других биологически активных медиаторов, что приводит к развитию основных симптомов ринита [10]. Кроме того, как описано выше, повышение общего IgE при гнойно-воспалительных реакциях взаимосвязано с хронизацией процесса и частыми рецидивами. В соответствии с этим, полученные результаты можно связать с неблагоприятным течением АР с ХРСБЭ [7].

Секреторный IgA – ключевой иммуноглобулин, обеспечивающий локальную иммунную защитную реакцию, и в первую очередь, слизистых [11]. Согласно современным представлениям, снижение местного иммунитета, а именно sIgA, возможно приводит к хронизации процесса. Из этого следует, что полученные нами результаты сниженного уровня sIgA свидетельствуют о развитии локального иммунодефицита, что способствует к хроническому, плохо контролируемому течению заболевания. Аналогичные результаты приводятся в других отечественных и зарубежных работах [11, 40].

Интересным фактом было то, что в нашем исследовании у больных с АР с ХРСБЭ выявлены очень низкие значения IgM. Возможно, снижение уровня IgM, который прежде всего выполняет защитную функцию и обеспечивает связывание и гибель инфекционных агентов, является прогностически неблагоприятным фактором, так как снижается противоинфекционная защита организма и формируется локальное иммунодефицитное состояние. Полученные данные также являются значимыми для выбора адекватной, учитывающей данные изменения, терапии.

При воспалении происходит изменение метаболизма арахидоновой кислоты с повышением синтеза лейкотриенов [49]. АР с ХРСБЭ – состояние, которое характеризуется смешанным характером воспалительной реакции. Повышенный уровень цистеиновых LT C4/D4/E4 обуславливает аллергическую составляющую воспалительной реакции у больных АР с ХРСБЭ [21]. Увеличенная в несколько раз продукция LTB4, являющегося мощным хемоаттрактантом и активатором нейтрофилов, свидетельствует об активности инфекционно-воспалительного процесса в слизистой. В патогенезе АР с ХРСБЭ важную роль играет персистенция хронической бактериальной инфекции, которая также может выступать в качестве суперантигенов, в этой связи полученные нами данные совпадают с литературными сведениями [43].

Таким образом, для больных АР с ХРСБЭ характерен смешанный механизм воспаления в слизистой что, несомненно, нужно учитывать при выборе метода фармакотерапии. Применительно к клинической ситуации, учитывая полученные результаты, пациентам с АР с ХРСБЭ будет целесообразным проведение местной иммуномодулирующей терапии в комбинации с базисной противоаллергической. Как показало наше исследование, назначение только интраназальных глюкокортикостероидов и антигистаминных средств не полностью купирует воспалительный процесс в слизистой носа. Кроме того, использование глюкокортикостероидов в режиме постоянного применения является не только недостаточно эффективным, но может привести к нежелательным побочным эффектам, в частности, к поддержанию инфекционной составляющей воспаления.

Заключение

Воспаление в слизистой полости носа при АР с ХРСБЭ имеет смешанный иммунный характер с вовлечением в патофизиологический процесс различных цитокинов и иммуноглобулинов. Иммунопатогенез АР с ХРСБЭ характеризуется: повышением продукции цитокинов: IL-4, IL-10, TGF-β; дисбалансом уровня иммуноглобулинов: повышением общ IgE в сыворотке и снижением IgM, sIgA в назальном секрете; а также повышением продукции лейкотриенов: LT C4/D4/E4 и LTB4. Измененная продукция, изученных нами цитокинов, определяет активность воспалительного процесса. Полученные результаты повышенной продукции цитокинов отражает функциональную резервную возможность иммунокомпетентных клеток на воздействие различных факторов: инфекционного и аллергического

характера, действие которых имеется при АР с ХРСБЭ. Изучение цитокинов именно в назальном секрете может более точно отражать характер и активность воспаления при АР с ХРСБЭ. Дисбаланс иммуноглобулинов назального секрета, а именно уменьшение IgM, sIgA характеризует развитие локального иммунодефицитного состояния. LTB4 поддерживает гнойно-воспалительный механизм развития АР с ХРСБЭ, в то время как суммарные LT C4/D4/E4 – аллергический. Измененные иммунологические показатели являются иммунологическими маркерами воспалительного ответа при АР с ХРСБЭ. Цитокины, иммуноглобулины и лейкотриены играют немаловажную роль в клиническом течении заболевания и ответе на проводимую терапию, что, несомненно, следует учитывать при выборе метода лечения пациентов с данной патологией. Дальнейшее изучение локальной продукции цитокинов, и иммуноглобулинов и лейкотриенов позволит более точно определить иммунные механизмы формирования АР с ХРСБЭ и персонифицировать проводимую терапию с учетом сложного патогенетического механизма.

Список литературы / References

1. Арефьева Н.А., Вишняков В.В., Иванченко О.А., Карпищенко С.А., Киселев А.Б., Козлов В.С., Козлов Р.С., Косяков С.Я., Кочетков П.А., Лопатин А.С., Накатис Я.А., Отвагин И.В., Пискунов Г.З., Поляков Д.П., Туровский А.Б. Хронический риносинусит: патогенез, диагностика и принципы лечения (клинические рекомендации). Под ред. А.С. Лопатина; Российское о-во ринологов. М.: Практическая медицина, 2014. 64 с. [Arefyeva N.A., Vishnyakov V.V., Ivanchenko O.A., Karpishchenko S.A., Kiselev A.B., Kozlov V.S., Kozlov R.S., Kosyakov S.Ya., Kochetkov P.A., Lopatin A.S., Nakatis Ya.A., Otvagin I.V., Piskunov G.Z., Polyakov D.P., Turovsky A.B. Chronic rhinosinusitis: pathogenesis, diagnosis and principles of treatment: (clinical recommendations). Ed. A.S. Lopatin; Russian Society of Rhinologists]. Moscow: Practical Medicine, 2014. 64 p.

2. Астафьева Н.Г., Кобзев Д.Ю., Гамова И.В., Перфилова И.А., Удовиченко Е.Н., Скучаева Л.В., Михайлова И.Э. Многоликий ринит: современный взгляд на диагностику и алгоритм лечения // Лечащий врач, 2018. № 4. С. 7-18. [Astafyeva N.G., Kobzev D.Yu., Gamova I.V., Perfilova I.A., Udovichenko E.N., Skuchaeva L.V., Mikhailova I.E. Multifaceted rhinitis: a modern view of diagnosis and treatment algorithm. *Lechashchiy vrach = Attending Physician, 2018, no. 4, pp. 7-18.* (In Russ.)]

3. Баранова И.П., Малова И.А. Уровни спонтанного и индуцированного γ-интерферона при гриппе и респираторно-синцитиальной инфекции // Эпидемиология и инфекционные болезни, 2017. № 4. С. 178-182. [Baranova I.P., Malova I.A. Levels of spontaneous and induced gamma interferon in influenza and respiratory syncytial infection. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases. 2017, no. 4, pp. 178-182.* (In Russ.)]

4. Баранова И.П., Малова И.А., Баранова Н.И. Спонтанный и индуцированный γ-интерферон у больных гриппом и респираторно-синцитиальной инфекцией // Известия ВУЗов. Поволжский регион. Медицинские науки, 2017. № 2 (42). С. 42-53. [Baranova I.P., Malova I.A., Baranova N.I. Spontaneous and induced gamma interferon in patients with influenza and respiratory syncytial infection. *Izvestiya VUZov. Povolzhskiy region. Meditsinskie nauki = News of Universities. Volga Region. Medical Sciences, 2017, no.2 (42), pp. 42-53.* (In Russ.)]

5. Булкина О.З., Маркова Т.П. Клинико-иммунологическая характеристика больных круглогодичным аллергическим ринитом с очагами хронической инфекции рото- и носоглотки // Иммунология, 2007. № 1. С. 46-49. [Bulkina O.Z., Markova T.P. Clinical and immunological characteristics of patients with year-round allergic rhinitis with foci of chronic infection of the oropharynx and nasopharynx. *Immunologiya = Immunologiya, 2007, no. 1, pp. 46-49.* (In Russ.)]

6. Дзагоева Э.Э., Пухаева М.О., Еналдиева З.Н. Аллергический ринит, осложненный очагами хронической инфекции верхних дыхательных путей // Наука в современном информационном обществе. США, 2018. С. 11-12. [Dzagoeva E.E., Puhaeva M.O., Enaldieva Z.N. Allergic rhinitis complicated by foci of chronic upper respiratory tract infection. *Nauka v sovremennom informatsionnom obshchestve. SShA = Science in the Modern Information Society. USA, 2018, pp. 11-12.* (In Russ.)]

7. Дружинина Т.А., Молотилов Б.А., Ивачев А.С., Песков А.В., Левашова О.А., Титова Е.В. Оценка уровня иммуноглобулина Е у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями и его влияния на течение инфекционного процесса // Вестник хирургии, 2008. № 6. С. 40-43. [Druzhinina T.A., Molotilov B.A., Ivachev A.S., Peskov A.V., Levashova O.A., Titova E.V. Assessment of the level of immunoglobulin e in patients with purulent-inflammatory diseases and its effect on the course of the infectious process. *Vestnik khirurgii = Bulletin of Surgery, 2008. no. 6, pp. 40-43.* (In Russ.)]

8. Ешмолов С.Н., Ситников И.Г., Мельникова И.М. Цитокины ФНО-α, ИФН-γ, ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-8 и их роль в иммунном ответе при инфекционном поражении ЦНС у детей // Детские инфекции, 2018. Т. 17, № 1. С. 17-22. [Esmolov S.N., Sitnikov I. G., Melnikova I. M. The role of cytokines TNF-α, IFN-γ, IL-1, IL-4, IL-8 in the immune response in infectious lesions of CNS in children. *Detskie infektsii = Children Infections, 2018, Vol. 17,no. 1, pp. 17-22.* (In Russ.)]

9. Жарких М., Яблонский С., Мокроносова М. Значение лейкотриенов и антилейкотриеновых препаратов при аллергическом рините // Педиатрическая фармакология, 2009. Т. 6, № 5. С. 20-29. [Zharkikh M.,

Yablonsky S., Mokronosova M. Leukotrienes and antileukotriene drugs in allergic rhinitis. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology, 2009, Vol. 6, no. 5, pp. 20-29.* (In Russ.)]

10. Железникова Г.Ф. Иммуноглобулин Е: Биологическая роль при инфекционных заболеваниях // Медицинская иммунология, 2002. Т. 4, № 4-5. С. 515-534. [Zheleznikova G.F. Immunoglobulin E: Biological role in infectious diseases. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2002, Vol. 4, no.4-5, pp. 515-534.* (In Russ.)]

11. Зеленов П.В. Секреторный иммуноглобулин А, как фактор местной защиты слизистой дыхательных путей и причины его снижения [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.aspirans.com/sekretornyi-immunoglobulin-kak-faktor-mestnoi-zashchity-slizistoi-dykhatelnykh-putei-i-prichiny-ego-#/. [Zelenov P.V. Secretory immunoglobulin A as a factor of local protection of the mucous membrane of the respiratory tract and the causes of its decline [Electronic resource]. Access mode: http://www.aspirans.com/sekretornyi-immunoglobulin-kak-faktor-mestnoi-zashchity-slizistoi-dykhatelnykh-putei-i-prichiny-ego-#/.

12. 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.

13. Княжеская Н.П. Аспириновая бронхиальная астма и антагонисты лейкотриенов // Российский медицинский журнал, 2000. Т. 8, № 12. С. 505-509. [Knyazheskaya N.P. Aspirin bronchial asthma and leukotriene antagonists. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology, 2000, Vol. 8, no. 12, pp.505-509.* (In Russ.)]

14. Кудайбергенова С.Ф., Джаркинбекова Г.К., Жайсакова Д.Е. Прогностическое значение интерлейкина-4 при аллергических ринитах // Омский научный вестник, 2014. № 2 (134). С. 105-107. [Kudaibergenova S.F., Dzharkinbekova G.K., Zhaysakova D.E. Prognostic value of interleukin-4 in allergic rhinitis. *Omskiy nauchnyy vestnik = Omsk Scientific Bulletin, 2014, no. 2 (134), pp. 105-107.* (In Russ.)]

15. Лопатин А.С. Ринит: руководство для врачей. М.: Литтерара, 2010. 417 с. [Lopatin A.S. Rhinitis: a guide for doctors]. Moscow: Litterara, 2010. 417 p.

16. Макарова В.И., Макаров А.И. Роль цитокинов в реализации воспалительной реакции // Экология человека, 2008. № 5. С. 31-35. [Makarova V.I., Makarov A.I. The role of cytokines in the implementation of an inflammatory reaction. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology, 2008, no. 5, pp. 31-35.* (In Russ.)]

17. Совалкин В.И., Алтынова Е.И., Нестерова К.И., Нестерова К.И., Ломброзо А.В. Роль изучения факторов местного иммунитета при патологии дыхательных путей // Фундаментальные исследования, 2011. № 10-1. С. 151-154. [Sovalkin V.I., Altynova E.I., Nesterova K.I., Nesterova K.I., Lombroso A.V. The role of studying local immunity factors in respiratory tract pathology. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research, 2011, no. 10-1, pp. 151-154.* (In Russ.)]

18. 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. 206-216. [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. 206-216.* (In Russ.)]

19. Москалец О.В. Иммуноглобулин а и его селективный дефицит // Казанский медицинский журнал, 2017. № 5. С. 809-813. [Moskalets O.V. Immunoglobulin a and its selective deficiency. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal, 2017, no. 5, pp. 809-813.* (In Russ.)]

20. Пелипенко Л.В., Сергиенко А.В., Ивашев М.Н. Эффекты трансформирующего фактора роста бета-1 // Международный журнал экспериментального образования, 2015. № 3-4. С. 558-559. [Pelipenko L.V., Sergienko A.V., Ivashev M.N. Effects of transforming growth factor beta-1. *Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimentalnogo obrazovaniya = International Journal of Experimental Education, 2015, no. 3-4, pp. 558-559.* (In Russ.)]

21. Пыцкий В.А., Адрианова Н.В., Артомасова А.В. Аллергические заболевания. М.: Медицина, 1999. С. 91-102. [Pytskiy V.A., Adrianova N.V., Artomasova A.V. Allergic diseases]. Moscow: Medicine, 1999, pp. 91-102.

22. Розенштейн М.Ю., Ихалайнен Е.С., Кондаков С.Э., Прокопцева О.С., Розенштейн А.З. Применение методологии неспецифических биосенсоров в иммунологии на примере интерпретации титров специфических IgG человека // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. 2011. № 3. С. 230-236. [Rosenstein M.Yu., Ikhalainen E.S., Kondakov S.E., Prokoptseva O.S., Rosenstein A.Z. Application of the methodology of non-specific biosensors in immunology by the example of interpretation of specific human IgG titers. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 2. Khimiya. = Bulletin of the Moscow University. Series 2. Chemistry, 2011, no. 3, pp. 230-236.* (In Russ.)]

23. Самбуров Н.В., Федоров Ю.Н. Характеристика гуморальной и клеточной систем защиты организма животных // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии, 2008. № 6. С. 59-64. [Samburov N.V., Fedorov Yu.N. Characteristics of humoral and cellular systems of animal body protection. *Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii = Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy, 2008, no. 6, pp. 59-64.* (In Russ.)]

24. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., Семенов Н.В., Гузовская Е.В. Интерлейкин-1, интерлейкин-10 в регуляции воспалительного процесса // Сибирский медицинский журнал (Иркутск), 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 (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk), 2012, no. 8, pp. 5-7.* (In Russ.)]

25. Сологуб Т.В., Цветков В.В., Деева Э.Г. Интерферон гамма-цитокин с противовирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова, 2014. № 3. С. 56-60. [Sologub T.V., Tsvetkov V.V., Deeva E.G. Interferon gamma cytokines with antiviral, immunomodulatory and antitumor activity. *Rossiyskiy mediko-biologicheskiy vestnik im. akad. I.P. Pavlova. = I. Pavlov Russian Medical Biological Bulletin, 2014, no. 3, pp. 56-60.* (In Russ.)]

26. Степанов Е.Н. Роль нарушения микроциркуляции слизистой оболочки полости носа в патогенезе различных форм хронического ринита // Практическая медицина. 2011. № 51. С. 11-14. [Stepanov E.N. The role of microcirculation disorders of the nasal mucosa in the pathogenesis of various forms of chronic rhinitis. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine, 2011, no. 51, pp. 11-14.* (In Russ.)]

27. Суровенко Т.Н., Невзорова В.А., Овчинникова О.В., Маркелова Е.В. Системная и локальная секреция интерлейкина-4 и иммуноглобулина Е при бронхильной астме и аллергическом рините // Медицинская иммунология, 2002. Т. 4, № 4-5. С. 559-564. [Surovenko T. N., Nevzorova V. A., Ovchinnikova O. V., Markelova E.V. Systemic and local secretion of interleukin-4 and immunoglobulin E in bronchial asthma and allergic rhinitis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2002, Vol. 4, no. 4-5, pp. 559-564.* (In Russ.)]

28. Тимчук Л.Э., Рязанцев С.В. Иммунопатогенетические особенности гнойных риносинуситов и современные подходы к их лечению // Российская оториноларингология, 2009. № 5/42. С. 156-163. [Timchuk L.E., Ryazantsev S.V. Immunopathogenetic features of purulent rhinosinusitis and modern approaches to their treatment. *Rossiyskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology, 2009, no. 5/42, pp. 156-163.* (In Russ.)]

29. Трушенко Н.В. Аллергический ринит: современный взгляд на патогенез, диагностику и лечение // Астма и аллергия, 2014. № 1. С. 3-8. [Trushenko N.V. Allergic rhinitis: a modern view on pathogenesis, diagnosis and treatment. *Astma i allergiya = Asthma and Allergy, 2014, no. 1, pp. 3-8.* (In Russ.)]

30. Фаюршин А.З., Еникеев Д.А., Еникеев О.А. Сравнительная оценка уровней иммуноглобулинов A, M, G, E в сыворотке крови и Ig e в назальном секрете при поллинозе // Медицинский вестник Башкортостана, 2008. № 1. С. 27-29. [Fayurshin A.Z., Enikeev D.A., Enikeev O.A. Comparative assessment of the levels of immunoglobulins a, m, g, e in blood serum and Ig e in nasal secretions in pollinosis. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Bulletin of Bashkortostan, 2008, no. 1, pp. 27-29.* (In Russ.)]

31. Хаитов М.Р., Ильина Н.И., Лусс Л.В., Бабахин А.А. Мукозальный иммунитет респираторного тракта и его роль при профессиональных патологиях // Медицина экстремальных ситуаций, 2017. № 3 (61). С. 8-24. [Khaitov M.R., Ilyina N.I., Luss L.V., Babakhin A.A. Mucosal immunity of the respiratory tract and its role in occupational pathologies. *Meditsina ekstremalnykh situatsiy = Medicine of Extreme Situations, 2017, no. 3 (61), pp. 8-24.* (In Russ.)]

32. Чернышева О.Е. Маркеры ремоделирования дыхательных путей при бронхолегочных заболеваниях // Здоровье ребенка. 2014. № 7 (58). С. 80-83. [Chernysheva O.E. Markers of remodeling of the respiratory tract in bronchopulmonary diseases. *Zdorovye rebenka = Child's Health, 2014, no.7 (58), pp. 80-83.* (In Russ)].

33. Шамкина П.А., Кривопалов А.А., Рязанцев С.В., Шнайдер Н.А., Гайдуков С.С., Шарданов З.Н. Эпидемиология хронических риносинуситов // Современные проблемы науки и образования, 2019. № 3. С. 188. [Shamkina P.A., Krivopalov A.A., Ryazantsev S.V., Schneider N.A., Gaidukov S.S., Shardanov Z.N. Epidemiology of chronic rhinosinusitis. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education, 2019, no. 3, p. 188.* (In Russ.)]

34. Aalberse R.C., Stapel S.O., Schuurman J., Rispens T. Immunoglobulin G4: an odd antibody. *Clin. Exp. Allergy, 2009, Vol. 39, no. 4, pp. 469-477.*

35. Akhayeva A.S., Skosarev I.A., Akhmaltdinova L.L., Sin M.A., Zhupenova D.Ye. The characteristics of interleukin-4 at children with allergic rhinitis. *Medicine and Ecology (Kazakhstan), 2014, no. 1 (70), pp. 21-23.*

36. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma, 2018.

37. Bakema J.E., van Egmond M. The human immunoglobulin A Fc receptor FcαRI: a multifaceted regulator of mucosal immunity. *Mucosal Immunol., 2011, Vol. 4, no. 6, pp. 612-624.*

38. Beck-Speier I., Dayal N., Karg E., Maier K.L., Schumann G., Semmler M., Koelsch S.M. Oxymetazoline inhibits proinflammatory reactions: effect on arachidonic acid-derived metabolites. *J. Pharmacol. Exp. Ther., 2006, Vol. 316, no. 2, pp. 843-851.*

39. Bousquet J. Pathophysiology of allergic rhinitis. *Int. Arch. Allergy Immunol., 1996, Vol. 110, pp. 207-218.*

40. Corthësy B. Secretory immunoglobulin A: well beyond immune exclusion at mucosal surfaces. *Immunopharmacol. Immunotoxicol., 2009, Vol. 31, no. 2, pp. 174-179.*

41. de Sousa-Pereira P., Woof J.M. IgA: Structure, Function, and Developability. *Antibodies (Basel), 2019, Vol. 8, no. 4, 57.* doi: 10.3390/antib8040057.

42. European Position Paper on Rhinosinusitus and Nasal Polyps 2012.

43. Jin H.R., Okamoto Y., Matsuzaki Z., Endo S., Ito E. Cetirizine decreases interleukin-4, interleukin-5, and interferon-gamma gene expressions in nasal-associated lymphoid tissue of sensitized mice. *Am. J. Rhinol., 2002, Vol. 16, no. 1, pp. 43-48.*

44. Kwon S.-Y., Kim J.-H. Role of leukotriene B_4 receptor-2 in mast cells in allergic airway inflammation. *Int. J. Mol. Sci., 2019, Vol. 20, no. 12, 2897.* doi: 10.3390/ijms20122897.

45. Lamm M.E., Nedrud J.G., Kaetzel C.S., Mazanec M.B. IgA and mucosal defense. *APMIS, 1995, Vol. 103, pp. 241-246.*

46. Lee T.H., Woszczek G., Farooque S.P. Leukotriene E4: perspective on the forgotten mediator. *J. Allergy Clin. Immunol., 2009, Vol. 124, no. 3, pp. 417-421.*

47. Malaviya R., Abraham S.N. Role of mast cell leukotrienes in neutrophil recruitment and bacterial clearance in infectious peritonitis. *J. Leukoc. Biol., 2000, Vol. 67, no. 6, pp. 841-846.*
48. Nakatsukasa H., Tu E., Chia C.P.Z., Chen W. TGF-β in the Immune Response. In eLS, John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), 2015.
49. Nies J.H., Bär C., Schlenvoigt G., Fahlbusch B., Zwacka G., Markert U.R. IL-4 supplemented B-cell cultures of allergic children show reduced IgA and IgG production in response to additional stimulation with IL-10. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol., 2002, Vol. 12, no. 2, pp. 99-106.*
50. Ohnishi H., Miyahara N., Gelfand E.W. The role of leukotriene B(4) in allergic diseases. *Allergol. Int., 2008, Vol. 57, no. 4, pp. 291-298.*
51. Peters-Golden M., Gleason M.M., Togias A. Cysteinyl leukotrienes: multi-functional mediators in allergic rhinitis. *Clin. Exp. Allergy, 2006, Vol. 36, no. 6, pp. 689-703.*
52. Salvi S., Holgate S.T. Could the airway epithelium play an important role in mucosal immunoglobulin A prodaction? *Clin. Exp. Allergy, 1999, Vol. 29, no. 12, pp. 1597-1605.*
53. Sathe A., Cusick J.K. Biochemistry, Immunoglobulin M (IgM) [Updated 2020 Mar 9]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555995/#article-23400.s1.
54. Wan M., Tang X., Stsiapanava A., Haeggström J.Z. Biosynthesis of leukotriene B(4). *Semin. Immunol., 2017, Vol. 33, pp. 3-15.*
55. Wenzel S.E. The role of leukotrienes in asthma. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids, 2003, Vol. 69, no. 2-3, pp. 145-155.*
56. Yoon S.-Y., Hong G.H., Kwon H.-S., Park S., Park S.Y., Shin B., Kim T.-B., Moon H.-B., Cho Y.S. S-adenosylmethionine reduces airway inflammation and fibrosis in a murine model of chronic severe asthma via suppression of oxidative stress. *Exp. Mol. Med., 2016, Vol. 48, no. 6, e236.* doi: 10.1038/emm.2016.35.

Авторы:

Куликова О.А. *– заочный аспирант кафедры аллергологии и иммунологии, Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, г. Пенза, Россия*

Орлова Е.А. *– д.м.н., врач высшей категории, профессор кафедры аллергологии и иммунологии, Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, г. Пенза, Россия*

Баранова Н.И. *– д.б.н., доцент кафедры аллергологии и иммунологии, Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, г. Пенза, Россия*

Костина Е.М. *– д.м.н., профессор, профессор кафедры аллергологии и иммунологии, Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, г. Пенза, Россия*

Левашова О.А. *– к.б.н., доцент кафедры аллергологии и иммунологии, Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения РФ, г. Пенза, Россия*

Authors:

Kulikova O.A., *Correspondence Postgraduate Student, Department of Allergology and Immunology, Penza Institute for Advanced Training of Physicians, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Penza, Russian Federation*

Orlova E.A., *PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Allergology and Immunology, Penza Institute for Advanced Training of Physicians, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Penza, Russian Federation*

Baranova N.I., *PhD, MD (Biology), Associate Professor, Department of Allergology and Immunology, Penza Institute for Advanced Training of Physicians, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Penza, Russian Federation*

Kostina E.M., *PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Allergology and Immunology, Penza Institute for Advanced Training of Physicians, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Penza, Russian Federation*

Levashova O.A., *PhD (Biology), Associate Professor, Department of Allergology and Immunology, Penza Institute for Advanced Training of Physicians, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Penza, Russian Federation*

Поступила 23.11.2020
Принята к печати 07.11.2021

Received 23.11.2020
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 109-120
© 2022, СПб РО РААКИ

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 109-120
© 2022, SPb RAACI

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ФЕНОТИПАХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Антонюк М.В., Минеева Е.Е., Кнышова В.В., Юренко А.В., Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Гвозденко Т.А.

Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения – Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия

Резюме. Хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ) рассматривают как гетерогенное заболевание с различными фенотипами. Важным звеном в патогенезе ХОБЛ является хроническое системное воспаление. Изучение иммунного ответа в контексте клинико-функциональных фенотипов представляется актуальным. Цель исследования: изучить особенности иммунного ответа при клинико-функциональных фенотипах ХОБЛ.

Обследовано 83 пациента с ХОБЛ разной степени тяжести стабильного течения и 22 практически здоровых добровольцев. После определения фенотипа ХОБЛ по клинико-функциональным признакам пациенты распределены по группам: 38 чел. с бронхитическим и 45 пациентов с эмфизематозным фенотипом. Проводилось клинико-функциональное и лабораторное исследование. Исследовали статические легочные объемы и емкости: функциональная остаточная емкость, остаточный объем легких, общая емкость легких, бронхиальное сопротивление на вдохе и выдохе для определения фенотипа заболевания. Субпопуляции Th1- и Th17-лимфоцитов оценивали по уровню цитокинов в сыворотке крови, туморнекротизирующий фактор (TNFα) интерлейкинов (IL) IL-4, IL-10, IL-17A, IFNγ.

У больных ХОБЛ выявлены особенности иммунного ответа при бронхитическом и эмфизематозном фенотипах. Активация воспалительного процесса с дифференцировкой наивных Т-лимфоцитов по Th1-зависимому пути установлена в 68% случаев при бронхитическом и в 16% случаев при эмфизематозном фенотипах. У пациентов статистически значимо увеличен уровень TNFα, IFNγ на фоне снижения IL-4 по сравнению с контролем. Развитие иммунного ответа по Th17-типу установлено в 32% случаев при бронхитическом и 84% случаев при эмфизематозном фенотипах. Его развитие ассоциировалось с увеличением уровня IL-17A, IL-10 и снижением IFNγ/IL-17A по сравнению с контролем. Показано, что при бронхитическом фенотипе на ранних стадиях заболевания преобладает дифференцировка Т-хелперов по Th1-пути иммунного ответа. С возрастанием степени тяжести преобладает Th17-тип иммунного ответа. При эмфизематозном фенотипе ХОБЛ иммунный ответ по Th17-пути формируется на ранних стадиях заболевания. Выявлены взаимосвязи между показателями системного воспаления и параметрами функции внешнего дыхания. Показана обратная зависимость между TNFα и соотношением ООЛ/ОЕЛ при Th1-типе иммунного ответа. Установлена прямая корреляция между уровнем IL-17A и параметрами функции внешнего дыхания ($ОФВ_1$, $ОФВ_1$/ФЖЕЛ), а также между IFNγ/IL-17A и ФОЕ при Th17-типе иммунного ответа.

Адрес для переписки:

Кнышова Вера Васильевна
Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения
690105, Россия, г. Владивосток, ул. Русская, 73г.
Тел.: 8 (423) 278-82-01.
E-mail: v.knyshova@mail.ru

Address for correspondence:

Knyshova Vera V.
Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment
690105, Russian Federation, Vladivostok, Russkaya str., 73g.
Phone: 7 (423) 278-82-01.
E-mail: v.knyshova@mail.ru

Образец цитирования:

М.В. Антонюк, Е.Е. Минеева, В.В. Кнышова, А.В. Юренко, Т.И. Виткина, Т.П. Новгородцева, Т.А. Гвозденко «Особенности иммунного ответа при фенотипах хронической обструктивной болезни легких» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 109-120. doi: 10.15789/1563-0625-FOI-2321

© Антонюк М.В. и соавт., 2022

For citation:

M.V. Antonyuk, E.E. Mineeva, V.V. Knyshova, A.V. Yurenko, T.I. Vitkina, T.P. Novgorodtseva, T.A. Gvozdenko "Features of immune response in different phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 109-120. doi: 10.15789/1563-0625-FOI-2321

DOI: 10.15789/1563-0625-FOI-2321

Тип иммунного ответа ассоциируется с течением заболевания и клинико-функциональным фенотипом ХОБЛ. С увеличением уровня цитокинов, обеспечивающих поляризацию клеток по Th17-пути, связано прогрессирование заболевания, бронхообструктивных нарушений и гиперинфляции. Определение фенотипа ХОБЛ и типа иммунного ответа уже на ранней стадии заболевания позволит прогнозировать течение и обосновать выбор фенотип-ориентированной терапии.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, клинические фенотипы, Th-зависимый тип иммунного ответа

FEATURES OF IMMUNE RESPONSE IN DIFFERENT PHENOTYPES OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Antonyuk M.V., Mineeva E.E., Knyshova V.V., Yurenko A.V., Vitkina T.I., Novgorodtseva T.P., Gvozdenko T.A.

Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is considered a heterogeneous disorder exhibiting different phenotypes. Chronic systemic inflammation is an important link in the COPD pathogenesis. The studies of immune response in the context of clinical and functional phenotypes seems relevant. Objective of our work was to study the features of immune response in clinical and functional phenotypes of COPD.

Eighty-three COPD patients of different severity grade and 22 apparently healthy volunteers were examined. After determining the COPD phenotype by clinical and functional signs, the patients were divided in two groups, i.e., 38 subjects with bronchitis, and 45 patients with emphysematous phenotype. Clinical, functional and laboratory research was carried out in standard mode. Static lung volumes and respiratory capacities were investigated, i.e., functional residual capacity, residual lung volume, total lung capacity, bronchial resistance on inspiration and expiration to assess phenotype of the disease. Subpopulations of Th1 and Th17 lymphocytes were determined by the level of blood serum cytokines, tumor necrosis factor (TNFα), interleukins (IL) IL-4, IL-10, IL-17A, IFNγ).

Different features of immune response were revealed in bronchitic and emphysematous phenotypes of the COPD patients. Activation of inflammatory process with differentiation of naive T lymphocytes along the Th1-dependent pathway was found in 68% of cases with bronchitis and 16% of patients with emphysematous phenotypes. As compared with control group, the patients showed a statistically significant increase in the level of TNFα, IFNγ, along with decrease in IL-4. Development of immune response by the Th17 type was found in 32% of cases with bronchitis, and 84% of cases with emphysematous phenotypes. Its emergence was associated with increased IL-17A and IL-10 levels, and a decrease in IFNγ/IL-17A compared to the control. Differentiation of T helper cells towards Th1 pathway of immune response has been shown to predominate in bronchitic phenotype and at early stages of the disease. The Th17 type of immune response prevailed with increasing severity of the disorder. In emphysematous phenotype of COPD, the Th17-pathway of immune response develops at early stages of the disease. Some relationships are revealed between the systemic inflammation indexes and functional parameters of external respiration. An inverse relationship between TNFα and the OOL/OEL ratio in Th1 type of immune response has been shown. A direct correlation was found between the level of IL-17A and the parameters of external respiration function (FEV1, FEV1/FVC), as well as between IFNγ/IL-17A and functional residual capacity in Th17 type of immune response.

The type of immune response is associated with severity of the disease, as well with clinical and functional phenotype of COPD. Progression of the disease, broncho-obstructive disorders and hyperinflation are associated with increased levels of cytokines that provide cell polarization along the Th17 pathway. Determination of COPD phenotype and the type of immune response already at an early stage of the disease will enable prediction of its course and justify the choice of phenotype-oriented therapy.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, clinical phenotypes, Th-dependent type immune response

Введение

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относится к заболеваниям респираторной системы с неуклонно прогрессирующим течением и увеличивающейся смертностью. Ее рассматривают как патологический процесс, обусловленный хроническим воспалительным ответом бронхолегочной системы на флогогенное воздействие. Важным звеном в патогенезе заболевания является развитие локального и системного хронического воспаления, лежащего в основе легочных и многочисленных внелегочных проявлений ХОБЛ. Системное воспаление носит характер комплексного иммунопатологического процесса с вовлечением ответных реакций врожденного и приобретенного иммунитета. Развитие локального воспаления у больных ХОБЛ сопровождается активацией воспалительных иммунокомпетентных клеток Т-хелперов (Th), популяция которых включает Th1-, Th2-, Th17-типы и др. В формировании иммунного ответа важную роль играют цитокины, которые создают условия для девиации клеток Т-хелперного иммунного ответа, определяют характер течения и исход воспалительного процесса. Исследования в контексте взаимосвязи врожденного и адаптивного иммунитета показали, что у больных ХОБЛ поляризация иммунного ответа может быть направлена по Th1- или Th2-пути [6], но также могут развиваться Th1- и/или Th17-типы иммунного ответа [5, 7, 15].

Вариабельность клинических проявлений и прогрессирования патологического процесса при наличии одинаковых факторов риска, бронхиальной обструкции и обострений явились основанием для выделения клинико-функциональных вариантов или фенотипов ХОБЛ [12, 14, 17]. Особенностью заболевания является наличие у больного как хронического бронхита, так и эмфиземы легких. Относительный вклад каждого из этих компонентов в формирование ограничения воздушного потока в каждом отдельном клиническом случае значительно варьирует. Преобладание хронического бронхита или эмфиземы легких определяет формирование классических фенотипов заболевания – бронхитического или эмфизематозного [1, 11, 16].

Различие клинических и рентгенологических проявлений позволяет предполагать различие клеточных механизмов развития воспаления при фенотипах ХОБЛ. Однако данные об особенностях иммунопатогенеза при фенотипах ХОБЛ немногочисленны. В ранее проведенных исследованиях было показано, что тип иммунного ответа ассоциируется со степенью тяжести заболевания [4]. В единичных работах, посвященных этому вопросу, бронхитический и эмфизематозный фенотипы по состоянию иммунного статуса предлагают рассматривать как иммунодефицитный и аутоиммунный фенотипы заболевания [10]. В связи с этим сохраняет актуальность изучения ответа иммунной системы при разных клинико-функциональных фенотипах заболевания, что позволит уточнить механизмы развития воспаления и оптимизировать лечение и профилактику ХОБЛ.

Цель исследования – изучить особенности иммунного ответа при клинико-функциональных фенотипах ХОБЛ.

Материалы и методы

В проспективное сравнительное исследование включены 83 пациента с ХОБЛ стабильного течения (средний возраст 56,5±4,8 года) на условиях добровольного информированного согласия. Диагностировали ХОБЛ в соответствии с критериями Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: Global strategy for the diagnosis, treatment and prevention of Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD, 2019). Среди обследованных было 27 пациентов с легким течением (ХОБЛ 1-й ст.), 35 – со среднетяжелым течением (ХОБЛ 2-й ст.) и 21 – с тяжелым течением (ХОБЛ 3-й ст.). Контрольную группу составили 22 практически здоровых некурящих добровольца (средний возраст 52,0±3,4 года).

Клинико-функциональное исследование пациентов включало оценку симптомов основного заболевания с помощью валидизированного опросника mMRC Британского медицинского исследовательского совета (Modified British Medical Research Council) и теста CAT (COPD Assessment Test). Функцию внешнего дыхания оценивали по спирометрическим показателям: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1-ю секунду ($ОФВ_1$) и их расчетное соотношение ($ОФВ_1$/ФЖЕЛ). Статические легочные объемы и емкости определяли по показателям бодиплезмографии: функциональная остаточная емкость легких (ФОЕЛ), остаточный объем легких (ООЛ), общая емкость легких (ОЕЛ), доля ООЛ в структуре ОЕЛ, бронхиальное сопротивление на вдохе и выдохе. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Фенотип ХОБЛ определяли по клинико-функциональным признакам. Эмфизематозный фенотип устанавливали в случае, если ведущим клиническим симптомом являлась одышка,

имелся незначительный малопродуктивный кашель, при аускультации выслушивалось жесткое дыхание, присутствовали признаки гиперинфляции (увеличение ФОЕ) и «воздушной ловушки» (увеличение ООЛ и доли ООЛ в структуре ОЕЛ) по данным бодиплетизмографии. Бронхитический фенотип устанавливали при наличии у пациента кашля с выделением слизисто-гнойной мокроты, ослабленного везикулярного дыхания и разнотембровых хрипов при аускультации легких, при отсутствии признаков «воздушной ловушки» и гиперинфляции по данным бодиплетизмографии.

Пациенты распределены на 2 группы в зависимости от установленного фенотипа ХОБЛ. 1-ю группу составили 38 пациентов с бронхитическим фенотипом, у которых клиническая картина характеризовалась кашлем, в основном в утренние часы, с отделением слизистой или слизисто-гнойной мокроты. У пациентов определялось повышенное бронхиальное сопротивление на вдохе и на выдохе, параметры ФОЕ, ООЛ и доли ООЛ в структуре ОЕЛ были сопоставимы с показателями у здоровых лиц, что указывало на отсутствие признаков гиперинфляции и «воздушной ловушки» (табл. 1). Среди больных 1-й группы с брон-

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ФЕНОТИПАМИ ХОБЛ, M±m

TABLE 1. CLINICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH DIFFERENT COPD PHENOTYPES, M±m

Показатели Parameter studied	**Группа контроля** Control group n = 22	**Группа 1** Group 1 n = 38	**Группа 2** Group 2 n = 45
Степень тяжести ХОБЛ, чел/% COPD severity, people/%	0		
ХОБЛ 1-й ст. COPD 1		24/63,2	3/6,7
ХОБЛ 2-й ст. COPD 2		8/21	27/60
ХОБЛ 3-й ст. COPD 3		6/15,8	15/33,3
Бронхиальное сопротивление на вдохе, kPa*s/L R IN (kPa*s/L)	0,16±0,01	0,31±0,02*	0,43±0,04*#
Бронхиальное сопротивление на выдохе, kPa*s/L R EX (kPa*s/L)	0,22±0,02	0,42±0,02*	0,79±0,10*#
$E_{вд}$, % от должного IC, %	98,02±3,84	117,84±4,13	92,09±4,18#
ФОЕ, % от должного FRCplet, %	95,10±3,32	110,55±1,88	163,77±7,90*#
ООЛ, % от должного RV, %	89,82±3,49	124,09±3,63	200,12±12,63*#
ОЕЛ, % от должного TLC, %	98,30±2,33	109,60±2,12	127,91±5,19*#
ООЛ/ОЕЛ, % RV/TLC, %	87,52±2,57	104,64±1,32	146,30±4,11*#
CAT-тест, баллы CAT test, points	0	8,18±0,47	14,00±1,37
mMRC-тест, баллы mMRC test, points	0	0	1,5
Количество обострений в течение года Number of exacerbations during the year	0	0-1	1-3

Примечание. * – p < 0,05 – статистическая значимость различий относительно группы контроля (t-критерий Стьюдента); # – p < 0,05 – статистическая значимость статистическая значимость статистическая значимость различий между группами 1 и 2 (t-критерий Стьюдента).

Note. *, p < 0.05, statistical significance of differences relative to the control group (Student's t-test); #, p < 0.05, statistical significance statistical significance statistical significance of differences between groups 1 and 2 (Student's t-test).

хитическим фенотипом преобладали пациенты с легкой степенью ХОБЛ. Во 2-ю группу вошли 45 пациентов с эмфизематозным фенотипом, у которых клиническая картина характеризовалась одышкой при физической нагрузке, отделением незначительного количества слизистой мокроты. У пациентов определялось повышенное бронхиальное сопротивление на вдохе и на выдохе, увеличение ФОЕ, ООЛ и доли ООЛ в структуре ОЕЛ, указывающее на наличие гиперинфляции и «воздушной ловушки». Во 2-й группе с эмфизематозным фенотипом преобладали пациенты со среднетяжелым и тяжелым течением ХОБЛ.

У пациентов определяли в сыворотке крови уровень интерлейкинов (IL) (IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A), фактора некроза опухоли-α (TNFα) и интерферона гамма (IFNγ) методом проточной цитометрии на аппарате BD FACS Canto II, использовали тест-системы этой фирмы. В связи с тем, что значительную роль в формировании системного воспаления у пациентов с ХОБЛ играет тип Т-хелперного иммунного ответа, были рассчитаны индексы баланса цитокинов, характеризующие направленность поляризации Th-0 лимфоцитов: IFNγ/IL-17A.

Статистическая обработка материалов производилась с использованием прикладной программы Statistica, версия 6,1 для Windows. Результаты обработки параметров с нормальным распределением представлены в виде средней арифметической (M) и ее средней ошибки (m). Различие между сопоставляемыми группами по избранным критериям оценивали по t-критерию Стьюдента. Анализ параметров с распределением, отличным от нормального, проводился непараметрическими методами. Показатели представлены в формате: Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), где Me – медиана, $Q_{0,25}$ и $Q_{0,75}$ – квартили. Определение статистически значимых различий осуществляли непараметрическим U-критерием Манна–Уитни для независимых переменных. Качественные величины описывались по частоте встречаемости (%). Для выявления связи между изучаемыми величинами применяли ранговый r-коэффициент Спирмена. Статистически значимые различия признавалась при уровне $p \leq 0,05$.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ФЕНОТИПАМИ ХОБЛ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПУТИ ИММУННОГО ОТВЕТА, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)

TABLE 2. INDICATORS OF THE CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH DIFFERENT COPD PHENOTYPES DEPENDING ON THE IMMUNE RESPONSE WAY, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)

Показатели Parameter studied	**Группа контроля** Control group n = 22	**Группа 1** Group 1 n = 38		**Группа 2** Group 2 n = 45	
		Th1-путь Th1 path n = 26	**Th17-путь** Th17 path n = 12	**Th1-путь** Th1 path n = 7	**Th17-путь** Th17 path n = 38
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	75,49 (65,80-82,93)	50,80* (45,65-62,85)	61,8* (48,8-68,6)	61,5* (53,5-68,5)	72,0 (64,1-119,3)
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	33,10 (28,85-37,35)	48,05 (44,45-52,10)	40,8* (34,6-60,4)	41,47 (35,8-48,3)	68,85* (50,65-75,00)
IL-17A, пг/мл IL-17A, pg/ml	305,31 (117,90-393,70)	402,0 (312,0-412,0)	637,4* (610,6-665,4)	439,2 (368,2-502,6)	591,0* (557,60-768,95)
TNFα, пг/мл TNFα, pg/ml	37,63 (32,52-41,37)	89,73* (69,05-107,59)	63,6# (60,3-69,4)	96,03* (88,1-102,0)	62,83# (59,26-98,45)
IFNγ, пг/мл IFNγ, pg/ml	107,78 (95,23-119,68)	308,71* (261,0-344,0)	158,2# (148,3-192,6)	312,33* (274,0-340,8)	144,65# (127,8-273,6)
IFNγ/IL-17A, у. е. IFNγ/IL-17A, c. u.	0,31 (0,28-0,46)	0,48* (0,41-0,64)	0,28 (0,22-0,53)	0,52* (0,25-0,67)	0,29 (0,22-0,42)

Примечание. * – p < 0,05 – статистическая значимость различий относительно группы контроля (U-критерий Манна–Уитни); # – p < 0,05 – статистическая значимость различий внутри 1-й и 2-й группы между Th17- и Th1-путем (U-критерий Манна–Уитни).

Note. *, p < 0.05, statistical significance of differences relative to the control group (Mann–Whitney U test); #, p < 0.05, statistical significance of differences within groups 1 and 2 between the Th17 and Th1 pathways (Mann–Whitney U test).

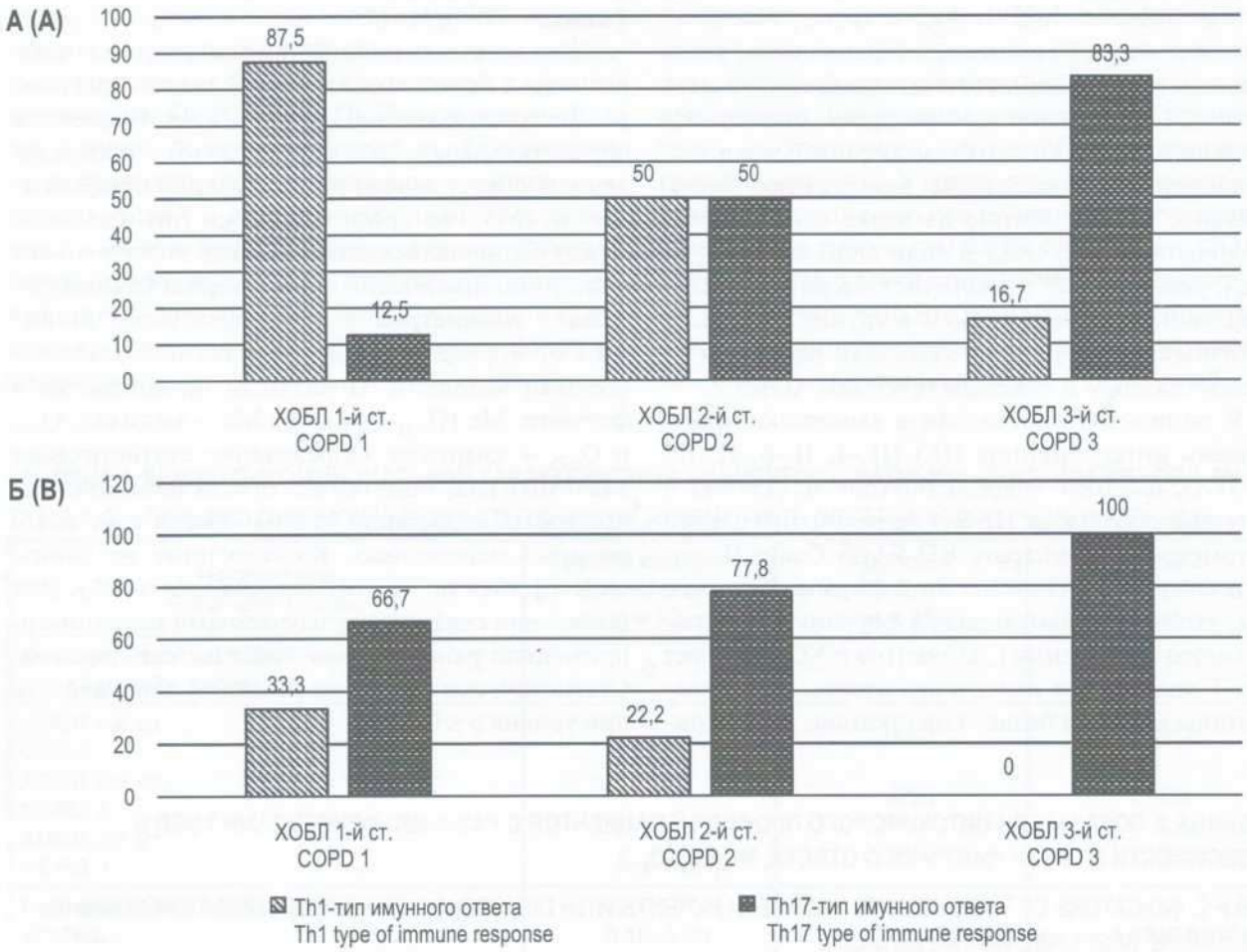


Рисунок 1. Частота Th1- и Th17-типов иммунного ответа у больных ХОБЛ с разной степенью тяжести: А – бронхитический фенотип ХОБЛ; Б – эмфизематозный фенотип ХОБЛ

Примечание. Частоту типов иммунного ответа оценивали в % от числа больных в подгруппе.

Figure 1. Frequency of Th1 and Th17 types of immune response in patients with COPD with varying severity: A, bronchitic phenotype of COPD; B, emphysematous COPD phenotype

Note. The frequency of types of immune response was assessed in% of the number of patients in the subgroup.

Результаты

У обследованных пациентов ХОБЛ выявлены различные типы иммунного ответа при воспалительной реакции (табл. 2). Анализ цитокинового профиля в группах наблюдения показал, что у пациентов с бронхитическим фенотипом (1-я группа) в 68% случаев имело место увеличение концентрации TNFα в 2,4 раза ($p < 0,05$) и IFNγ в 2,8 раза ($p < 0,05$) на фоне снижения уровня IL-4 в 1,5 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Увеличение содержания провоспалительного цитокина IFNγ и соотношения IFNγ/IL-17A при снижении IL-4, выявленные у части пациентов с бронхитическим фенотипом ХОБЛ, свидетельствуют об активации воспалительного процесса с дифференцировкой наивных Т-лимфоцитов по Th1-зависимому пути у данных пациентов. В 32% случаев определялось повышение уровня провоспалительного IL-17A в 2 раза ($p < 0,05$) и противовоспалительного IL-10 в 1,2 раза ($p < 0,05$), снижение уровня IL-4 в 1,2 раза ($p < 0,05$) и соотношения IFNγ/IL-17A по сравнению с группой контроля. Характер изменений цитокинового профиля свидетельствует о формировании Th17-пути иммунного ответа. У пациентов экспрессия TNFα и IFNγ увеличивалась по сравнению с группой контроля, но статистически значимо отличалась только у больных, дифференцируемых по Th1-пути иммунного ответа.

ТАБЛИЦА 3. КОРРЕЛЯЦИОННАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ УРОВНЕМ IL-10, IL-17A, IFNγ И TNFα КРОВИ И ПОКАЗАТЕЛЯМИ СПИРОМЕТРИИ И БОДИПЛЕТИЗМОГРАФИИ У ПАЦИЕНТОВ С Th1- И Th17-ТИПОМ ИММУННОГО ОТВЕТА

TABLE 3. CORRELATION RELATIONSHIP BETWEEN THE LEVEL OF IL-10, IL-17A, IFNγ AND TNFα IN BLOOD AND INDICATORS OF SPIROMETRY AND BODYPLETHYSMOGRAPHY IN PATIENTS WITH Th1 AND Th17 TYPES OF IMMUNE RESPONSE

Показатель Parameter studied	**Th1-путь** Th1 path		**Th17-путь** Th17 path	
	IL-10	**TNFα**	**IL-17A**	**IFNγ/IL-17A**
ФОЕ, % от должного FRCplet, %	r = -0,9 p = 0,037			r = -0,58 p = 0,037
ООЛ/ОЕЛ, % RV/TLC, %		r = -0,9 p = 0,037		
$ОФВ_1$, % FEV_1, %			r = 0,75 p = 0,003	
$ОФВ_1$/ФЖЕЛ FEV_1/FVC, %			r = 0,65 p = 0,039	

Примечание. r – коэффициент корреляции Спирмена.

Note. r, Spearman rank order correlations.

У пациентов с эмфизематозным фенотипом ХОБЛ (2-я группа) в 16% случаев изменения цитокинового профиля характеризовались снижением уровня цитокина IL-4 в 1,2 раза ($p < 0,05$), повышением продукции TNFα в 2,5 раза ($p < 0,05$), IFNγ в 2,9 раза ($p < 0,05$) и соотношения IFNγ/IL-17A по сравнению с контрольной группой, что указывало на формирование Th1-пути иммунного ответа. В 84% случаев в данной группе пациентов отмечено статистически значимое повышение уровня IL-17A и противовоспалительного цитокина IL-10, соответственно, в 1,9 и 2 раза ($p < 0,05$), что характерно для Th17-типа иммунного ответа.

Полученные данные показали мультитипность иммунного ответа у больных ХОБЛ. Системное воспаление при бронхитическом фенотипе ХОБЛ регулируется преимущественно клетками Th1 (68% случаев), при эмфизематозном фенотипе ХОБЛ – клетками Th17-типа (84% случаев) иммунного ответа.

У пациентов с бронхитическим фенотипом заболевания при ХОБЛ 1-й ст. преобладает Th1-путь иммунного ответа, при ХОБЛ 2-й ст. определяются в равных долях Th1- и Th17-путь иммунного ответа, а при ХОБЛ 3-й ст. преобладает Th17-путь иммунного ответа (рис. 1). У пациентов с эмфизематозном фенотипом заболевания при ХОБЛ 1-й ст. преобладает иммунный ответ по Th17-пути, определяемый в двух третях случаев. У пациентов с ХОБЛ 2-й ст. преобладает Th17-путь иммунного ответа, а при ХОБЛ 3-й ст. этот путь определяется у всех пациентов.

У пациентов с преобладанием Th1-типа иммунного ответа выявлена обратная корреляционная связь между противовоспалительным цитокином IL-10 и показателем ФОЕ ($r = -0,9$; $p = 0,037$), а также между TNFα и соотношением ООЛ/ОЕЛ ($r = -0,9$; $p = 0,037$). У пациентов с Th17-типом иммунного ответа установлена прямая корреляционная связь между провоспалительным цитокином IL-17A и $ОФВ_1$ ($r = 0,75$; $p = 0,003$), и отношением $ОФВ_1$/ФЖЕЛ ($r = 0,65$; $p = 0,039$), а также обратная связь между IFNγ/IL-17A и ФОЕ ($r = -0,58$; $p = 0,037$). Данные корреляционного анализа свидетельствуют о наличии связи между типом иммунного ответа и параметрами функции внешнего дыхания, характеризующими проходимость дыхательных путей, наличие гиперинфляции и «воздушных ловушек» у больных ХОБЛ.

Обсуждение

Формы иммунного ответа при системной воспалительной реакции обусловлены активацией различных клеток-эффекторов. Согласно полученным данным системное воспаление при бронхитическом фенотипе ХОБЛ регулируется преимущественно клетками Th1-типа. Известно, что клетки Th1-типа, продуцирующие IFNγ, TNFα и IL-10, принимают участие в реализации иммунного ответа путем активации макрофагов, усиления фагоцитарной реакции и формиро-

вания очагов продуктивного воспаления [2, 13, 19]. Увеличение в системном кровотоке IFNγ и TNFα в 2 раза и более, возможно, связано с возрастающей активностью легочных макрофагов. Это подтверждается литературными данными о том, что у больных с бронхитическим фенотипом увеличивается содержание макрофагов в бронхиальном секрете и превышает таковое у больных с эмфизематозным фенотипом [11, 12, 27]. На основании этого выдвинуто предположение о значительной роли макрофагов, индуцирующих гиперсекрецию бронхиального секрета, в формировании бронхитического фенотипа [9, 11]. В проведенном исследовании Th1-тип иммунного ответа определялся у больных с бронхитическим фенотипом ХОБЛ при легкой и средней степени тяжести заболевания, что объясняется преобладанием макрофагальной активности в бронхах у больных на ранних стадиях течения ХОБЛ [3, 18, 19]. Присутствие макрофагов вокруг мелких дыхательных путей на ранних стадиях ХОБЛ, которое ассоциируют с развитием перибронхиального фиброза, отмечено в отдельных исследованиях [9, 20]. В основе ремоделирования дыхательных путей при бронхитическом фенотипе лежат патогистологические изменения с преобладанием облитерирующего бронхиолита, в развитии которого принимают участие IL-4 и IL-10 [2, 8, 13, 19]. Литературные данные и выявленная авторами отрицательная корреляционная связь между отношением IFNγ/IL-4, IL-10 и показателем ФОЕ, между TNFα и соотношением ООЛ/ОЕЛ позволяют предположить сдерживающую роль этих цитокинов в развитии гиперинфляции и «воздушных ловушек». На наш взгляд, значимое воздействие оказывает компенсаторное повышение уровня IL-10, являющееся ответной реакцией на воспалительный процесс на ранних этапах развития ХОБЛ.

Исследование показало, что при эмфизематозном фенотипе ХОБЛ системное воспаление регулируется преимущественно клетками Th17-типа. Также отмечается увеличение активности Th17-лимфоцитов при бронхитическом фенотипе ХОБЛ по мере нарастания бронхиальной обструкции и прогрессировании степени тяжести патологического процесса. Клетки Th17-типа, продуцирующие IL-17A, участвуют в реализации иммунного ответа путем активации легочных фибробластов, эпителиоцитов и эндотелиальных клеток [15, 26]. Известно, что IL-17 поддерживает активность нейтрофильного воспаления при ХОБЛ путем стимуляции хемокинов (IL-8), гранулоцитарно-колониестимулирующего фактора (G-CSF) и регуляции экспрессии хемокиновых рецепторов на фибробластах, эпителиоцитах, вызывая тем самым миграции нейтрофилов в легкие и, опосредовано, стимулируя секрецию металлопротеиназ, активируя макрофагальный ответ и др. [21, 25, 26]. Есть мнение, что увеличение количества Th17-клеток ведет к пролонгации врожденного иммунного ответа и, как следствие, к усугублению воспаления при ХОБЛ [15, 22]. Увеличение в системном кровотоке IL-17A у обследованных больных вероятно объясняется высоким процентным соотношением нейтрофилов и лимфоцитов в бронхиальном секрете, характерным как для эмфизематозного фенотипа, так и для тяжелой степени ХОБЛ [3, 11, 12]. Увеличение IL-17A у больных с бронхитическим фенотипом и среднетяжелой степенью заболевания вероятно связано с формированием смешанного фенотипа ХОБЛ с более тяжелым течением заболевания. По данным ряда авторов, одним из значимых проявлений Th17-типа иммунного ответа является смещение регуляторного баланса Th17/Treg, что обеспечивается конкурентными взаимоотношениями этих субпопуляций. Дефицит регуляторных Т-клеток при ХОБЛ возрастает по мере прогрессирования патологии, что усугубляет ситуацию и способствует хронизации заболевания [17, 24, 28]. Для эмфизематозного фенотипа характерны патогистологические изменения с преобладанием эмфиземы над изменениями в бронхиальном дереве с развитием обструкции вследствие коллапса бронхиол [8]. Выявленная обратная связь между отношением IFNγ/IL-17A и ФОЕ свидетельствует о влиянии поляризации Т-хелперного ответа по 17-му типу на формирование гиперинфляции у больных с эмфизематозным фенотипом ХОБЛ. В экспериментальных исследованиях доказана существенная роль IL-17 в развитии эмфиземы за счет высвобождения протеаз иммунными и эпителиальными клетками [23]. Имеется мнение, что цитокины, продуцируемые Th17-клетками, участвуют в развитии обструкции дыхательных путей за счет рекрутирования нейтрофилов. В пользу этого свидетельствует прямая корреляционная связь между провоспалительным цитокином IL-17A и параметрами функции внешнего дыхания – $ОФВ_1$, отношением $ОФВ_1$/ФЖЕЛ.

Заключение

Результаты проведенного исследования показали, что у пациентов с ХОБЛ при бронхитическом и эмфизематозном фенотипе имеется мультитипность иммунного ответа. При бронхитическом фенотипе ХОБЛ преобладает дифференцировка Т-хелперов преимущественно по

Th1-пути иммунного ответа. По мере нарастания бронхиальной обструкции и прогрессировании степени тяжести заболевания преобладает Th17-путь иммунного ответа. При эмфизематозном фенотипе ХОБЛ иммунный ответ по Th17-пути, играющий важную роль в поддержании хронического воспаления, формируется на ранних стадиях заболевания. Возрастание уровня цитокинов, обеспечивающих поляризацию по Th17-пути, ассоциировано с развитием бронхообструктивных нарушений и возрастанием гиперинфляции. Проведенное исследование показало, что тип иммунного ответа в определенной степени обуславливает течение заболевания и формирование клинико-функционального фенотипа ХОБЛ.

Определение фенотипа ХОБЛ и типа иммунного ответа уже на ранней стадии заболевания позволит прогнозировать течение и обосновать выбор фенотип-ориентированной терапии.

Список литературы / References

1. Антонюк М.В., Новгородцева Т.П., Юренко А.В., Минеева Е.Е., Кнышова В.В. Оценка риска развития обострений у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких // Здоровье. Медицинская экология. Наука, 2017. Т. 71, № 4. С. 11-15. [Antonyuk M.V., Novgorodtseva T.P., Yurenko A.V., Mineeva E.E., Knyshova V.V. Estimation of risk of exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Zdorovye. Meditsinskaya ekologiya. Nauka = Health. Medical Ecology. Science, 2017, Vol. 71, no. 4, pp. 11-15.* (In Russ.)]

2. Бережная Н.М., Сепиашвили Р.И. Интерлейкины в патогенезе атопических аллергических заболеваний // Аллергология и иммунология, 2014. Т. 15, № 3. С. 169-176. [Berezhnaya N.M., Sepiashvili R.I. Interleukins in the pathogenesis of atopic allergic diseases. *Allergologiya i immunologiya = Allergology and Immunology, 2014, Vol. 15, no. 3, pp. 169-176.* (In Russ.)]

3. Долинина Л.Ю., Делиева А.Н., Богданова Е.О., Галкина О.В., Трофимов В.И. Особенности локального воспаления при хронической обструктивной болезни легких в зависимости от степени тяжести // Медицинская иммунология, 2013. Т. 15, № 2. С. 141-146. [Dolinina L.Yu., Delieva A.N., Bogdanova E.O., Galkina O.V., Trofimov V.I. Features of local inflammation in chronic obstructive pulmonary disease, depending on the severity. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia). 2013, Vol. 15, no. 2, pp. 141-146.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2013-2-141-146.

4. Калинина Е.П., Виткина Т.И., Кнышова В.В., Федосеева Е.А., Новгородцева Т.П., Гвозденко Т.А. Клинико-иммунологическое сопоставление при Th-зависимых механизмах иммунного ответа у больных хронической обструктивной болезнью легких // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 6. С. 855-864. [Kalinina E.P., Vitkina T.I., Knyshova V.V., Fedoseeva E.A., Novgorodtseva T.P., Gvozdenko T.A. Clinical and immunological comparison in Th-dependent mechanisms of the immune response in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 855-864.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-855-864.

5. Калинина Е.П., Лобанова Е.Г., Антонюк М.В. Иммунометаболические фенотипы хронической обструктивной болезни легких у мужчин // Медицинская иммунология, 2014. Т. 16, № 4. С. 375-380. [Kalinina E.P., Lobanova E.G., Antonyuk M.V. Immune and metabolic phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease in men. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2014, Vol. 16, no. 4, pp. 375-380.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2014-4-375-380.

6. Коровкина Е.С., Костинов М.П. Иммунопатологические механизмы внебольничной пневмонии и хронической обструктивной болезни легких, обусловленные инфекционной этиологией этих заболеваний, и пути возможной иммунокоррекции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2019. № 2. С. 100-109. [Korovkina E.S., Kostinov M.P. Immunopathological mechanisms of community-acquired pneumonia and chronic obstructive pulmonary disease caused by the infectious etiology of these diseases, and the ways of possible immunocorrection. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2019, no. 2, pp. 100-109.* (In Russ.)]

7. Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., Денисенко Ю.К. Особенности содержания цитокинов Th1- и Th17-лимфоцитов у лиц с хронической обструктивной болезнью легких // Медицинская иммунология, 2016. Т. 18, № 3. С. 287-290. Lobanova E.G., Kalinina E.P., Denisenko Yu.K. Peculiarities of the cytokine levels of Th1 and Th17 lymphocytes in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2016, Vol. 18, no. 3, pp. 287-290.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-287-290.

8. Малыхин Ф.Т., Косторная И.В. Морфологические изменения органов дыхания при хронической обструктивной болезни легких // Архив патологии, 2016. № 1. С. 42-50. [Malykhin F.T., Kostornaya I.V.

Morphological changes in the respiratory system in chronic obstructive pulmonary disease. *Arkhiv patologii = Archives of Pathology, 2016, no. 1, pp. 42-50.* (In Russ.)]

9. Никонова А.А., Хаитов М.Р., Хаитов Р.М. Характеристика и роль различных популяций макрофагов в патогенезе острых и хронических заболеваний легких // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 6. С. 657-672. [Nikonova A.A., Khaitov M.R., Khaitov R.M. Characteristics and role of different populations of macrophages in the pathogenesis of acute and chronic lung diseases. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2017, Vol. 19, no. 6, pp. 657-672.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-657-672.

10. Новиков Д.К., Смирнова О.В. Иммунологические фенотипы хронической обструктивной болезни легких: перспективы иммунокоррекции // Вестник ВГМУ, 2014. Т. 13, № 4. С. 102-109. [Novikov D.K., Smirnova O.V. Immunological phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease: prospects for immune. *Vestnik VGMU = Bulletin of Vitebsk State Medical University. 2014, Vol. 13, no. 4, pp. 102-109.* (In Russ.)]

11. Трофименко И.Н., Черняк Б.А. Сравнительная клинико-функциональная характеристика бронхитического и эмфизематозного фенотипов хронической обструктивной болезни легких // Сибирский медицинский журнал, 2011. № 6. С. 59-63. [Trofimenko I.N., Chernyak B.A. Comparative clinical and functional characteristics of bronchitic and emphysematous phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal, 2011, no. 6, pp. 59-63.* (In Russ.)]

12. Шестовицкий В.А., Гринштейн Ю.И., Максимова А.В. Цитооксидантные характеристики местного фагоцитарноклеточного иммунитета в стадии тяжелого обострения при клинических фенотипах хронической обструктивной болезни легких // Пульмонология, 2017. Т. 27, № 4. С. 478-483. [Shestovitsky V.A., Grinshtein Yu.I., Maksimova A.V. Cytooxidant characteristics of local phagocytic cell immunity in the stage of severe exacerbation in clinical phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonologiya = Pulmonology, 2017, Vol. 27, no. 4, pp. 478-483.* (In Russ.)]

13. Antoniu S.A. Targeting the TNF-alpha pathway in sarcoidosis. *Expert Opin. Ther. Targets, 2010, Vol. 14, no 1, pp. 21-29.*

14. Arkhipov V., Arkhipova D., Miravitlles M., Lazarev A., Stukalina E. Characteristics of COPD patients according to GOLD classification and clinical phenotypes in the Russian Federation: the SUPPORT trial. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis., 2017, Vol. 12, pp. 3255-3262.*

15. Bade G., Khan M.A., Srivastava A.K., Khare P., Solaiappan K.K., Guleria R., Palaniyar N., Talwar A. Serum cytokine profiling and enrichment analysis reveal the involvement of immunological and inflammatory pathways in stable patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis., 2014, Vol. 9, no. 1, pp. 759-773.*

16. Burrows B., Fletcher C.M., Heard B.E., Jones N.L., Wootliff J.S. The emphysematous and bronchial types of chronic airways obstruction. A clinicopathological study of patients in London and Chicago. *Lancet, 1966, Vol. 287, no. 7442, pp. 830-835.*

17. Caramori G., Casolari P., Barczyk A., Durham A, Stefano A., Adcock Ia. COPD immunopathology. *Semin. Immunopathol., 2014, Vol. 38, no. 4, pp. 497-515.*

18. Cruz T., López-Giraldo A., Noell G., Casas-Recasens S., Garcia T., Molins L., Juan M., Fernandez M.A., Agustí A., Faner R. Multi-level immune response network in mild-moderate Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *Respir. Res., 2019, Vol. 20, 152.* doi: 10.1186/s12931-019-1105-z.

19. Eltboli O., Bafadhel M., Hollins F., Wright A., Hargadon B., Kulkarni N., Brightling C. COPD exacerbation severity and frequency is associated with impaired macrophage efferocytosis of eosinophils. *BMC Pulm. Med., 2014, Vol. 14, 112.* doi: 10.1186/1471-2466-14-112.

20. Fraig M., Shreesha U., Savici D., Katzenstein A.L. Respiratory bronchiolitis: a clinicopathologic study in current smokers, ex-smokers, and never-smokers. *Am. J. Surg. Pathol., 2002, Vol. 26, no. 5, pp. 647-653.*

21. Ivanov S., Linden A. New drugs and targets for asthma and COPD. *Progr. Respir. Res., 2010, no. 39, pp. 3-23.*

22. Koenderman L., Chilvers E. Future treatment in patients with chronic obstructive pulmonary disease: To reverse or not to reverse steroid resistance – that is the question. *J. Allergy Clin. Immunol., 2014, Vol. 134, no. 2, pp. 314-322.*

23. Le O., Pichavant R.M., Frealle E., Guillon A., Si-Tahar M., Gosset Ph., Th17 cytokines: novel potential therapeutic targets for COPD pathogenesis and exacerbations. *Eur. Respir. J., 2017, Vol. 50, no. 4, 1602434.* doi: 10.1183/13993003.02434-2016.

24. Li X.N., Pan X., Qiu D. Imbalances of Th17 and Treg cells and their respective cytokines in COPD patients by disease stage. *Int. J. Clin. Exp. Med., 2014, Vol. 12, no. 7, pp. 5324-5329.*

25. Ponce-Gallegos M.A., Ramírez-Venegas A., Falfán-Valencia R. Th17 profile in COPD exacerbations. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis., 2017, Vol. 12, pp. 1857-1865.*

26. Pridgeon C., Bugeon L., Donnelly L., Straschil U., Tudhope S.J., Fenwick P., Lamb J.R., Barnes P.J., Dallman M.J. Regulation of IL-17 in chronic inflammation in the human lung. *Clin. Sci., 2011, Vol. 120, no. 12, pp. 515-524.*

27. Snoeck-Stroband J.B., Lapperre T.S., Gosman M.M.E., Boezen H.M., Timens W., ten Hacken N.H.T., Sont J.K., Sterk P.J., Hiemstra P.S.; Groningen Leiden Universities Corticosteroids in Obstructive Lung Disease (GLUCOLD) Study Group. Chronic bronchitis sub-phenotype within COPD: inflammation in sputum and biopsies. *Eur. Respir. J., 2008, Vol. 31, pp. 70-77.*

28. Wang H., Ying H., Wang S. Imbalance of peripheral blood Th17 and Treg responses in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin. Respir. J., 2015, Vol. 9, no. 3, pp. 330-341.*

Авторы:

Антонюк М.В. *– д.м.н., профессор, заведующая лабораторией восстановительного лечения, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения – Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия*

Минеева Е.Е. *– к.м.н., врач функциональной диагностики, врач-пульмонолог, научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения – Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия*

Кнышова В.В. *– к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения – Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия*

Юренко А.В. *– к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения – Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия*

Authors:

Antonyuk M.V., *PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Rehabilitation Treatment Laboratory, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation*

Mineeva E.E., *PhD (Medicine), Functional Diagnostics Doctor, Pulmonologist, Research Associate, Rehabilitation Treatment Laboratory, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation*

Knyshova V.V., *PhD (Medicine), Senior Research Associate, Rehabilitation Treatment Laboratory, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation*

Yurenko A.V., *PhD (Medicine), Junior Research Associate, Rehabilitation Treatment Laboratory, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation*

Виткина Т.И. *— д.б.н., профессор РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения — Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия*

Новгородцева Т.П. *— д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения — Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия*

Гвозденко Т.А. *— д.м.н., профессор РАН, главный научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения — Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Владивосток, Россия*

Vitkina T.I., *PhD, MD (Biology), Professor, Russian Academy of Sciences, Leading Research Associate, Biomedical Research Laboratory, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation*

Novgorodtseva T.P., *PhD, MD (Biology), Professor, Chief Research Associate, Biomedical Research Laboratory Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation*

Gvozdenko T.A., *PhD, MD (Medicine), Professor, Russian Academy of Sciences, Chief Research Associate, Rehabilitation Treatment Laboratory, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Vladivostok, Russian Federation*

Поступила 01.04.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 01.04.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 121-134
© 2022, СПб РО РААКИ

Оригинальные статьи
Original articles

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 121-134
© 2022, SPb RAACI

ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМНОГО И ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ С РАЗЛИЧНОЙ РАСПРОСТРАНЕННОСТЬЮ, ДИНАМИКОЙ И ПРОГНОЗОМ

Златник Е.Ю., Новикова И.А., Бондаренко Е.С., Ульянова Е.П., Ситковская А.О.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. Одной из актуальных проблем современной медицины является прогноз течения злокачественных опухолей, оценка которого зависит как от их биологических свойств, так и от состояния иммунной системы больного. Поскольку свойства опухоли и реакции иммунной системы организма на нее тесно взаимосвязаны, в научном и клиническом плане представляется важным использовать их в качестве прогностических маркеров. Целью работы явилось выявление наиболее значимых иммунологических факторов для прогноза течения колоректального рака (КРР) на основе изучения показателей локального и системного иммунитета и некоторых характеристик опухолевых клеток больных с различной распространенностью и динамикой заболевания. У 299 первично выявленных больных КРР I-IV стадии на этапе хирургического лечения изучали состав клеточных и цитокиновых факторов в крови, а также в ткани опухоли, где, кроме того, оценивали количество опухолевых клеток, экспрессирующих маркеры стволовых (ОСК), молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС) и PDL-1. Использованы методы проточной цитометрии, иммуногистохимического (ИГХ) и иммуноферментного анализа (ИФА). Проводили сравнение показателей больных, с различной распространенностью КРР до лечения (наличием/отсутствием регионарных и отдаленных метастазов) и с различной динамикой заболевания (отдаленное метастазирование и летальный исход в период наблюдения). Результаты исследования показали, что при регионарном метастазировании в крови возрастает количество NK и IL-6, снижается уровень $CD4^+$, в ткани возрастает количество ОСК. Исходно генерализованный процесс с отдаленными метастазами характеризуется высоким содержанием в крови IL-6, моноцитов и гранулоцитов, отвечающих на fMLF, в ткани опухоли – количества NKT и ОСК при более низких уровнях в ней опухолевых клеток, экспрессирующих МНС и PDL-1, а также лимфоцитов, экспрессирующих PD-1/PDL-1. Неблагоприятной динамике КРР в виде развития метастазирования в период наблюдения предшествует повышение в крови количества функционально неактивных NK и IL-10, моноцитов и гранулоцитов, отвечающих на fMLF, а в ткани – повышение уровня ОСК и снижение экспрессии МНС. Летальному исходу предшествовало повышение в крови

Адрес для переписки:

Златник Елена Юрьевна
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ
344019, Россия, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63.
Тел.: 8 (961) 272-69-68.
E-mail: elena-zlatnik@mail.ru

Address for correspondence:

Zlatnik Elena Yu.
National Medical Research Center of Oncology
344019, Russian Federation, Rostov-on-Don, 14th line, 63.
Phone: 7 (961) 272-69-68.
E-mail: elena-zlatnik@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Ю. Златник, И.А. Новикова, Е.С. Бондаренко, Е.П. Ульянова, А.О. Ситковская «Характеристика системного и локального иммунитета и стволовых опухолевых клеток у больных колоректальным раком с различной распространенностью, динамикой и прогнозом» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 121-134. doi: 10.15789/1563-0625-COL-2352

© Златник Е.Ю. и соавт., 2022

For citation:

E.Yu. Zlatnik, I.A. Novikova, E.S. Bondarenko, E.P. Ulyanova, A.O. Sitkovskaya "Characteristics of local and system immunity, and features of cancer stem cells in patients with different stage, dynamics and prognosis of colorectal carcinoma", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 121-134. doi: 10.15789/1563-0625-COL-2352

DOI: 10.15789/1563-0625-COL-2352

IL-6 при снижении NK-клеток субпопуляции $CD16^{dim}CD56^{bright}$, повышение уровня NKT-клеток и ОСК в ткани опухоли при снижении MHC-экспрессирующих опухолевых клеток.

В качестве прогностических факторов неблагоприятного течения КРР можно рассматривать высокие уровни IL-6 и IL-10, моноцитов и гранулоцитов, отвечающих на fMLF в крови, повышение уровня NKT-клеток и ОСК при снижении MHC-экспрессирующих опухолевых клеток в ткани. Особого внимания заслуживает снижение экспрессии PD-1/PDL-1 в клетках опухоли и лимфоцитах ее микроокружения при генерализованном КРР.

Ключевые слова: системный иммунитет, локальный иммунитет, стволовые опухолевые клетки, колоректальный рак, распространенность, динамика

CHARACTERISTICS OF LOCAL AND SYSTEM IMMUNITY, AND FEATURES OF CANCER STEM CELLS IN PATIENTS WITH DIFFERENT STAGE, DYNAMICS AND PROGNOSIS OF COLORECTAL CARCINOMA

Zlatnik E.Yu., Novikova I.A., Bondarenko E.S., Ulyanova E.P., Sitkovskaya A.O.

National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. Clinical prognosis in malignant tumors' is among the most challenging problems of contemporary medicine. It is thought to depend on both biologic properties of tumor cells and patients' immune status. The features of tumor cells and immune reactions are closely interrelated and mutually conditioned. Therefore, possible application of their characteristics as prognostic markers is of great fundamental and clinical importance. The aim of our study is to find out the most significant immune factors for prognosis of colorectal cancer (CRC) based on estimation of local and system immune factors, and some characteristics of tumor cells in the patients at various stages of the disease and different clinical course. Cellular factors of immunity and cytokines were studied in blood and tumor tissue of 299 patients with colorectal cancer (stages I-IV). Malignant cells expressing stem cell markers CSC), MHC and PDL-1 molecules were also counted in the tumor tissue. Blood samples were drawn prior to operation, and tissue samples were taken during surgery being the 1st line of treatment. Flow cytometry techniques (FCM), immunohistochemistry (IHC), and ELISA approach were employed. We have compared data on the patients at different CRC stages (with or without local and distant metastases), as well as cases with different course of the disease (evolving distant metastases and fatal outcome during period of observation). Our results demonstrated increased amounts of NK-cells and IL-6 concentration, along with decreased percentage of blood $CD4^+$ cells in the patients with local metastases, as well as higher CSC numbers in malignant tissue. The initially generalized CRC cases with distant metastases were characterized by high levels of blood IL-6, monocytes and granulocytes responding to fMLF, while in tumor tissue elevated amounts of NKT, CSC and decreased expression of MHC and PDL-1 were observed on tumor cells, like as lower PD-1/PDL-1 expression on tumor-infiltrating lymhocytes. Unfavorable CRC dynamics, i.e., metastasizing during the observation period was preceded by increased levels of IL-10 in blood, NK cells with poor cytotoxicity, monocytes and granulocytes responding to fMLF. In tumor tissue, overexpression of CSC markers and hypo-expression of MHC on tumor cells were noted. Fatal outcome was preceded by elevation of blood IL-6levels, tissue levels of NKT and CSC percentages, along with decreased NK cells subset ($CD16^{dim}CD56^{bright}$) in blood, and decline of MHC-expressing cells in the tumor. Thus, high blood levels of IL-6 and IL-10, fMLF-responding monocytes and granulocytes, as well as elevated amounts of NKT and CSC, hypo-expression of MHC in tumor tissue could be considered prognostic markers of unfavorable course in CRC patients. Decrease of PD-1/PDL-1 expression on tumor cells and lymphocytes from its microenvironment in advanced CRC is of special attention, because checkpoint inhibitors are prescribed in such cases.

Keywords: systemic immunity, local immunity, stem cells, colorectal cancer, stages, progression

Введение

Несмотря на прогресс в ранней диагностике и улучшении эффективности адъювантной химиотерапии, у многих пациентов колоректальным раком (КРР) наблюдается прогрессирование заболевания. Гистопатологическая классификация не всегда способна предсказать исход заболевания и терапевтический ответ, что подчеркивает необходимость поиска новых прогностических факторов индивидуального риска прогрессирования заболевания. Клональные, стромальные и иммунные характеристики КРР все чаще признаются важными для терапевтического воздействия. Важнейшей задачей современной медицины является применение полученных в результате исследования данных для клинической практики с целью предоставления индивидуального лечения каждому пациенту [6]. У большинства из них в течение 5 лет развивается прогрессирование заболевания в виде рецидива или метастазов, несмотря на хирургическое лечение и адъювантную терапию [29]. Одними из наиболее значимых факторов ограниченной эффективности лечения являются опухолевые стволовые клетки [8, 15, 28, 31]. При применении химио- или лучевой терапии меняется состав опухолевых клеток [5, 7], при этом сначала погибают опухолевые клетки с высокой пролиферативной активностью, за счет чего происходит уменьшение размера опухоли, в то время как ОСК выживают [30]. Рак толстой кишки, как и ряд других опухолей, рассматривается как заболевание стволовых клеток. ОСК по фенотипическим характеристикам являются гетерогенными и функционально ответственны за рецидив опухоли, метастазирование и химиорезистентность [7, 11, 21, 27].

Новые терапевтические подходы, в том числе иммунологические, направленные на уничтожение ОСК, находятся в фокусе исследований последних лет [11, 34]. Сочетание терапии, нацеленной на ОСК, и традиционной терапии может способствовать снижению химиорезистентности [30]. При исследовании циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) выявлено, что нередко они имеют маркеры ОСК, следовательно, последние могут обуславливать не только рецидивирование, но и метастазирование опухоли. В настоящее время как ЦОК, так и ОСК описаны в качестве диагностических и прогностических факторов, а также мишеней для возможной таргетной терапии [1, 11, 26, 39].

С учетом современных представлений об «иммуноредактировании» опухоли [12], в литературе рассматриваются механизмы, с помощью которых различные клетки иммунной системы способны ограничивать или стимулировать диссеминацию и персистенцию опухолевых клеток [23].

Для реализации своего метастатического потенциала опухолевые клетки эволюционируют в сторону снижения иммуногенности. В качестве стратегий их выживания в литературе описана потеря одних рецепторов (главного комплекса гистосовместимости, опухолевых антигенов) и гиперэкспрессия других (PD-L1, CD47); продукция факторов, угнетающих цитотоксическую и фагоцитарную активность иммунокомпетентных клеток; привлечение тромбоцитов, способных как механически, так и через выделение цитокинов блокировать активность натуральных киллеров [22, 24, 35] и др. И, хотя в целом кровоток считается враждебной средой для метастазирующих опухолевых клеток, часть из них способна сформировать подходящее для своего выживания микроокружение [15, 33]. В ткани также создается определенное микроокружение опухоли, способствующее или препятствующее ее росту и распространению [19]. Оно может включать как вырабатываемые опухолевыми клетками вещества (факторы роста, стимуляторы неоангиогенеза и пр.), так и привлекаемые опухолью ресурсы организма, в частности, компоненты иммунной системы (лимфоциты, макрофаги), в ряде ситуаций с их перепрограммированием [4], а также цитокины – молекулы межклеточных взаимодействий, участвующие в регуляции процессов пролиферации и апоптоза, баланс которых в большой мере определяет рост или регрессию опухоли [2, 3].

Представляет несомненный интерес изучение взаимоотношения ОСК с системными и локальными факторами иммунитета, а также оценка возможности использования этих данных для прогнозирования течения злокачественных опухолей с дальнейшей разработкой персонализированных подходов к лечению больных.

Целью работы явилось выявление наиболее значимых иммунологических факторов для прогноза течения КРР на основе изучения показателей локального и системного иммунитета и некоторых характеристик опухолевых клеток больных с различной распространенностью и динамикой заболевания.

Материалы и методы

Характеристика больных

Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии». Обязательным условием включения в исследование являлось наличие подписанного добровольного информированного согласия всех больных. В исследование включены 299 больных раком ободочной кишки и ректосигмоидного отдела, T1-4N0-2M0-1, II-IV стадий, в возрасте от 42 до 86 лет (средний возраст 64,2±1,7 лет), находив-

шиеся на лечении в ФГБУ НМИЦ онкологии с 2012 по 2016 гг. На долю мужчин приходилось 51,8% (155 человек), женщин – 48,2% (144 человека). Распределение больных по стадиям заболевания проводили в соответствии с Международной классификацией злокачественных опухолей по системе TNM (AJCC/ UICC 8 th ed., 2017). Большинство больных находилось во II стадии заболевания – 36,8% (110 человек), на долю больных в III и IV стадиях заболевания приходилось 29,4% (88 человек) и 33,8% (101 человек) соответственно. Распределение больных внутри стадий заболевания по полу и возрасту являлось сопоставимым.

Наиболее часто (у 110 больных) опухоль определялась в сигмовидной кишке (36,8%), в то время как у 47 больных (15,7%) в восходящем отделе, у 36 (12%) в поперечно-ободочной кишке, по 29 больных (9,7%) отмечалось расположение опухоли в печеночном изгибе и нисходящем отделе ободочной кишки. В селезеночном изгибе и слепой кишке опухоль встречалась у 28 (9,4%) и 20 (6,7%) больных соответственно. Гистологическое строение преобладающего числа опухолей соответствовало аденокарциноме – 242 больных (81%), муцинозная аденокарцинома выявлена у 45 больных (15%), у наименьшего количества больных – 12 (4%), выявлен перстневидно-клеточный рак. В исследовании преобладали опухоли G2 степени дифференцировки – 55,2% (165 больных), на долю опухолей G1 и G3 степени дифференцировки приходилось соответственно 15,4% (46 больных) и 29,4% (88 больных).

Всем больным первым этапом выполнялось хирургическое лечение. Все больные II-III стадий после проведения оперативного вмешательства получали адъювантную химиотерапию по схеме FOLFOX. Больным IV стадии с резектабельными метастазами в печень, одновременно с удалением первичной опухоли выполнялась операция на печени, в последующем курсы адъювантной химиотерапии по схеме FOLFOX. Больных наблюдали в течение 5 лет после операции. При развитии прогрессирования заболевания проводили лечение по общепринятым стандартам.

Проведено сопоставление результатов определения показателей системного и локального иммунитета, а также опухолевых стволовых клеток у больных КРР с различной распространенностью и динамикой опухолевого процесса.

Исходно до операции выделяли подгруппы пациентов без метастазирования (n = 108), а также с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов (n = 191). У 153 пациентов наряду с метастазами в регионарные лимфатические узлы были выявлены и отдаленные метастазы. В ходе наблюдения за пациентами в течение 90 месяцев (7,5 лет) после операции у 138 пациентов развился летальный исход, у 51 пациента наблюдались метастазы, включая метастазы в регионарные лимфатические узлы (n = 12) и отдаленные метастазы (n = 39).

Иммунологические методы

В сыворотках больных определяли уровни цитокинов (TNF, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IFNα, IFNγ) методом ИФА с тест-системами «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), результаты выражали в пг/мл.

В крови методом проточной цитометрии на цитометре FACSCantoII (BD) определяли популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов: Т ($CD3^+CD4^+CD8^+$), В ($CD19^+$), NK ($CD16/56^+$, включая субпопуляции $CD16^{bright}56^{dim}$ и $CD16^{dim}56^{bright}$, а также содержащие перфорин и гранзим В), NKT ($CD3^+CD16/56^+$), Tregs ($CD4^+CD25^+CD127^{dim}$), Th0 ($CD45RA^+CD62L^+CD4^+$, $CD45RA^+CD62L^+CD8^+$), Tm ($CD45RO^+CD62L^+CD4^+$, $CD45RA^+CD62L^+CD8^+$), количественные характеристики и активность гранулоцитов и моноцитов в тестах Phagotest и Phagoburst.

Факторы локального иммунитета и тканевое содержание ОСК исследовали методами проточной цитометрии на анализаторе FACS CantoII и ИГХ.

Для исследования факторов локального иммунитета фрагменты удаленной опухолевой ткани дезинтегрировали с помощью дезагрегирующего устройства BDMedimachine. В гомогенатах тканей определяли общее количество лейкоцитов ($CD45^+$), процент опухолевых клеток $EpCam^+$ ($CD326^+$), экспрессирующих стволовые маркеры ($CD133^+$, $CD44^+$), а также молекулы главного комплекса гистосовместимости (HLA-ABC, HLA-E) и лиганд рецептора программируемой клеточной гибели PD-L1 ($CD274^+$). Кроме того, среди клеток иммунологического микроокружения опухоли оценивали уровни лейкоцитов, находящихся в лимфоцитарном гейте и экспрессирующих тот же лиганд и его рецептор: $CD45^+CD274^+$ (PD-L1) и $CD45^+CD279^+$ (PD-1), а также Т-В-NK-NKT лимфоцитов.

Иммуногистохимические методы

В срезах с парафиновых блоков, предназначенных для стандартного морфологического исследования опухоли, методом ИГХ определяли опухолевые клетки с маркерами стволовости ($CD133^+$, $CD44^+$, ALDH1) в процентах от общего количества опухолевых клеток.

Депарафинизацию и дегидратацию парафиновых срезов проводили по стандартной методике. «Демаскировку» антигенов проводили в PT-LinkThermo. Срезы предварительно нагревали до 65 °С, далее происходило восстановление анти-

ТАБЛИЦА 1. ПАНЕЛЬ АНТИТЕЛ ДЛЯ ИГХ-ИССЛЕДОВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ

TABLE 1. PANEL OF ANTIBODIES FOR IHC-TESTING OF TUMORS

Специфичность Specificity	**Клон** Clone	**Фирма** Manufacturer	**Разведение** Dilution	**Буфер для «демаскировки антигенов»** Antigen Retrievel Buffer
CD44	156-3C11	Thermo Scientific	1:2500	Antigen Retrievel Buffer (100× Citrate pH 6,0)
CD133	polyclonal	Cloud-Clone Corp	1:700	10 мMTris, 1 мMEDTA (pH 9,0)
ALDH1A1	B-5	Santa Cruz Biotechnology	1:1800	10 мMTris, 1 мMEDTA (pH 8,0)

гена в течение 20 минут при температуре 97 °С и охлаждение до 65 °С. Затем стекла промывали в течение 1-3 минут TBSIHC Wash Buffer +Tween 20 (Cell Marque) и окрашивали в автостейнере Thermo Scientific 480S в автоматическом режиме. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовалась система детекции Reveal Polyvalent HRP-DAB Detection System. Срезы докрашивали гематоксилином Майера, для заключения использовали бальзам Bio-Mount. Оценку результатов ИГХ-реакции проводили с применением светового микроскопа Leica (Германия) под увеличением 10, 20, 40. Использованные первичные моноклональные и поликлональные антитела представлены в таблице 1.

Методы статистического анализа

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием программы STATISTICA 12.0 (StatSoft, США). Количественные показатели представляли в виде среднего (M) и стандартного отклонения (SD). Проверку на нормальность распределения осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для выявления статистической значимости различия средних использовали критерий Манна–Уитни. Различие долей оценивали с помощью критерия Хи квадрат Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность.

Результаты

Больных разделяли по отсутствию или наличию на момент исследования таких клинических характеристик, как распространенность опухолевого процесса: метастазирование в регионарные лимфатические узлы (табл. 2), отдаленное метастазирование (табл. 3), а также клиническая динамика: метастазирование, развившееся в ходе наблюдения (табл. 4), и летальный исход (табл. 5). В таблицах 2-5 приведены только статистически значимые различия между исследованными показателями больных.

Показатели системного и локального иммунитета у больных КРР с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов

Как видно из представленных в таблице 2 данных, метастазирование КРР в регионарные лимфоузлы сопровождается снижением содержания $CD45^+$ клеток в ткани и повышением в ней уровня $CD44^+$ опухолевых клеток, а также снижением $CD3^+$ и $CD4^+$ лимфоцитов в крови, наряду с повышением в ней процента NK-клеток по сравнению с больными без метастазирования. Регионарное метастазирование КРР характеризуется накоплением в ткани опухолевых клеток с иммунофенотипическими признаками стволовости при снижении присутствия в ней лейкоцитов, а также уменьшением количества клеток, ответственных за адаптивный иммунитет, при, по-видимому, компенсаторном повышении уровня клеток врожденного иммунитета в крови. В крови этих же больных отмечено повышение уровня IL-6, которое, наряду с более высокой экспрессией маркеров ОСК в ткани опухоли, является общим для больных с регионарным и отдаленным метастазированием. Статистически значимых различий уровней остальных исследованных цитокинов не выявлено, хотя среднее содержание IL-10 было в 2 раза, а IL-8 – 3,4 раза выше по сравнению с больными без метастатического поражения лимфоузлов (M 12,0 и 5,2 пг/мл для IL-10; M 94,4 и 28,8 пг/мл, для IL-8) (рис. 1А).

Показатели системного и локального иммунитета у больных КРР с отдаленным метастазированием

При наличии отдаленных метастазов выявлено существенно больше статистически значимых отличий (табл. 3).

В крови отмечено повышение уровней IL-6 и гранулоцитарного кислородного взрыва, стимулированного fMLF. Более глубокие изменения отмечены в ткани опухоли как среди опухолевых клеток, так и среди клеток ее лимфоцитарного микроокружения. Так, выявлено повышение тканевого уровня NKT-клеток и снижение процента

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО, ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК, ИМЕЮЩИХ СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ БОЛЬНЫМИ С МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ В РЕГИОНАРНЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ И БЕЗ НЕГО, M±SD

TABLE 2. CHARACTERISTICS OF SYSTEM, LOCAL IMMUNOLOGIC FACTORS AND TUMOR CELLS STATISTICALLY SIGNIFICANTLY DIFFERENT BETWEEN PATIENTS WITH AND WITHOUT METASTASES IN REGIONAL LYMPH NODES, M±SD

Показатели Parameters	**Метастазы в регионарные лимфоузлы** Metastases in regional lymph nodes		p
	Нет No	**Есть** Yes	
Кровь Blood			
$CD3^+$, % от лимфоцитов $CD3^+$, % from lymphocytes	77,54±8,63	67,12±12,33	0,002
$CD4^+$, % от Т-лимфоцитов $CD4^+$, % from T lymphocytes	40,79±12,40	34,15±11,00	0,045
$CD16/56^+$, % от лимфоцитов $CD16/56^+$, % from lymphocytes	11,63±7,90	19,29±11,44	0,012
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	14,86±4,56	42,99±7,48	0,010
Ткань опухоли, ПЦМ Tumor tissue, FCM			
$CD326^+CD44^+$,% от $CD45^-$ $CD326^+CD44^+$,% from $CD45^-$	7,76±2,72	11,35±3,33	0,001
Ткань опухоли, ИГХ Tumor tissue, IHC			
$CD45^+$, %	0,88±0,13	0,500±0,001	0,001
$CD44^+$, %	8,22±4,86	12,41±8,79	0,010

Примечание. В таблицах 2-5 доверительная вероятность p рассчитана по критерию Манна–Уитни; ПЦМ – проточная цитометрия; ИГХ – иммуногистохимическое исследование.

Note. In the tables 2-5 confidence probability was calculated by the Mann–Whitney test; FCM, flow cytometry; IHC, immunohistochemical testing.

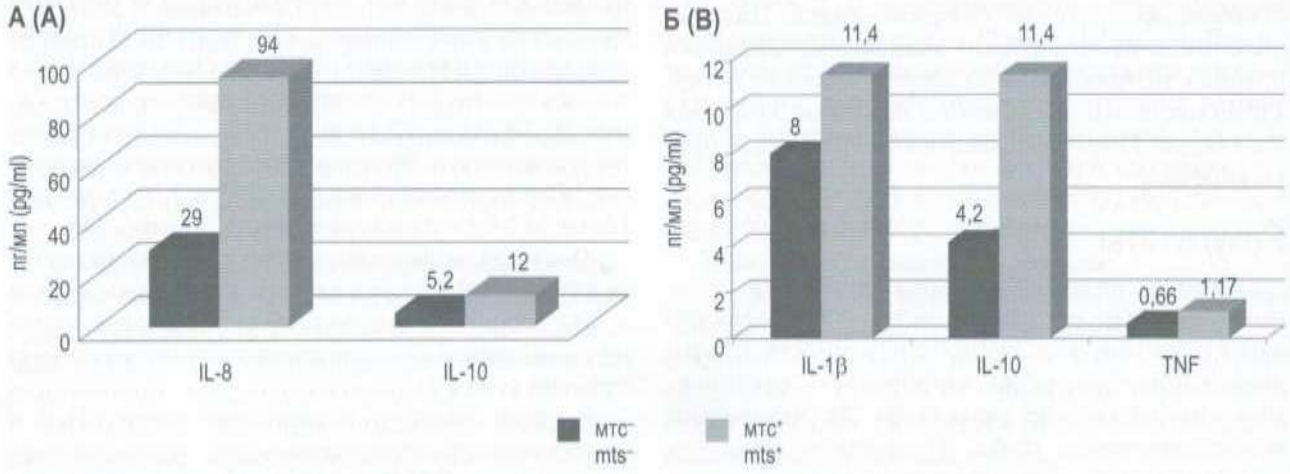


Рисунок 1. Содержание некоторых цитокинов в крови больных КРР (пг/мл)

Примечание. А – с отсутствием и наличием метастазов в лимфоузлы. Б – с отсутствием и наличием отдаленных метастазов.

Figure 1. Levels of some cytokines in CRC patients' blood (pg/ml)

Note. A, with and without metastases in lymph nodes. B, with and without distant metastases.

ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО, ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК, ИМЕЮЩИХ СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ БОЛЬНЫМИ С ИСХОДНЫМ ОТДАЛЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ И БЕЗ НЕГО, M±SD

TABLE 3. CHARACTERISTICS OF SYSTEM, LOCAL IMMUNOLOGIC FACTORS AND TUMOR CELLS STATISTICALLY SIGNIFICANTLY DIFFERENT BETWEEN PATIENTS WITH AND WITHOUT DISTANT METASTASES, M±SD

Показатели Parameters	**Отдаленные метастазы** Distant metastases		p
	Нет No	**Есть** Yes	
Кровь Blood			
Кисл. взрыв гран. (fMLF), % Oxydative burst gran. (fMLF), %	2,67±1,81	6,45±4,11	0,012
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	15,41±9,82	39,82±15,48	0,031
Ткань опухоли, ПЦМ Tumor tissue, FCM			
NKT ($CD3^+CD16/56^+$), % от лимфоцитов NKT ($CD3^+CD16/56^+$), % from lymphocytes	3,78±3,18	5,99±4,19	0,009
$CD45^+CD274^+$ (PD-L1), % от лимфоцитов $CD45^+CD274^+$ (PD-L1), % from lymphocytes	40,60±21,93	30,88±14,90	0,013
$CD45^+CD279^+$ (PD-1), % от лимфоцитов $CD45^+CD279^+$ (PD-1), % from lymphocytes	43,14±22,30	31,29±19,86	0,008
$CD326^+CD274^+$ (EpCamPD-L1), % от $CD45^-$ $CD326^+CD274^+$ (EpCamPD-L1), % from $CD45^-$	12,15±9,66	8,01±3,73	0,006
$CD326^+CD44^+$, % от $CD45^-$ $CD326^+CD44^+$, % from $CD45^-$	7,96±3,19	12,72±5,87	0,023
$CD326^+CD44^+CD133^+$, % от $CD45^-$ $CD326^+CD44^+CD133^+$, % from $CD45^-$	0,60±0,33	0,90±0,39	0,002
$CD326^+$HLA ABC, % от $CD45^-$ $CD326^+$HLA ABC, % from $CD45^-$	69,20±24,79	56,85±27,78	0,028
$CD326^+$HLA E, % от $CD45^-$ $CD326^+$HLA E, % from $CD45^-$	27,83±12,48	18,23±5,10	0,000
Ткань опухоли, ИГХ Tumor tissue, IHC			
$CD133^+$, %	7,27±2,49	8,59±3,23	0,002
ALDH1, %	6,73±4,64	10,24±8,31	0,010

ТАБЛИЦА 4. ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО, ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК, ИМЕЮЩИХ СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ БОЛЬНЫМИ С РАЗВИВШИМСЯ ОТДАЛЕННЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ И БЕЗ НЕГО, M±SD

TABLE 4. CHARACTERISTICS OF SYSTEM, LOCAL IMMUNOLOGIC FACTORS AND TUMOR CELLS STATISTICALLY SIGNIFICANTLY DIFFERENT BETWEEN PATIENTS WITH AND WITHOUT DISTANT METASTASES WHICH DEVELOPED DURING THE OBSERVATION PERIOD, M±SD

Показатели Parameters	**Метастазирование, развившееся в процессе наблюдения** Metastases which developed during the observation period		p
	Нет No	**Есть** Yes	
Кровь Blood			
CD16/56⁺, % от лимфоцитов CD16/56⁺, % from lymphocytes	15,60±10,75	24,34±9,60	0,046794
Perforin, % от NK Perforin, % from NK	74,03±21,81	12,85±4,03	0,001021
Кисл. взрыв гран. (fMLF), % Oxydative burst gran. (fMLF), %	3,621±1,530	12,55±0,07	0,000105
Кисл. взрыв мон. (fMLF), % Oxydative burst mon. (fMLF), %	5,83±3,90	37,10±14,28	0,000020
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	6,24±4,67	33,27±40,06	0,000646
Ткань опухоли, ПЦМ Tumor tissue, FCM			
CD326⁺HLA ABC, % от CD45⁻ CD326⁺HLA ABC, % from CD45⁻	64,72±25,52	48,30±32,73	0,041665
CD326⁺CD133⁺, % от CD45⁻ CD326⁺CD133⁺, % from CD45⁻	8,24±4,58	20,13±7,31	0,006395
Ткань опухоли, ИГХ Tumor tissue, IHC			
CD133⁺, %	4,38±2,00	8,45±2,18	0,004843

лимфоцитов, экспрессирующих PD-1 и PD-L1. При этом увеличивается содержание опухолевых клеток, коэкспрессирующих маркеры стволовых клеток (CD44⁺, CD133⁺, ALDH1), происходит снижение на них экспрессии PD-L1 и молекул главного комплекса гистосовместимости I типа. Повышение экспрессии маркеров стволовости характеризует метастазирующие опухоли, однако, если при регионарных метастазах отмечена статистическая значимость только для маркера CD44, то при отдаленных выявлены различия и по CD133.

Хотя уровни цитокинов в крови, кроме отмеченного выше IL-6, и не показали статистически значимых различий вследствие широкой индивидуальной вариабельности между больными с отдаленными метастазами и без них, в группе с метастазами наблюдались более высокие значения: IL-10 – в 2,4 раза (M 11,4 и 4,2 пг/мл), TNF (M 1,17 и 0,66 пг/мл,) и IL-1β (M 13,1 и 8,14 пг/мл) соответственно (рис. 1Б).

Показатели системного и локального иммунитета у больных КРР с отдаленным метастазированием, наступившем в ходе наблюдения

Отдельную группу составляли больные, у которых отдаленное метастазирование развилось в процессе наблюдения, у части из них произошел летальный исход. При развитии метастазов у больных выявлено снижение процента функционально активных Perforin-содержащих NK-клеток, несмотря на повышение их общего количества, по-видимому, компенсаторное, а также возрастание процента гранулоцитов и моноцитов, отвечающих на fMLF, количества опу-

ТАБЛИЦА 5. ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМНОГО, ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК, ИМЕЮЩИХ СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ РАЗЛИЧИЯ, МЕЖДУ БОЛЬНЫМИ С ЛЕТАЛЬНЫМ ИСХОДОМ И БЕЗ НЕГО, M±SD

TABLE 5. CHARACTERISTICS OF SYSTEM, LOCAL IMMUNOLOGIC FACTORS AND TUMOR CELLS STATISTICALLY SIGNIFICANTLY DIFFERENT BETWEEN PATIENTS WITH AND WITHOUT FATAL OUTCOME, M±SD

Показатели Parameters	**Летальный исход** Fatal outcome		p
	Нет No	**Есть** Yes	
Кровь Blood			
$CD16^{dim}56^{bright}$, % от NK $CD16^{dim}56^{bright}$, % from NK	16,95±1,91	4,12±1,72	0,017659
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml	16,51±1,89	41,61±3,69	0,023566
Ткань опухоли, ПЦМ Tumor tissue, FCM			
$CD326^+CD133^+$, % от $CD45^-$ $CD326^+CD133^+$, % from $CD45^-$	14,24±4,23	22,61±7,54	0,006018
$CD326^+CD44^+CD133^+$, % от $CD45^-$ $CD326^+CD44^+CD133^+$, % from $CD45^-$	0,59±0,25	0,87±0,73	0,019078
NKT, % от лимфоцитов NKT, % from lymphocytes	4,20±0,38	5,89±0,39	0,045412
$CD326^+$HLA ABC, % от $CD45^-$ $CD326^+$HLA ABC, % from $CD45^-$	70,30±24,09	54,38±27,78	0,003989
$CD326^+$HLA E, % от $CD45^-$ $CD326^+$HLA E, % from $CD45^-$	24,66±10,89	20,42±9,34	0,046882
Ткань опухоли, ИГХ Tumor tissue, IHC			
$CD133^+$, %	6,54±0,55	9,07±0,36	0,009134
$CD44^+$, %	9,83±0,85	12,26±0,69	0,012255

холевых клеток, экспрессирующих маркер ОСК CD133, и уровня IL-10 (табл. 4).

У больных данной группы, кроме статистически достоверно различающихся показателей, оказалось довольно много параметров, не имеющих статистически значимых различий, но которые, тем не менее, обращают на себя внимание: при развивающемся метастазировании в крови больных наблюдалось повышение уровня IL-6 (M 51,9 против 27,6 пг/мл,), содержания как «наивных» Т-лимфоцитов ($CD8^+/CD45RA^+/CD62L^+$) (M 13,1 против 9,1%), так и Т-клеток памяти ($CD8^+/CD45RA^-/CD45RO^+$) (M 48,8 против 33,5%) и активированных лимфоцитов ($CD8^+/CD38^+$) (M 32,5 против 24,6%), касающихся только субпопуляции $CD8^+$. У этих же больных в крови наблюдалось 2,8-кратное повышение процента $CD16^{dim}CD56^{bright}$ клеток, а в ткани – $CD45^+CD279^+$ при снижении присутствия в ней Т-лимфоцитов ($CD45^+CD3^+$).

Показатели системного и локального иммунитета у больных КРР с летальным исходом

У больных, у которых в дальнейшем наступил летальный исход, в крови отмечено снижение функционально активных натуральных киллеров, а именно субпопуляции NK ($CD16^{dim}CD56^{bright}$), а в ткани выявлено повышение уровня NKT клеток (табл. 5).

У таких больных также отмечен более высокий уровень ОСК, экспрессирующих CD44 и CD133, выявленных как ИГХ, так и проточной цитометрией.

Кроме того, ряд показателей имел тенденцию к изменениям, хотя и не проявившуюся в статистической значимости: например, в крови отмечено повышение не только уровня IL-6, но и IL-10 (в 2,9 раза) (M 12,4 против 4,2 пг/мл), IL-8 (M 74,6 против 58,8 пг/мл) и TNF (M 1,28 против 0,6 пг/мл), а также усиление кислородного взрыва моноцитов и гранулоцитов под действием

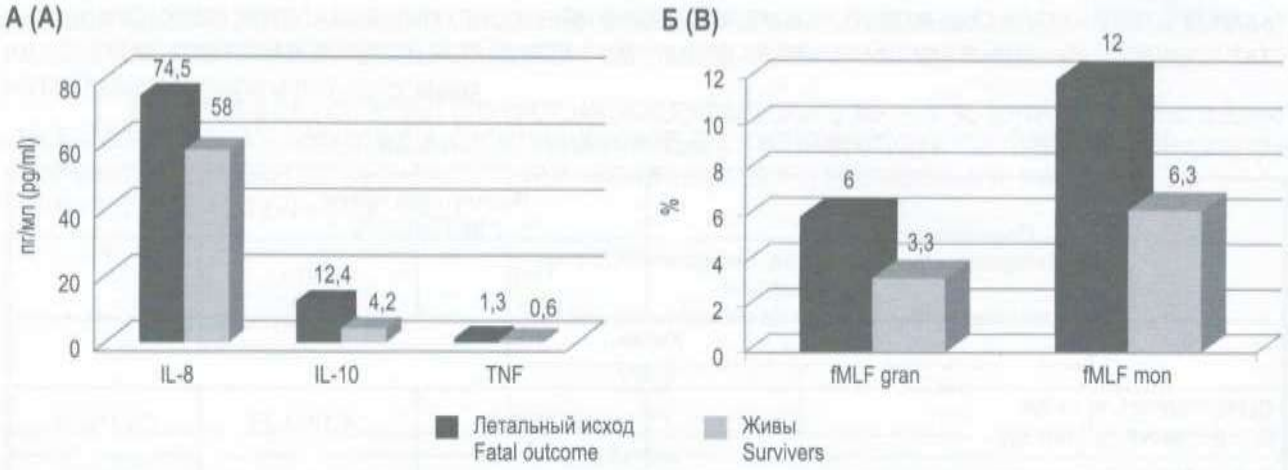


Рисунок 2. Содержание некоторых клеточных и цитокиновых факторов в крови больных КРР с летальным исходом и без него

Примечание. А – уровни цитокинов (пг/мл). Б – содержание гранулоцитов и моноцитов, отвечающих на fMLF (%).

Figure 2. Levels of some cellular and cytokine factors in CRC patients' blood with and without fatal outcome

Note. A, levels of some cytokines (pg/ml). B, levels of granulocytes and monocytes responding to fMLF (%).

ТАБЛИЦА 6. ИЗМЕНЕНИЯ ФАКТОРОВ СИСТЕМНОГО И ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И ФЕНОТИПА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ РАЗВИТИИ РЕГИОНАРНЫХ И ОТДАЛЕННЫХ МЕТАСТАЗОВ

TABLE 6. CHANGES IN LOCAL AND SYSTEM IMMUNOLOGIC FACTORS AND IN TUMOR CELLS' PHENOTYPE DURING THE DEVELOPMENT OF REGIONAL AND DISTANT METASTASES

	Кровь Blood	**Ткань опухоли, ПЦМ** Tumor, FCM	**Ткань опухоли, ИГХ** Tumor, IHC
Метастазы в лимфатические узлы Metastases in regional lymph nodes			
↓	$CD3^+$, $CD4^+$	$CD45^+$	$CD45^+$
↑	NK, IL-6	$CD326^+CD44^+$	$CD44^+$
Отдаленные метастазы Distant metastases			
↓	0	$CD45^+CD279^+$, $CD45^+CD274^+$, HLA-ABC, HLA-E $CD326^+CD274^+$	0
↑	**Кисл.взрыв гран. (fMLF)** Oxydative burst gran. (fMLF), IL-6	$CD326^+CD44^+$ $CD326^+CD44^+CD133^+$	$CD133^+$, ALDH1
Отдаленные метастазы в процессе наблюдения Metastases which developed during the observation period			
↓	NKPerforin+	$CD326^+$HLA-ABC	0
↑	NK, IL-10 **Кисл.взрыв гран. и мон. (fMLF)** Oxydative burst gran. and mon. (fMLF)	$CD326^+CD133^+$	$CD133^+$
Летальность в процессе наблюдения Fatal outcome during the observation period			
↓	NK ($CD16^{dim}CD56^{br}$)	$CD326^+$HLA-ABC, $CD326^+$HLA-E	0
↑	IL-6	NKT, $CD326^+CD133^+$ $CD326^+CD44^+CD133$	$CD133^+CD44^+$

Примечание. ↑ – при метастазах (летальном исходе) выше, чем без них; ↓ – при метастазах (летальном исходе) ниже, чем без них.

Note. ↑, in cases of metastases (fatal outcome) higher than without them; ↓, in cases of metastases (fatal outcome) lower than without them.

fMLF (М 12 против 6,3%, и М 6,0 против 3,3%, соответственно) (рис. 2А, Б).

В таблице 6 обобщены статистически значимые различия между показателями больных в зависимости от распространенности, динамики и исхода заболевания.

Итак, при нарастании распространенности КРР обнаружено увеличение количества измененных показателей локального и системного иммунитета, включая клеточные и цитокиновые, а также увеличение содержания опухолевых клеток с маркерами стволовых и гипоэкспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости и системы PD-1/PDL-1.

Обсуждение

Прогнозирование течения КРР является важной медицинской проблемой. Проведенное нами исследование системного и локального иммунитета у больных с различной распространенностью и динамикой заболевания показало, что важным условием для генерализации КРР и, следовательно, для неблагоприятного прогноза представляется отмеченное снижение экспрессии на опухолевых клетках молекул главного комплекса гистосовместимости, а также PDL-1. Уменьшение экспрессии последнего наряду с PD-1 на опухоль-инфильтрирующих лимфоцитах характеризует генерализованный процесс, хотя ингибиторы системы PD-1/PDL-1 применяются именно в таких случаях.

В литературе не сложилось единого мнения о прогностической значимости экспрессии PD-1/PDL-1, хотя данный вопрос весьма актуален для персонализированного выбора иммунотерапии ингибиторами контрольных точек. Так, по данным метаанализа, опубликованного в 2015 г., экспрессия PD-L1 и PD-1 ассоциирована с меньшей общей выживаемостью больных опухолями эпителиального происхождения, что особенно относится к PDL-1 [13]. В более поздних работах сообщается об отсутствии прогностической роли экспрессии этих маркеров при оценке общей и бессобытийной выживаемости больных раком легкого, получающих химиолучевую терапию [33], и опухолями носоглотки [16]. У больных раком желудка с помощью многофакторного анализа было показано, что для регионарного и отдаленного метастазирования независимыми факторами неблагоприятного прогноза, напротив, являются низкие уровни мРНК PD-1 и CD8, причем авторами установлена статистически значимая связь между экспрессией мРНК и соответствующего белка [17]. Описанные нами локальные характеристики опухолевых и иммунокомпетентных клеток свидетельствует о том, что опухоль становится менее «узнаваемой» для клеток иммунной системы и, возможно, менее чувствительной к ингибиторам контрольных точек.

Снижение экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости МНС I класса (HLA-ABC), отмеченное при нарастании распространенности КРР и ухудшении исхода, расценивается в качестве фактора негативного прогноза, что подтверждает данные литературы [18] и отражает возможность угнетения адаптивного иммунитета, в частности, его антиген-презентирующего и распознающего звеньев у таких больных. Прогностическое значение экспрессии HLA-E описывается в литературе как различное в зависимости от состава опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток. Являясь лигандом для NK-клеточного ингибирующего рецептора NKG2A [10], HLA-E также вовлечен во взаимодействие и с другими рецепторами цитотоксических лимфоцитов и натуральных киллеров, что позволяет ему проявлять разнонаправленные влияния на иммунное микроокружение и опухолевый рост. У исследованных нами больных его экспрессия снижалась при нарастании распространенности КРР и при ухудшении исхода параллельно с экспрессией классических молекул главного комплекса гистосовместимости и при повышении в опухолевой ткани уровней ОСК и NKT.

Повышение количества опухолевых клеток с маркерами стволовых у больных с метастатическим КРР и неблагоприятным исходом лечения подтверждает многочисленные данные литературы, согласно которым ОСК обеспечивают сохранность пула злокачественных клеток для рецидивирования и метастазирования, а также обуславливают химиорезистентность и агрессивность опухоли [34] и расцениваются как независимый фактор негативного прогноза по показателям общей и бессобытийной выживаемости [36].

Повышение уровня натуральных киллеров наблюдалось нами только в крови больных, причем при метастазировании в регионарные лимфатические узлы показатели их функциональных тестов не меняются, а при развитии отдаленного метастазирования их активность подавлена, судя по снижению содержания в них перфорина. В отличие от них, увеличение процента NKT при генерализации КРР выявлялось в ткани опухоли, что предположительно связано с преобладанием среди них TH2- и Treg-подобных субпопуляций, способствующих опухолевой прогрессии [20].

В крови больных КРР частой находкой при метастазировании и последующем летальном исходе было повышение ответа гранулоцитов и моноцитов в тесте Phagoburst при добавлении fMLF, обозначенного в тест-системе как слабый стимулятор кислородного взрыва. Тем не менее *in vivo*

это вещество из группы N-формилпептидов известно, как продукт метаболизма, протекающего в митохондриях, и как мощный хемоаттрактант нейтрофилов, стимулятор их миграции в очаг воспаления, продукции цитокинов, генерации активных форм кислорода и других видов активности [14]. Описано его значение в развитии воспалительных заболеваний кишечника, но, поскольку он как агонист формил-пептидных рецепторов (FPR), участвует в распознавании PAMP и DAMP, то через последние может играть роль и при опухолях. Такая роль отмечена у одного из агонистов FPR2 (антимикробного белка LL-37), сходного с fMLF по происхождению и спектру биологической активности [9]. Ростостимулирующая активность fMLF может быть опосредована стимуляцией миграции нейтрофилов, образующих внеклеточные ловушки, моделированием внеклеточного матрикса, угнетением функций Т-эффекторов, стимуляцией неоангиогенеза [13, 25]. Другим механизмом такого действия fMLF, реализуемым в организме, может быть гиперпродукция провоспалительных цитокинов и хемокинов, проонкогенные свойства которых хорошо известны. Наблюдаемое нами повышение в крови уровня IL-6 при регионарном и отдаленном метастазировании и ухудшении прогноза КРР еще раз подчеркивает его роль в распространении опухоли, а прогностическая значимость IL-10, также считающегося проонкогенным, проявилась только в группе больных с развивающимся метастазированием.

Таким образом, на основании проведенного исследования выявлен круг иммунологических факторов и характеристик опухолевых клеток, которые могут рассматриваться в качестве прогностических при КРР.

Заключение

В данной работе у 299 больных КРР с различной распространенностью на этапе хирургического лечения проведено исследование показателей системного и локального иммунитета, а также ряда иммунофенотипических характеристик опухолевых клеток для выявления наиболее прогностически значимых из них, что определяли, наблюдая клиническую динамику больных в течение 7,5 лет. Получены различия в зависимости от исходного наличия или отсутствия регионарных и отдаленных метастазов, а также неблагоприятного исхода (метастазирования, летального исхода), развившегося в ходе наблюдения. Установлены прогностические факторы неблагоприятного течения КРР: высокие уровни IL-6 и IL-10, моноцитов и гранулоцитов, отвечающих на fMLF в крови, повышение уровня NKT клеток и ОСК при снижении MHC-экспрессирующих опухолевых клеток в ткани. Дальнейшего исследования заслуживает значение выявленного снижения экспрессии PD-1/PDL-1 в клетках опухоли и лимфоцитах ее микроокружения при генерализованном КРР, т.к. рецептор и лиганд клеточной гибели являются мишенями для иммунотерапии препаратами ингибиторами контрольных точек.

Благодарности

Авторы выражают благодарность доценту кафедры медицинской и биологической физики ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кандидату медицинских наук А.А. Демидовой за проведение статистической обработки данных.

Список литературы / References

1. Кит О.И., Новикова И.А., Бахтин А.В., Никипелова Е.А., Шатова Ю.С., Габараева В.М., Нистратова О.В. Первый опыт детекции циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови // Международный журнал экспериментального образования, 2013. №. 11-2. С. 37-39. [Kit O.I., Novikova I.A., Bakhtin A.V., Nikipelova E.A., Shatova Yu.S., Gabareva V.M., Nistratova O.V. The first experience of detection circulating tumor cells in peripheral blood. *Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimentalnogo obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education, 2013, no. 11-2, pp. 37-39.* (In Russ.)]

2. Кит О.И., Шапошников А.В., Златник Е.Ю., Никипелова Е.А., Новикова И.А. Местный клеточный иммунитет при аденокарциноме и полипах толстой кишки //Сибирское медицинское обозрение, 2012. Т. 76, №. 4. С. 11-16. [Kit O.I., Shaposhnikov A.V., Zlatnik E.Yu., Nikipelova E.A., Novikova I.A. Local cellular immunity in adenocarcinoma and large intestine polyps. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review, 2012, Vol. 76, no. 4, pp. 11-16.* (In Russ.)]

3. Кжышковска Ю.Г., Стахеева М.Н., Литвяков Н.В., Савельева О.Е., Митрофанова И.В., Степанов И.В., Грачев А.Н., Геращенко Т.С., Завьялова М.В., Чердынцева Н.В. Иммунная система и эффективность противоопухолевого лечения. Томск: Издательство Томского университета, 2015. 164 с. [Kzhyshkovska Yu.G., Stakheeva M.N., Litviakov N.V., Savelyeva O.E., Mitrofanova I.V., Stepanov I.V., Gratchev A.N., Gerashchenko T.S., Zavyalova M.V., Cherdyntseva N.V. Immune system and the efficacy of cancer treatment]. Tomsk: Tomsk University Publishing House, 2015. 164 p.

4. Перельмутер В.М., Таширева Л.А., Манских В.Н., Денисов Е.В., Савельева О.Е., Кайгородова Е.В., Завьялова М.В. Иммуновоспалительные реакции в микроокружении гетерогенны, пластичны, определяют

противоопухолевый эффект или агрессивное поведение опухоли // Журнал общей биологии. Томск, 2017. Т. 78, № 5. С. 15-36. [Perelmuter V.M., Tashireva L.A., Manskikh V.N., Denisov E.V., Savelieva O.E., Kaygorodova E.V., Zavyalova M.V. Heterogeneity and plasticity of immune-inflammatory responses in tumor microenvironment: A role in antitumor effect and tumor aggressiveness. *Zhurnal obshchey biologii. Tomsk = Journal of General Biology, Tomsk, 2017, Vol. 78, no. 5, pp. 15-36.* (In Russ.)]

5. Arnold C.R., Mangesius J., Skvortsova I.I., Ganswindt U. The Role of Cancer Stem Cells in Radiation Resistance. *Front. Oncol., 2020, Vol. 10, 164.* doi: 10.3389/fonc.2020.00164.
6. Athauda A., Segelov E., Ali Z., Chau I. Integrative molecular analysis of colorectal cancer and gastric cancer: What have we learnt? *Cancer Treat. Rev., 2019, Vol. 73, pp. 31-40.*
7. Ayob A.Z., Ramasamy T.S. Cancer stem cells as key drivers of tumour progression. *J. Biomed.Sci., 2018, Vol. 25, no. 1, pp. 1-18.*
8. Capp J.P. Cancer stem cells: From historical roots to a new perspective. *J. Oncol., 2019, Vol. 2019, 5189232.* doi: 10.1155/2019/5189232.
9. Coffelt S.B., Marini F.C., Watson K., Zwezdaryk K.J., Dembinski J.L. The pro-inflammatory peptide LL-37 promotes ovarian tumor progression through recruitment of multipotent mesenchymal stromal cells. *Proc. Natl Acad. Sci., 2009, Vol. 106, no. 10, pp. 3806-3811.*
10. Cooley S., Miller J.S. Clinical trials of NK cells for cancer. In: Natural Killer Cells, 2010, pp. 555-570.
11. Desai A., Yan Y., Gerson S.L. Concise Reviews: Cancer Stem Cell Targeted Therapies: Toward Clinical Success. *Stem Cells Transl. Med., 2019, Vol. 8, no. 1, pp. 75-81.*
12. Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D. The Three Es of Cancer Immunoediting. *Annu. Rev. Immunol., 2004, Vol. 22, pp. 329-360.*
13. Guo B., Oliver T.G. Partners in Crime: Neutrophil-CTC Collusion in Metastasis. *Trends Immunol., 2019, Vol. 40, no. 7, pp. 556-559.*
14. He H.Q., Ye R.D. The formyl peptide receptors: diversity of ligands and mechanism for recognition. *Molecules, 2017, Vol. 22, no. 3, 455.* doi: 10.3390/molecules22030455.
15. Heeke S., Mograbi B., Alix-Panabières C., Hofman P. Never travel alone: the crosstalk of circulating tumor cells and the blood microenvironment. *Cells, 2019, Vol. 8, no. 7, 714.* doi: 10.3390/cells8070714.
16. Huang, Z.L., Liu S., Wang G.N., Zheng S.H., Ding S.R., Tao Y.L., Chen C., Liu S.R., Yang X., Chang H., Wang X.H., Xia Y.F. The prognostic significance of PD-L1 and PD-1 expression in patients with nasopharyngeal carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell Int., 2019, Vol. 19, 141.* doi: 10.1186/s12935-019-0863-5.
17. Ito S., Masuda T., Noda M., Hu Q., Shimizu D., Kuroda Y., Eguchi H., Tobo T., Utsunomiya T., Mimori K. Prognostic Significance of PD-1, PD-L1 and CD8 Gene Expression Levels in Gastric Cancer. *Oncology, 2020, Vol. 98, no. 7, pp. 501-511.*
18. Iwayama Y., Tsuruma T., Mizuguchi T., Furuhata T., Toyota N., Matsumura M., Torigoe T., Sato N., Hirata K. Prognostic value of HLA class I expression in patients with colorectal cancer. *World J. Surg. Oncol., 2015, Vol. 13, no. 1, pp. 1-7.*
19. Kim R., Cancer immunoediting: from immune surveillance to immune escape. *Cancer Immunother., 2007, pp. 9-27.*
20. Krijgsman D., Hokland M., Kuppen P.J.K. The role of natural killer T cells in cancer—a phenotypical and functional approach. *Front. Immunol., 2018, Vol. 9, 367.* doi: 10.3389/fimmu.2018.00367.
21. Kuşoğlu A., Avcı Ç. B. Cancer stem cells: A brief review of the current status. *Gene, 2019, Vol. 681, pp. 80-85.*
22. Leblanc R., Peyruchaud O. Metastasis: new functional implications of platelets and megakaryocytes. *Blood, 2016, Vol. 128, no. 1, pp. 24-31.*
23. Leone K., Poggiana C., Zamarchi R. The interplay between circulating tumor cells and the immune system: from immune escape to cancer immunotherapy. *Diagnostics, 2018, Vol. 8, no. 3, 59.* doi: 10.3390/diagnostics8030059.
24. Lin A., Yan W.H. Human leukocyte antigen-G (HLA-G) expression in cancers: roles in immune evasion, metastasis and target for therapy. *Mol. Med., 2015, Vol. 21, no. 1, pp. 782-791.*
25. Mollinedo F. Neutrophil degranulation, plasticity, and cancer metastasis. *Trends Immunol., 2019, Vol. 40, no. 3, pp. 228-242.*
26. Pan Q., Li Q., Liu S., Ning N., Zhang X., Xu Y. Concise review: targeting cancer stem cells using immunologic approaches. *Stem Cells, 2015, Vol. 33, no. 7, pp. 2085-2092.*
27. Pang R., Law W.L., Chu A.C.Y., Poon J.T., Lam C.S.C., Chow A.K.M., Ng L., Cheung L.W.H., Lan X.R., Lan H.Y., Tan V.P.Y., Yau T.C., Poon R.T., Wong B.C.Y. A subpopulation of $CD26^+$ cancer stem cells with metastatic capacity in human colorectal cancer. *Cell Stem Cell, 2010, Vol. 6, no. 6, pp. 603-615.*
28. Phi L.T.H., Sari I.N., Yang Y.G., Lee S.H., Jun N., Kim K.S., Lee Y.K., Kwon Y.H. Cancer stem cells (CSCs) in drug resistance and their therapeutic implications in cancer treatment. *Stem Cells Int., 2018, Vol. 2018, 5416923.* doi: 10.1155/2018/5416923.
29. Saunders M., Iveson T. Management of advanced colorectal cancer: state of the art. *Br. J. Cancer, 2006, Vol. 95, no. 2, pp. 131-138.*
30. Shibata M., Hoque M.O. Targeting Cancer Stem Cells: A Strategy for Effective Eradication of Cancer. *Cancers, 2019, Vol. 11, no. 5, 732. doi: 10.3390/cancers11050732.*
31. Spillane J.B., Henderson M.A. Cancer stem cells: a review. *ANZ J. Surg., 2007, Vol. 77, no. 6, pp. 464-468.*

32. Steinert G., Schölch S., Niemietz T., Iwata N., García S.A., Behrens B., Voigt A., Kloor M., Benner A., Bork U., Rahbari N.N., Büchler M.W., Stoecklein N.H., Weitz J., Koch M. Immune escape and survival mechanisms in circulating tumor cells of colorectal cancer. *Cancer Res., 2014, Vol. 74, no. 6, pp. 1694-1704.*

33. Vrankar M., Kern I., Stanic K. Prognostic value of PD-L1 expression in patients with unresectable stage III non-small cell lung cancer treated with chemoradiotherapy. *Radiation Oncol., 2020, Vol. 15, no. 1, pp. 1-12.*

34. Walcher L., Kistenmacher A.K., Suo H., Kitte R. Cancer Stem Cells – Origins and Biomarkers: Perspectives for Targeted Personalized Therapies. *Front. Immunol., 2020, Vol. 11, 1280.* doi: 10.3389/fimmu.2020.01280.

35. Wang X., Sun Q., Liu Q., Wang C., Yao R., Wang Y. CTC immune escape mediated by PD-L1. *Med. Hypotheses, 2016, Vol. 93, pp. 138-139.*

36. Zahran A.M., Rayan A., Fakhry H., Attia A.M., Ashmawy A.M., Soliman A., Elkady A., Hetta H.F. Pretreatment detection of circulating and tissue $CD133^+$ $CD44^+$ cancer stem cells as a prognostic factor affecting the outcomes in Egyptian patients with colorectal cancer. *Cancer Manag. Res., 2019, Vol. 11, pp. 1237-1248.*

37. Zeuner A., Todaro M., Stassi G., De Maria R. Colorectal cancer stem cells: from the crypt to the clinic. *Cell Stem Cell, 2014, Vol. 15, no. 6, pp. 692-705.*

38. Zhang Y., Kang S., Shen J., He J., Jiang L. Prognostic significance of programmed cell death 1 (PD-1) or PD-1 ligand 1 (PD-L1) Expression in epithelial-originated cancer: a meta-analysis. *Medicine, 2015, Vol. 94, no. 6, e515.* doi:10.1097/MD.0000000000000515.

39. Zhang D., Tang D.G., Rycaj K. Cancer stem cells: regulation programs, immunological properties and immunotherapy. *Semin. Cancer Biol., 2018, Vol. 52, Pt 2, pp. 94-106.*

Авторы:

Златник Е.Ю. *– д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия*

Новикова И.А. *– к.м.н., заместитель генерального директора по науке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия*

Бондаренко Е.С. *– младший научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия*

Ульянова Е.П. *– научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия*

Ситковская А.О. *– научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, исполняющий обязанности заведующего лабораторией клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия*

Authors:

Zlatnik E.Yu., *PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Laboratory of Tumor Immunophenotyping, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Novikova A.A., *PhD (Medicine), Deputy Director for Research, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Bondarenko E.S., *Junior Research Associate, Laboratory of Tumor Immunophenotyping, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Ulyanova E.P., *Research Associate, Laboratory of Tumor Immunophenotyping, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Sitkovskaya A.O., *Research Associate, Acting Director, Laboratory of Cell Technologies, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation*

Поступила 30.04.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 30.04.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 135-146
© 2022, СПб РО РААКИ

Оригинальные статьи
Original articles

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 135-146
© 2022, SPb RAACI

ДИСБАЛАНС СУБПОПУЛЯЦИЙ NK-КЛЕТОК И ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Тугуз А.Р.[1], Шумилов Д.С.[1], Муженя Д.В.[2], Лысенков С.П.[2], Смольков И.В.[1], Татаркова Е.А.[1], Хацац Д.З.[3], Ашканова Т.М.[3]

[1] *ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*
[2] *ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*
[3] *ГБУЗ РА «Адыгейская республиканская клиническая больница», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*

Резюме. Экспериментальные исследования патогенетических механизмов развития и течения атеросклероза с участием медиаторов иммунной системы, субпопуляций натуральных киллерных клеток направлены на выявление новых маркеров донозологической диагностики атеросклероза, прогноза течения и мишеней для эффективной таргетной терапии сердечно-сосудистых заболеваний. Цель – исследовать роль медиаторов острого и хронического воспаления IL-17A, IL-1β, TNFα и IL-4, соотношение $CD56^{hi}CD16^{-}/CD56^{lo}CD16^{+}$ субпопуляций, натуральных киллеров в патогенезе коронарного атеросклероза с исходом в ишемическую болезнь сердца.

В работе использован комплексный подход, включающий иммунологические, молекулярно-генетические методы: выделение, культивирование мононуклеарных клеток периферической крови, постановку *in vitro* спонтанной и индуцированной продукции медиаторов иммунной системы, иммуноферментный анализ, цитотоксический тест, полимеразная цепная реакция, проточная цитометрия с моноклональными антителами (Beckman Coulter, США) к CD16, CD56 маркерам NK. Контингент обследованных лиц. В исследование включено 130 жителей Северного Кавказа, в том числе больные (n = 62) – пациенты кардиологического отделения Адыгейской республиканской клинической больницы с верифицированным диагнозом ишемической болезни сердца (ИБС) и контрольная группа (n = 68), представленная неродственными здоровыми донорами.

Экспериментально установлено, что носительство *511C* аллели гена *IL-1*β ($p < 0,0004$; OR = 4,67), *A197A* генотипа гена *IL-17A* ($p < 0,04$; OR = 3,88), *G308* SNP гена *TNF*α ($p < 0,01$; OR = 3,41) и *589T* варианта *IL-4* ($p < 0,04$; OR = 2,45) ассоциировано с гиперпродукцией медиаторов воспаления первой волны, повышающих риск развития ишемической болезни сердца. При атеросклерозе отмечено достоверное снижение спонтанной и индуцированной активности натуральных киллеров (NK), утилизирующих «пенистые клетки» – один из морфологических признаков атерогенеза. NK-активность мононуклеарных клеток периферической крови у больных ИБС по сравнению с контролем, достоверно снижена. У больных ИБС выявлен дисбаланс фенотипически и функционально различающихся $CD56^{hi}CD16^{-}/CD56^{lo}CD16^{+}$ субпопуляций NK с преобладанием $CD56^{hi}CD16^{-}$ фенотипа.

Адрес для переписки:
Шумилов Дмитрий Сергеевич
ФГОУ ВО «Адыгейский государственный университет»
385000, Россия, Республика Адыгея, г. Майкоп,
ул. Первомайская, 208.
Тел.: 8 (918) 420-85-88.
Факс: 8 (8772) 57-02-73.
E-mail: lab_genetic@mail.ru

Address for correspondence:
Shumilov Dmitriy S.
Adyghe State University
385000, Russian Federation, Republic of Adygeya, Maikop,
Pervomayskaya str., 208.
Phone: 7 (918) 420-85-88.
Fax: 7 (8772) 57-02-73.
E-mail: lab_genetic@mail.ru

Образец цитирования:
А.Р. Тугуз, Д.С. Шумилов, Д.В. Муженя, С.П. Лысенков, И.В. Смольков, Е.А. Татаркова, Д.З. Хацац, Т.М. Ашканова «Дисбаланс субпопуляций NK-клеток и полиморфизмы генов провоспалительных цитокинов в патогенезе атеросклероза» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 135-146. doi: 10.15789/1563-0625-ION-2361

© Тугуз А.Р. и соавт., 2022

For citation:
A.R. Tuguz, D.S. Shumilov, D.V. Muzhenya, S.P. Lysenkov, I.V. Smolkov, E.A. Tatarkova, D.Z. Khatsats, T.M. Ashkanova "Imbalance of NK cell subpopulations and polymorphisms of proinflammatory cytokine genes in the pathogenesis of atherosclerosis", Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 135-146. doi: 10.15789/1563-0625-ION-2361

DOI: 10.15789/1563-0625-ION-2361

Иммуновоспалительные механизмы развития коронарного атеросклероза ассоциированы с единичными нуклеотидными заменами – полиморфизмами в промоторных регионах генов медиаторов острого и хронического воспаления *IL-17A (G197A)*, *IL-1β (T511C)*, *TNFα (G308A)*. Генетически детерминированная оверэкспрессия IL-17A, IL-1β и TNFα, подтвержденная в экспериментах по оценке спонтанной и стимулированной продукции цитокинов у больных ИБС в сочетании со сниженной NK-активностью PBMC вследствие преобладания $CD56^{hi}CD16^{-}$ субпопуляции, характеризующейся высокой продукцией цитокинов, проявляется повышением амплитуды провоспалительного компонента, запускающего и длительно поддерживающего патофизиологические процессы развития атеросклероза.

Ключевые слова: атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, цитокины, натуральные киллеры, цитотоксичность, полиморфизмы генов цитокинов, IL-17A, IL-1β, IL-4, TNFα

IMBALANCE OF NK CELL SUBPOPULATIONS AND POLYMORPHISMS OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE GENES IN THE PATHOGENESIS OF ATHEROSCLEROSIS

Tuguz A.R.[a], Shumilov D.S.[a], Muzhenya D.V.[b], Lysenkov S.P.[b], Smolkov I.V.[a], Tatarkova E.A.[a], Khatsats D.Z.[c], Ashkanova T.M.[c]

[a] *Adyghe State University, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*
[b] *Maikop State Technological University, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*
[c] *Adyghe Republican Clinical Hospital, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*

Abstract. Understanding the pathogenetic mechanism of development and identifying trigger markers of the disease will significantly increase the efficiency of pre-nosological diagnosis and medical follow-up of patients. In this case, one should take into account the role of mutations in cytokine genes, which affect their biochemical activity and production level. The objective of the study was to investigate the role of mediators of acute and chronic inflammation (IL-17A, IL-1β, TNFα and IL-4), the ratio of natural killer cell subpopulations ($CD56^{hi}CD16^{-}$/$CD56^{lo}CD16^{+}$) in pathogenesis of coronary atherosclerosis resulting into coronary heart disease.

To analyze the results, an integrated approach was used, including molecular genetic methods such as polymerase chain reaction, typing of single-nucleotide substitutions in cytokine genes, isolation and cultivation of peripheral blood mononuclear cells, assessment of spontaneous and *in vitro*-induced production of immune system mediators, enzyme-linked immunosorbent assay, cytotoxic test, flow cytometry with monoclonal antibodies (Beckman Coulter, USA) to CD16, CD56 NK markers.

The study included 130 residents of the North Caucasus, including the patients (n = 62) treated at the Cardiology Department of the Adyghe Republican Clinical Hospital (ARCB) with a verified diagnosis of ischemic heart disease (IHD), and a control group (n = 68), represented by unrelated healthy donors.

Overexpression of cytokines in IHD patients was associated with distinct single nucleotide substitutions in certain genes. Studying a group of residents from the Republic of Adygeya, the authors experimentally established that harboring the *511C* allele of the *IL-1β* gene ($p < 0.0004$; OR = 4.67), A197A of the *IL-17A* gene genotype ($p < 0.04$; OR = 3.88), *G308* SNP of *TNFα* gene ($p < 0.01$; OR = 3.41), and *589T* variant of *IL-4* gene ($p < 0.04$; OR = 2.45) are associated with hyperproduction of the first-wave inflammatory mediators that increase the risk of developing ischemic heart disease. In atherosclerosis and associated cardiovascular diseases, we have noted a significant decrease in spontaneous and induced activity of natural killer cells involved in the utilization of "foamy cells". The NK activity of peripheral blood mononuclear cell in patients with coronary heart disease is significantly reduced. In the IHD patients, an imbalance of phenotypically and functionally different $CD56^{hi}CD16^{-}$/$CD56^{lo}CD16^{+}$ NK subpopulations with a predominance of $CD56^{hi}CD16^{-}$ phenotype were revealed. Conclusions: Immuno-inflammatory mechanisms of evolving coronary atherosclerosis are associated with single-nucleotide substitutions, i.e., polymorphisms in the promoter regions of the *IL-17A (G197A)*, *IL-1β (T511C)*, and *TNFα (G308A)*, the known mediators of acute and chronic inflammation.

Genetically determined overexpression of IL-17A, IL-1β, and TNFα, confirmed in experiments on evaluation of spontaneous and stimulated cytokine production in patients with CHD, together with reduced NK activity of PBMC, due to predominance of $CD56^{bri}CD16^{-}$, a subpopulation with high cytokine production, manifested by an increased pro-inflammatory component that triggers and provides long-term support to pathophysiological processes of atherosclerosis.

Keywords: atherosclerosis, coronary artery disease, cytokines, natural killer cells, cytotoxicity, cytokine gene polymorphisms, IL-17A, IL-1β, IL-4, TNFα

Введение

Теории атерогенеза, разработанные на протяжении двух веков и дополненные с позиции современных методов, тем не менее, не дают целостного представления о триггерных факторах развития и прогрессирования атеросклероза. Классическая холестериновая, иммунновоспалительная, биохимическая и современная сульфатная теории атерогенеза связывают пусковые патогенетические механизмы с биохимическими и морфологическими маркерами эндотелиальной дисфункции, вызванной повышением уровня глюкозы, молекул адгезии, образованием холестериновых бляшек, изменением гемодинамики в сосудах разного калибра, дисбалансом сульфат-анионов и т.д. Генетическая теория акцентирует внимание на ведущей роли «генов-кандидатов», запускающих и длительно поддерживающих прогредиентное течение атеросклероза, но не всегда достоверно ассоциированных с риском развития кардиоваскулярной патологии: ИБС, ишемического инсульта мозга (ИИМ) и др. нозологий. При отсутствии единых представлений о триггерных механизмах развития, тем не менее, все теории атерогенеза признают неоспоримые морфологические признаки – образование пенистых клеток и отложение кристаллов холестерина в интиме сосуда. Поэтому, согласно утверждениям одного из последних отчетов ВОЗ (2 июня 2018), холестерин «является ключевым компонентом в развитии атеросклероза» и в сочетании с показателями уровней липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), используется в качестве основного маркера повышенного риска развития и прогноза течения ССЗ практически во всех странах [7, 10, 12, 14, 15, 17].

Однако вопреки широко распространенному мнению, международная группа врачей (17 кардиологов из США, Швеции, Великобритании, Италии, Ирландии, Франции, Японии и других стран) по результатам обработки данных 1,3 миллиона пациентов (обзор опубликован в Expert Review of Clinical Pharmacology), опровергает полувековое утверждение об облигатной роли холестерина, ЛПНП (так называемого, «плохого холестерина») в атерогенезе и ССЗ [14].

Поэтому новый подход к пересмотру теории атерогенеза и ассоциированных с ним ССЗ предполагает акцентировать внимание на участии иммунной системы, имеющей по мнению Р. Вирхова «немаловажное значение в организме». Однако триггерная роль медиаторов иммунной системы – цитокинов (интерлейкинов) и их рецепторов в патогенетических механизмах повреждения эндотелия сосудов, поддержании каскада необратимых и прогредиентных процессах формирования атеросклеротических бляшек, не установлена. Во многом это обусловлено тем, что открытые в 60-80 годах XX века медиаторы воспаления в системном кровотоке не детектируются, так как транзиторная гиперцитокинемия регулируется ускоренным (в течении нескольких минут: T1/2 быстрый компонент IL-1β составляет всего 1,9 мин) и медленным клиренсом (T1/2 медленный компонент реализуется через 30-120 мин). Это подтверждает данные о том, что не только свободные, но и нековалентно связанные с мембранами клеток, растворимыми рецепторами-ловушками цитокины персистируют в системном кровотоке. Высвобождение медиаторов из комплексов может обуславливать локальную гиперцитокинемию и запускать внутриклеточные сигнальные пути с последующей вазоконстрикцией, активацией генов, вызывающих повреждение эндотелия сосудов, повышение экспрессии молекул адгезии, трансформацию миоцитов, моноцитов/макрофагов в пенистые клетки, инициировать процессы атеросклеротического повреждения сосудов [7, 9, 18].

Консолидация иммуновоспалительной, генетической и других теорий атерогенеза может быть основана на детерминированной оверэкспрессии генов цитокинов, обусловленной SNP промоторных регионов, влияющих на уровни продукции, биохимической активности медиаторов иммунной системы, экспрессии молекул адгезии, превращении моноцитов/макрофагов и гладкомышечных клеток в пенистые клетки с последующим отложением кристаллов холестерина в интиме сосудов [2].

Известно, что медиаторы иммунной системы – провоспалительные цитокины активируют

синтез липидов и влияют на перераспределение холестерина в цитоплазматической мембране и внутри клетки. Стимулирующий дозозависимый эффект цитокинов на синтез этерифицированного холестерина (ЭХС) и триглицеридов (ТГ) в макрофагах (МФ) наблюдается после 24 ч преинкубации клеток с рекомбинантными TNFα и IL-1β [2].

Поэтому представляется целесообразным проанализировать иммуногенетические механизмы развития, прогрессирования атеросклероза и ассоциированных с ним ССЗ с участием медиаторов острого и хронического воспаления «первой волны» IL-17A, IL-1β, TNFα и NK.

Цель работы – исследовать роль медиаторов острого и хронического воспаления IL-17A, IL-1β, TNFα и IL-4, соотношение $CD56^{hi}CD16^{-}$/$CD56^{lo}CD16^{+}$ субпопуляций, натуральных киллеров в патогенезе коронарного атеросклероза с исходом в ишемическую болезнь сердца.

Материалы и методы

В исследование включено 130 жителей Республики Адыгея. Больные ИБС (n = 62) – пациенты кардиологического отделения Адыгейской республиканской клинической больницы. Диагнозы ИБС установлены с учетом характерных для данной категории лиц жалоб, анамнестических данных, биохимических и инструментальных методов обследования (электрокардиографии (ЭКГ); холтеровского мониторирования ЭКГ; нагрузочных проб: тредмил-тест и велоэргометрия; эхокардиоскопия (ЭХО КС)), в соответствии с национальными рекомендациями по диагностике и лечению ИБС. Стабильная стенокардия подтверждена результатами коронарной ангиографии (КАГ). Критерии диагностики ИБС – данные холтеровского мониторирования ЭКГ и нагрузочных проб: депрессия, элевация сегмента ST в двух или более смежных отведениях, инверсия зубца Т, появление патологических зубцов Q. По ЭХО КС – наличие зон гипокинеза, дисфункция папиллярных мышц, клапанов, наличие аневризм, нарушение систолической функции за счет зон локального гипокинеза миокарда. КАГ – наличие обструктивного поражения коронарных артерий в виде атеросклеротических бляшек, стенозирующих, либо окклюзирующих просвет коронарных артерий.

Основания исключения пациентов из исследования: острые воспалительные заболевания, обострение хронических воспалительных заболеваний, активные заболевания печени, почечная недостаточность, онкологические заболевания. У больных диагностированы – стабильная стенокардия напряжения: II, III и IV функциональных классов (ФК); хроническая сердечная недостаточность (ХСН): I, II, III и IV ФК.

Группа контроля представлена неродственными здоровыми донорами (n = 68), проживающими в Республике Адыгея, без наследственной отягощенности и клинических проявлений ССЗ, что подтверждено данными опроса (анкетирование), осмотра и обследования в условиях лечебно-профилактических учреждений Республики Адыгея.

В соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в РФ», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266, все исследования проведены с информированного согласия больных и доноров или законных представителей.

Геномная ДНК выделена из цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», Россия). Чистота образцов и концентрация ДНК (2 нг/мл) тестированы на спектрофотометре NanoDrop 2000c (Termo Scientific, США). Полиморфизмы генов *IL-17A* (*G197A*), *IL-1β* (C511T), *IL-4* (*C589T*) и *TNFα* (*G308A*) в образцах ДНК доноров и больных типированы ПЦР с использованием коммерческих тест-систем НПФ «Литех» (Россия) и электрофоретической детекцией результатов.

Выделение PBMC

Мононуклеарные клетки периферической крови (peripheral blood mononuclear cells – PBMC) выделены из стабилизированной гепарином (25 ед/мл) венозной крови на одноступенчатом градиенте фиколла (Histopaque, плотность 1,077, «ПанЭко», Москва) центрифугированием при 4 °C и 400 g в течение 30 минут. Лимфоидные клетки, образовавшие интерфазное кольцо, собраны пипеткой в пробирки и трехкратно отмыты в 10-кратном объеме среды RPMI (Gibco, США). После каждой отмывки клетки осаждены центрифугированием при 1000 об/мин и 4 °C, ресуспендированы в 1 мл среды, разведены рабочей культуральной средой (РКС) до концентрации $2\text{-}5 \times 10^6$ клеток/мл. Подсчет PBMC произведен в 25 больших квадратах камеры Горяева по формуле:

$$N = a \times 50 \times 100,$$

где: N – общее количество PBMC в 1 мл среды, а – количество PBMC в 25 больших квадратах камеры Горяева.

Средние уровни цитокинов в анализируемых триплетах определены в твердофазном сэндвич-ИФА с использованием коммерческих

тест-систем (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург, ООО «Протеиновый контур», Россия) на мультимодальном ридере CLARIOstar Plus (Германия) при длине волны 450 нм.

Постановка спонтанной и стимулированной продукции цитокинов

При исследовании спонтанной и стимулированной продукции цитокинов, интактные РВМС в концентрации 2-5 × 10^6 кл/мл в полной культуральной среде RPMI-1640 (с добавлением 10% эмбриональной сыворотки крови телят, 80 мкг/мл гентамицина), инкубированы в 24-луночных плоскодонных планшетах в течение 18 часов в CO_2 – инкубаторе («Sanyo», Япония) при 37 °С и 5% CO_2 и в присутствии 5 мкг/мл ФГА («ПанЭко», Москва).

Цитотоксический тест. В 96-луночные плоскодонные планшеты (Flow Laboratories) внесли по 100 мкл суспензии РВМС в концентрации от 5 × 10^5 до 2 × 10^6 на 1 мл рабочей культуральной среде (РКС) и по 100 мкл суспензии клеток–мишеней (К-562) с концентрацией от 2,5 × 10^4 до 4 × 10^5 на 1 мл РКС. Соотношения эффекторов (РВМС) и клеток-мишеней (К-562) составляли 20:1; 10:1; 5:1; 2,5:1; 1:1. В контрольных лунках, содержащих только эффекторы или мишени в 100 мкл РКС добавлено по 100мкл культуральной среды. Варианты исследований тестированы в триплетах. Через 18-24 часов инкубации в атмосфере 5% CO_2 и 100 % влажности при 37 °С, во все лунки планшеты добавлено по 20 мкл рабочего раствора МТТ (тетразолиевый краситель, «ПанЭко») в концентрации 5 мг/мл. После 3-4 часовой инкубации в CO_2-инкубаторе при тех же условиях, планшеты отцентрифугированы при 1500 об/мин (5 мин), супернатант удален и в каждую лунку добавлено по 150 мкл DMSO (диметилсульфоксид, «ПанЭко»). Через 30 мин инкубации при 25 °С, после полного растворения кристаллов формазана измерена оптическая плотность (ОП) содержимого лунок на мультилуночном спектрофотометре (Microplate Reader, BioRad, США) при длине волны 540 нм. Цитотоксичность выражена цитотоксическим индексом (ЦИ) в процентах:

$$ЦИ(\%) = \left(\frac{1 - (ОПэ + м - ОПэ)}{ОПм}\right) - 100,$$

где: ОПэ+м – значение оптической плотности в опытных сериях; ОПэ – оптическая плотность в лунках с эффекторами; ОПм – оптическая плотность в лунках с мишенями.

Типирование субпопуляций NK

Иммунофенотипирование субпопуляций NK проводили с использованием метода проточной цитометрии на цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США) с моноклональными антителами к CD16, CD56 (Beckman Coulter, США).

Статистическая обработка данных

Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам генов проверены на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью критерия χ^2 (хи – квадрат). Описательная статистика групп представлена в формате: значения медианы (Me), 25-го и 75-го квартилей ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$). Частота генотипа и аллеля определена долей, отнесенной к общему количеству генотипов (или аллелей) в исследуемой группе и выражены в долях единицы. Достоверность различий концентраций цитокинов в образцах сывороток, культуральной среде РВМС доноров и больных определены с использованием пакета программ SPSS Statistics 17.0, параметрического критерия Стьюдента (t) при $p \le 0,05$.

Результаты

Для экспериментального подтверждения участия медиаторов воспаления в атерогенезе проанализированы уровни цитокинов в образцах сывороток, супернатантов интактных и стимулированных *in vitro* ФГА РВМС больных ИБС (табл. 1).

Несмотря на утверждения о прогностической значимости сывороточных концентраций цитокинов, тестируемых в узком диапазоне значений (0-50 пг/мл), в 75% образцах сывороток обследованных больных ИБС и здоровых жителей РА, про- и противовоспалительные цитокины IL-17A, IL-1β, TNFα и IL-4 не детектируются (Me = 0), у 25% обнаруживаются в следовых количествах (2-10 пг/мл), не превышающих нижней границы чувствительности метода (табл. 1).

Более информативные уровни спонтанной продукции IL-17A, IL-1β, TNFα у больных с ИБС получены при сравнительном анализе концентраций медиаторов воспаления в супернатантах интактных РВМС больных и доноров: IL-17A (соответственно 65,85±15,89 пг/мл и 7,95±5,24 пг/мл; t = 3,46, p < 0,01); IL-1β (65,0±22,19 пг/мл и 10,88±3,86 пг/мл; t = 2,40; p < 0,01); TNFα – (435,63±77,14 пг/мл и 31,56±13,71 пг/мл; t = 5,16; p < 0,01).

При стимуляции *in vitro* ФГА РВМС больных продуцируют статистически значимо также более высокие концентрации IL-17A (соответственно, 107,8±8,2 пг/мл и 84,09±12,96 пг/мл; t = 6,4; p_1 = 0,000001), IL-1β (соответственно, 91,46±17,55 пг/мл и 24,27±6,85 пг/мл; t = 3,57; p < 0,01) и TNFα (672,22±30,69 пг/мл и 406,41±46,38 пг/мл; t = 4,78; p < 0,01) (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. СЫВОРОТОЧНЫЕ УРОВНИ, СПОНТАННАЯ И СТИМУЛИРОВАННАЯ *IN VITRO* ПРОДУКЦИЯ IL-17A, IL-1β И TNFα В ГРУППАХ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ ИБС

TABLE 1. SERUM LEVELS, SPONTANEOUS AND STIMULATED *IN VITRO* PRODUCTION OF IL-17A, IL-1β, AND TNFα IN GROUPS OF DONORS AND SUFFERERS OF CHD

Биологические среды Biological media	**Концентрации цитокинов, пг/мл и n × 10^{-9} мм/мл** Cytokine concentrations, pg/ml and n × 10^{-9} mM/ml						**t; p**
	Больные Patients			**Доноры** Donors			
	M±m, пг/мл M±m, pg/ml	**Me**	**n × 10^{-9} мм/мл** n × 10^{-9} mM/ml	**M±m, пг/мл** M±m, pg/ml	**Me**	**n × 10^{-9} мм/мл** n × 10^{-9} mM/ml	
IL-17A	**n = 20**			**n = 32**			
Сыворотка Serum	0,91±0,91	0,00	0,03	4,88±2,61	0	0,14	$t_1 = 1.42$; $p_1 < 0,05$
PBMC	65,85±15,89	85,5	1,88	2,95±1,26	0	0,27	$t_1 = 0,5$; $p_1 > 0,05$
PBMC + ФГА PBMC + PHA	107,8±8,2	103,5	3,08	84,09±12,96	91	2,4	$t_1 = 6,4$; $p_1 = 0,000001$
t, p	$t_3 = 4,08$; $p_3 = 0,0007$ $t_4 = 12,96$; $p_4 = 0,0000001$			$t_3 = 0,67$; $p_3 > 0,05$ $t_4 = 5,99$; $p_4 = 0,0000001$			
IL-1β	**n = 20**			**n = 32**			
Сыворотка Serum	1,05±0,48	0,56	0,06	2,3±1,5	0,1	0,13	$t_1 = 0,38$; $p_1 < 0,05$
PBMC	65,00±22,19	27,31	3,82	11,95±2,87	5,9	0,7	$t_1 = 8,78$; $p_1 < 0,000001$
PBMC + ФГА PBMC + PHA	91,46±17,55	101	5,38	30,60±4,95	33,84	1,8	$t_1 = 2,68$; $p_1 < 0,01$
t, p	$t_3 = 2,88$; $p_3 = 0,009$ $t_4 = 5,15$; $p_4 = 0,00004$			$t_3 = 2,98$; $p_3 = 0,004$ $t_4 = 5,47$; $p_4 = 0,000002$			
TNFα	**n = 20**			**n = 32**			
Сыворотка Serum	0,10±0,06	0,00	0,0001	6,31±0,70	6,44	0,12	$t_1 = 8,84$; $p_1 > 0,0000001$
PBMC	435,63±77,14	356,3	8,38	36,71±7,20	24,75	0,7	$t_1 = 5,15$; $p_1 = 0,00001$
PBMC + ФГА PBMC + PHA	672,22±30,69	698,5	12,93	140,01±36,33	329	6,54	$t_1 = 11,19$; $p_1 = 0,000001$
t, p	$t_3 = 5,65$; $p_3 = 0,00002$ $t_4 = 21,9$; $p_4 = 0,0000001$			$t_3 = 4,2$; $p_3 = 0,0001$ $t_4 = 3,68$; $p_4 = 0,0006$			
IL-4	**n = 20**			**n = 32**			
Сыворотка Serum	0,00±0,00	0,00	0,00	0,01±0,01	0,00	0,0005	$p^* > 0,05$
PBMC	0,20±0,17	0,00	0,01	0,16±0,12	0,00	0,03	$p^* > 0,05$
PBMC + ФГА PBMC + PHA	0,56±0,24	0,17	0,03	0,16±0,11	0,00	0,03	$p^* > 0,05$
t, p	$p_{2, 3, 4} > 0,05$			$p_{2, 3, 4} > 0,05$			

Примечание. M – средняя арифметическая; m – стандартная ошибка среднего; Me – медиана; p – уровень значимости t-критерия Стьюдента между: p_1 – донорами и больными; p_2 – PBMC и сывороткой; p_3 – PBMC + ФГА и сывороткой; p_4 – PBMC и PBMC + ФГА.

Note. M, arithmetic average; m, standard error of the mean; Me, median; p, significance value of Student's t-criterion between: p_1, donors and patients; p_2, PBMC and serum; p_3, PBMC + PHA and serum; p_4, PBMC and PBMC + PHA.

IL-4 у доноров и больных ИБС практически не детектируется ни в одном из исследуемых аналитов (образцах сывороток и супернатантов интактных и стимулированных *in vitro* PBMC), что подтверждает избирательное блокирование функциональных и резервных возможностей PBMC продуцировать один из важнейших регуляторных медиаторов иммунной системы. Снижение уровня IL-4 у пациентов с начальными атеросклеротическими изменениями коронарных сосудов также отмечено Дутовой С.В. и соавт. (2018) [18].

Медиаторы хронического (IL-17A), острого (IL-1β) воспаления, а также основного провоспалительного TNFα и регуляторного IL-4, по мнению ряда авторов, участвуют в повреждении интимы сосудов, трансформации базовой воспалительной реакции, развитии и прогрессивном течении атеросклероза [1, 5, 11, 13, 16]. Ассоциация типированных полиморфизмов промоторных регионов генов *IL-17A* (*G197A*, rs2275913), *IL-1β* (*T511C*, rs16944), *TNFα* (*G308A*, rs1800629) и *IL-4* (*C589T*, rs2243250) с гиперпродукцией цитокинов подтверждена данными, представленными в таблице 2.

ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ, *G197A, T511C, G308A, C589T*, SNP ГЕНОВ *IL-17A, IL-1β, TNFα* И *IL-4* В ГРУППАХ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ ИБС

TABLE 2. DISTRIBUTION OF *G197A, T511C, G308A, C589T*, SNP GENES *IL-17A, IL-1β, TNFα* AND *IL-4* IN GROUPS OF DONORS AND IHD PATIENTS

Ген, SNP Gene, SNP	Больные Patients	Доноры Donors	P	OR (95% CI)	
				Знач. Value	95% CI
IL-17A	**n = 62**	**n = 68**			
G197G	0,259	0,526	0,04*	0,32	0,11-0,92
G197A	0,370	0,342		1,13	0,40-3,17
A197A	0,370	0,132		3,88	1,14-13,19
G197	0,444	0,697	0,004*	0,35	0,17-0,72
197A	0,556	0,303		2,88	1,39-5,96
IL-1β	**n = 62**	**n = 68**			
T511T	0,269	0,774	0,0007*	0,11	0,03-0,36
T511C	0,577	0,161		7,09	2,07-24,34
C511C	0,154	0,065		2,64	0,44-15,72
T511	0,558	0,855	0,0004*	0,21	0,09-0,52
511C	0,442	0,145		4,67	1,91-11,42
TNFα	**n = 62**	**n = 68**			
G308G	0,696	0,400	0,05*	3,43	1,04-11,33
G308A	0,304	0,440		0,56	0,17-1,83
A308A	0,000	0,160		0,10	0,01-2,00
G308	0,848	0,620	0,01*	3,41	1,27-9,16
308A	0,152	0,380		0,29	0,11-0,79
IL-4	**n = 62**	**n = 68**			
C589C	0,308	0,645	0,04*	0,24	0,08-0,74
C589T	0,692	0,355		4,09	1,35-12,43
T589T	0,000	0,000		1,19	0,02-61,98
C589	0,654	0,823	0,04*	0,41	0,17-0,97
589T	0,346	0,177		2,45	1,03-5,84

Примечание. n – количество обследованных; p – уровень значимости; OR – отношение шансов; CI – доверительный интервал; * – статистически значимые различия по χ^2 ($p \leq 0,05$).

Note. n, number of people under study; p, significance value; OR, odds ratio; CI, confidence interval; *, statistically significant difference according to χ^2 ($p \leq 0.05$).

ТАБЛИЦА 3. УРОВНИ ПРОДУКЦИИ IL-17A, IL-1β И TNFα ИНТАКТНЫМИ И СТИМУЛИРОВАННЫМИ *IN VITRO* ФГА PBMC ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ ИБС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА

TABLE 3. PRODUCTION LEVELS OF IL-17A, IL-1β AND TNFα BY INTACT AND *IN VITRO* STIMULATED PHA PBMC AND NE DONORS AND IHD PATIENTS DEPENDING ON GENOTYPE

Биологические среды Biological media	**Группы** Groups	**Концентрации, пг/мл** Concentration, pg/ml			t_1	t_2	t_3
		M±m, пг/мл M±m, pg/ml	**M±m, пг/мл** M±m, pg/ml	**M±m, пг/мл** M±m, pg/ml			
IL-17A		GG	GA	AA			
Сыворотка крови Blood serum	**больные**‡ patients	0,00	0,91±0,91	0,00	a, b, c – p > 0,05	a – p > 0,05	d, e – p > 0,05
	доноры# donors	0,00	15,35±8,76	–			
PBMC	**больные**‡ patients	16,38±4,10	86,63±1,46	101±1	a, b, c – p < 0,05*	a – p < 0,05*	d, e – p < 0,05*
	доноры# donors	0,00	7,95±5,24	–			
PBMC + ФГА PBMC + PHA	**больные**‡ patients	103,50±12,33	100,13±7,03	141,85±1,85	a, b, c – p < 0,05*	a – p < 0,05*	d, e – p < 0,05*
	доноры# donors	0,00	73,90±21,17	–			
Коэффициент корреляции для AA генотипа: r = 0,8-0,9, p = 0,01-0,05 Correlation coefficient for AA genotype: r = 0.8-0.9, p = 0.01-0.05							
IL-1β		TT	TC	CC			
Сыворотка крови Blood serum	**больные**‡ patients	0,74±0,04	1,93±0,71	0,02±0,02	a, b, c – p > 0,05	a, b, c – p > 0,05	d, e, f – p > 0,05
	доноры# donors	0,06±0,07	0,09±0,07	0,00			
PBMC	**больные**‡ patients	27,15±0,15	116,50±13,15	59,18±12,94	a, b, c – p < 0,05*	a, b, c – p < 0,05*	d, e, f – p < 0,05*
	доноры# donors	2,61±1,01	19,88±6,23	0,41±0,34			
PBMC + ФГА PBMC + PHA	**больные**‡ patients	100,5±0,5	104,98±21,40	59,66±11,35	a, b, c – p < 0,05*	a, b, c – p < 0,05*	d, e, f – p < 0,05*
	доноры# donors	13,99±10,62	34,57±12,01	24,26±8,38			
Коэффициент корреляции для TC генотипа: r = 0,86-0,9, p = 0,01-0,05 Correlation coefficient for TC genotype: r = 0.86-0.9, p = 0.01-0.05							
TNFα		GG	GA	AA			
Сыворотка крови Blood serum	**больные**‡ patients	0,15±0,10	1,62±0,63	0,00±0,00	a, b, c – p > 0,05	a, b, c – p > 0,05	d, e, f – p > 0,05
	доноры# donors	1,68±2,38	1,37±1,06	0,00±0,00			
PBMC	**больные**‡ patients	436,86±82,20	194,13±1,24	0,00±0,00	a, b, c – p < 0,05*	a, b, c – p < 0,05*	d, e, f – p < 0,01*
	доноры# donors	8,12±5,51	2,35±1,92	6,87±5,61			
PBMC + ФГА PBMC + PHA	**больные**‡ patients	613,52±76,60	149,5±0,5	0,00±0,00	a, b, c – p < 0,05*	a, b, c – p < 0,05*	d, e, f – p < 0,01*
	доноры# donors	615,00±1,41	145,75±15,00	171,52±11,00			
Коэффициент корреляции для GG генотипа: r = 0,88-0,90, p = 0,01-0,05 Correlation coefficient for GG genotype: r = 0.88-0.90, p = 0.01-0.05							

Примечание. ‡ – n = 20; # – n = 32; M – средняя арифметическая; m – стандартная ошибка среднего; * p ≤ 0,05; t – критерий Стьюдента; t_1 – сравнение генотипов больных: (IL-17A и TNFα) a1 – GG/GA, b2 – GG/AA, c3 – GA/AA, (IL-1β) a1 – TT/TC, b2 – TT/CC, c3 – TA/CC; t_2 – сравнение генотипов доноров: a1 (IL-1β) – TT/TA, b2 – TT/AA, c3 – TA/AA; r – интервал коэффициента корреляции между генотипами AA (IL-17A), TC (IL-1β), GG (TNFα) и продукцией PBMC, PBMC + ФГА.

Note. ‡, n = 20; #, n = 32; M, arithmetic average; m, standard error of the mean; * p ≤ 0.05; p, Student's t-criterion; t_1, comparison of patients' genotypes: (IL-17A и TNFα) a1 – GG/GA, b2 – GG/AA, c3 – GA/AA, (IL-1β) a1 – TT/TC, b2 – TT/CC, c3 – TA/CC; t_2, comparison of donors' genotypes: a1(IL-1β) – TT/TA, b2 – TT/AA, c3 – TA/AA; r, correlation coefficient interval between genotypes AA (IL-17A), TC (IL-1β), GG (TNFα) and production of PBMC, PBMC + PHA.

ТАБЛИЦА 4. СПОНТАННАЯ И СТИМУЛИРОВАННАЯ NK-АКТИВНОСТЬ PBMC В НОРМЕ И ПРИ ИБС

TABLE 4. SPONTANEOUS AND STIMULATED NK ACTIVITY OF PMBC AND NE IN THE NORMAL CONDITION AND IN CASE OF IHD

Соотношение Км/Кэф* Km/Keff Ratio	**Цитотоксический индекс (%)** Cytotoxic efficiency (%)		
	Больные PBMC Patients PBMC (n = 15)	**Доноры PBMC** Donors PBMC (n = 19)	**t-критерий Стьюдента; p** t-Student's criterion; p
	M±m	**M±m**	
СП (1:1) SP (1:1)	31,06±2,99	41,60±2,68	t = 2,62; p = 0,01
СТ ФГА (1:1) ST PHA (1:1)	40,27±2,97	48,21±5,57	t = 1,26; p = 0,2
СП (1:5) SP (1:5)	36,41±3,04	57,30±5,87	t = 3,16; p = 0,003
СТ ФГА (1:5) ST PHA (1:5)	61,65±2,84	64,35±4,28	t = 0,53; p = 0,6
СП (1:10) SP (1:10)	29,61±4,77	55,57±5,26	t = 3,66; p = 0,0009
СТ ФГА (1:10) ST PHA (1:10)	71,89±4,47	62,28±4,58	t = 1,50; p = 0,14

Примечание. СП – спонтанная NK-активность; СТ – стимулированная ФГА NK-активность; M – средняя арифметическая; m – стандартная ошибка среднего; * – соотношение клеток мишеней к клеткам эффекторам.

Note. SP, spontaneous NK activity; ST, stimulated PHA NK activity; M, arithmetic average; m, standard error of the mean.

В рамках экспериментального исследования установлено, что у носителей *511C* аллели гена *IL-1β* ($p < 0,0004$; OR = 4,67), A197A генотипа гена *IL-17A* ($p < 0,04$; OR = 3,88), *G308* SNP гена *TNFα* ($p < 0,01$; OR = 3,41) и *589T* варианта *IL-4* ($p < 0,04$; OR = 2,45) риск развития ИБС достоверно повышен (табл. 2). Участие SNP генов про- и противовоспалительных цитокинов *IL-17A* (*G197A*), *IL-1β* (*T511C*), *TNFα* (*G308A*) и *IL-4* (*C589T*) в развитии ИБС, может быть подтверждено анализом уровней спонтанной и стимулированной *in vitro* продукции атерогенных медиаторов острого и хронического воспаления.

На основании полученных данных (табл. 2) о влиянии однонуклеотидных замен в промоторных регионах генов на функциональную активность PBMC доноров и больных установлено, что мутантный A197A генотип гена *IL-17A* коррелирует ($r = 0,8-0,9$; $p = 0,01-0,05$) с более высокой продукцией медиатора. Аналогичные зависимости выявлены и для других медиаторов воспаления «первой волны» IL-1β и TNFα. Высокие уровни спонтанной и стимулированной продукции провоспалительного IL-1β в группе больных ИБС коррелируют с носительством T511C гетерозиготного генотипа ($r = 0,86-0,9$; $p = 0,01-0,05$), а TNFα – с *G308G* «диким» гомозиготным вариантом ($r = 0,88-0,9$; $p = 0,01-0,05$) (табл. 3).

Атерогенные эффекты PBMC проявляются не только гиперпродукцией цитокинов, но и снижением их NK-активности. Дисбаланс функций эффекторных клеток иммунной системы длительно поддерживает хроническое воспаление в интиме сосудов [3, 6, 8]. Участие NK в повреждении эндотелия коронарных и периферических сосудов предопределило исследование *in vitro* NK-активности PBMC в норме и при ИБС.

NK-активность PBMC у больных ИБС по сравнению с контролем достоверно снижена, что в определенной степени подтверждает их участие в атерогенезе (табл. 4). На основании экспериментальных данных можно утверждать, что при прогрессирующем атеросклерозе коронарных сосудов, спонтанная и индуцированная NK-активность PBMC у больных ИБС достоверно ниже ($p < 0,01$), чем у доноров. Механизм супрессии функциональной NK-активности PBMC не установлен, но выдвигаются предположения об усилении апоптоза натуральных киллерных клеток у больных ССЗ [3, 6, 8].

ТАБЛИЦА 5. СООТНОШЕНИЕ СУБПОПУЛЯЦИЙ NK У БОЛЬНЫХ ИБС И ДОНОРОВ

TABLE 5. RATIO OF NK SUBPOPULATIONS IN IHD PATIENTS AND DONORS

Субпопуляции NK NK subpopulations	Больные Patients (n = 25)	Доноры Donors (n = 15)	t, p
	M±m (%)	M±m (%)	
$CD56^{hi}CD16^{-}$	3,48±0,43	0,87±0,20	t = 5,5; p = 0,000008
$CD56^{lo}CD16^{+}$	0,78±0,14	0,51±0,30	t = 0,82; p = 0,42
$CD56^{hi}CD16^{+}$	8,44±2,54	9,48±0,97	t = 1,07; p = 0,29

Примечание. M – средняя арифметическая; m – стандартная ошибка среднего; p – уровень значимости; t – критерий Стьюдента; % – процентное содержание от всех лимфоцитов.

Note. M, arithmetic mean; m, standard error of the mean; p, level of significance; t, Student's test; %, percentage of all lymphocytes.

Низкая NK-активность PBMC больных ССЗ подтверждена в пилотных исследованиях методом проточной цитометрии при анализе соотношения двух субпопуляций натуральных киллеров $CD56^{hi}CD16^{-}$/$CD56^{lo}CD16^{+}$, различающихся как уровнем продукции медиаторов, так и цитотоксической активностью (табл. 5) [3, 6, 8].

Обсуждение

Атеросклеротические поражения коронарных, цереброваскулярных и периферических сосудов приводят к развитию сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), от которых ежегодно умирает более 17,5 млн человек. Это самый высокий показатель смертности населения в мире. В связи с этим в XXI в. ВОЗ выбрала приоритетным направлением разработку стратегий по снижению заболеваемости и смертности населения от ССЗ путем эффективной первичной профилактики атеросклероза и других медицинских инноваций регуляцией уровня холестерина и на глобальном уровне.

Однако методы профилактики, лечения, прогнозирования течения атеросклероза и ассоциированных с ним ССЗ, основанные на антихолестериновой терапии, на протяжении многих десятилетий не приводят к их заметному снижению, более того имеют выраженную тенденцию к неуклонному росту заболеваемости и смертности населения многих стран.

Новый концептуальный подход к пересмотру теорий атерогенеза предполагает акцентировать внимание на ведущей роли иммунной системы с участием медиаторов острого и хронического воспаления, запускающих и длительно поддерживающих патогенетические механизмы в интиме сосудов [7]. Экспериментальными исследованиями последних лет подтверждено непосредственное участие цитокинов в нарушении проницаемости сосудов, трансформации макрофагов в пенистые клетки и нарушении их утилизации [1, 2, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 16, 18], однако при этом не удается обнаружить высокие сывороточные концентрации цитокинов при острых и хронических сосудистых нарушениях [1, 2, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 16, 18]. Таким образом триггерная роль медиаторов иммунной системы – цитокинов и их рецепторов в патогенетических механизмах повреждения эндотелия сосудов, поддержании каскада необратимых и прогредиентных процессов формирования атеросклеротических бляшек до настоящего времени не установлена. Но учитывая то, что подобно другим сигнальным молекулам, цитокины запускают патогенетические процессы и в дальнейшем не детектируются в системном кровотоке, мы исследовали функциональные и резервные возможности мононуклеарных клеток периферической крови к конститутивной гиперпродукции медиаторов воспаления первой волны IL-17, IL-1β, TNFα в зависимости от однонуклеотидных полиморфизмов в промоторных регионах соответствующих генов [1, 7, 9].

Лимфоидные клетки и, в частности NK, способны не только продуцировать цитокины, но и проявлять цитотоксические свойства: в норме NK утилизируют пенистые клетки, предотвращая тем самым выпадение кристаллов холестерина и формирование атеросклеротической бляшки (АБ). Снижение цитотоксической активности NK и накопление в интиме сосудов пенистых клеток, образующихся из моноцитов/макрофагов и миоцитов при участии медиаторов иммунной системы – провоспалительных цитокинов, является одним из ключевых этапов в развитии атеросклероза [3, 6, 8]. Оверэкспрессия медиа-

торов воспаления первой волны мононукларами периферической крови длительно поддерживает острое и хроническое воспаление в интиме коронарных сосудов, способствуя прогредиентному течению атеросклероза [1]. Снижение цитотоксической активности мононуклеаров периферической крови вследствие изменения соотношения субпопуляций NK в свою очередь усугубляет клинические проявления ССЗ [3, 6, 8].

Полученные экспериментальные данные подтверждают конститутивный дисбаланс фенотипически и функционально различающихся $CD56^{hi}CD16^{-}$/$CD56^{lo}CD16^{+}$ субпопуляций NK с преобладанием $CD56^{hi}CD16^{-}$ фенотипа у больных ИБС (табл. 5). Исследование цитокин-продуцирующей и натуральной киллерной активности PBMC в норме и у больных коронарным атеросклерозом с исходом в ИБС, может способствовать выявлению новых мишеней для тагетной терапии и эффективного лечения атеросклероза.

Заключение

Иммуновоспалительные механизмы развития коронарного атеросклероза ассоциированы с единичными нуклеотидными заменами – полиморфизмами в промоторных регионах генов медиаторов острого и хронического воспаления *IL-17A (G197A)*, *IL-1β (T511C)*, *TNFα (G308A)*. Генетически детерминированная оверэкспрессия IL-17A, IL-1β и TNFα, подтвержденная в экспериментах по оценке спонтанной и стимулированной продукции цитокинов у больных ИБС в сочетании со сниженной NK-активностью PBMC вследствие преобладания $CD56^{hi}CD16^{-}$ субпопуляции, характеризующейся высокой продукцией цитокинов, проявляется повышением амплитуды провоспалительного компонента (острого и хронического), возможно запускающего и длительно поддерживающего патофизиологические процессы развития атеросклероза.

Список литературы / References

1. Дутова С.В., Саранчина Ю.В., Карпова М.Р., Килина О.Ю., Польша Н.Г., Кулакова Т.С., Ханарин Н.В. Цитокины и атеросклероз – новые направления исследований // Бюллетень сибирской медицины, 2018. Т. 17, № 4. С. 199-207. [Dutova S.V., Saranchina Yu.V., Karpova M.R., Poland N.G., Kulakova T.S., Khanarin N.V. Cytokines and Atherosclerosis – New Research Areas. *Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine, 2018, Vol. 17, no. 4, pp. 199-207.* (In Russ.)]

2. Душкин М.И. Макрофаги и атеросклероз: патофизиологические и терапевтические аспекты // Бюллетень СО РАМН, 2006. № 2 (120). С. 47-55. [Dushkin M.I. Macrophage and atherosclerosis: pathophysiological and therapeutic aspects. *Byulleten SO RAMN = Bulletin SB RAMS, 2006, no. 2 (120), pp. 47-55.* (In Russ.)]

3. Backteman K., Ernerudh J., Jonasson L. Natural killer (NK) cell deficit in coronary artery disease: no aberrations in phenotype but sustained reduction of NK cells is associated with low-grade inflammation. *Clin. Exp. Immunol., 2014, Vol. 175, no. 1, pp. 104-112.*

4. Dimmeler S., Rippmann V., Weiland U., Haendeler J., Zeiher A.M. Angiotensin II induces apoptosis of human endothelial cells. Protective effect of nitric oxide. *Circ. Res., 1997, Vol. 81, no. 6, pp. 970-976.*

5. Fatkhullina A.R., Peshkova I.O., Koltsova E.K. The role of cytokines in the development of atherosclerosis. *Biochemistry, 2016, Vol. 8, no. 11, pp. 1358-1370.*

6. Hak Ł., Myśliwska J., Więckiewicz J., Szyndler K., Trzonkowski P., Siebert J., Myśliwski A. NK cell compartment in patients with coronary heart disease. *Immun. Ageing, 2007, Vol. 4, no. 1, pp. 1-8.*

7. Jongstra-Bilen J., Haidari M., Zhu S.N., Chen M., Guha D., Cybulsky M.I. Low-grade chronic inflammation in regions of the normal mouse arterial intima predisposed to atherosclerosis. *J. Exp. Med., 2006, Vol. 203, no. 9, pp. 2073-2083.*

8. Jonasson L., Backteman K., Ernerudh J. Loss of natural killer cell activity in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis, 2005, Vol. 183, no. 2, pp. 316-321.*

9. Libby P., Ridker P.M., Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation, Vol. 105, no. 9, pp. 1135-1143.*

10. Litvinov D.Y., Savushkin E.V., Dergunov A.D. Intracellular and Plasma Membrane Events in Cholesterol Transport and Homeostasis. *J. Lipids, 2018, Vol. 2018, 3965054.* doi: 10.1155/2018/3965054.

11. Moss J.W.E., Ramji D.P. Cytokines: roles in atherosclerosis disease progression and potential therapeutic targets. *Future Med. Chem., 2016, Vol. 8, no. 11, pp. 1317-1330.*

12. Rafieian-Kopaei M., Setorki M., Doudi M., Baradaran A., Nasri H. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int. J. Prev. Med., 2014, Vol. 5, no. 8, pp. 927-946.*

13. Ramji D.P., Davies T.S. Cytokines in atherosclerosis: Key players in all stages of disease and promising therapeutic targets. *Cytokine Growth Factor Rev., 2015, Vol. 26, no. 6, pp. 673-685.*

14. Ravnskov U., Navarese E.P., Robinson J.G., Kowalewski M., Kolodziejczak M., Andreotti F., Bliden K., Tantry U., Kubica J., Raggi P., Gurbel P.A.. LDL-C does not cause cardiovascular disease: a comprehensive review of the current literature. *Exp. Review Clin. Pharmacol., 2018, Vol. 11, no. 10, pp. 959-970.*

15. Seneff S., Davidson R.M., Lauritzen A., Samsel A., Wainwright G. A novel hypothesis for atherosclerosis as a cholesterol sulfate deficiency syndrome. *Theor. Biol. Med. Model., 2015, Vol. 12, 9.* doi: 10.1186/s12976-015-0006-1.

16. Shim A.L., Aksyonov A.A., Mitrokhin V.M., Lovchikova I.B., Konoplyannikov M.A., Konev A.V., Zotov A.S., Ovchinnikov R.S., Antova E., Mladenov M.I., Kamkin A. Serum interleukin-6: Association with circulating cytokine serum levels in patients with sinus arrhythmia and patients with coronary artery disease. *Cell. Immunol., 2016, Vol. 310, pp. 178-183.*

17. Veljkovic N., Zaric B., Djuric I., Obradovic M., Sudar-Milovanovic E., Radak D., Isenovic E.R. Genetic Markers for Coronary Artery Disease. *Medicina (Kaunas), 2018, Vol. 54, no. 3, 36.* doi: 10.3390/medicina54030036.

18. Wong B.W., Meredith A., Lin D., McManus B.M. The Biological Role of Inflammation in Atherosclerosis. *Can. J. Cardiol., 2012, Vol. 28, no. 6, pp. 631-641.*

Авторы:

Тугуз А.Р. *– д.б.н., заведующая иммуногенетической лабораторией, Научно-исследовательский институт комплексных проблем ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*

Шумилов Д.С. *– к.б.н., старший научный сотрудник отдела медико-биологических проблем, Научно-исследовательский институт комплексных проблем ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*

Муженя Д.В. *– к.б.н., доцент кафедры физиологии и общей патологии медицинского факультета ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*

Лысенков С.П. *– д.м.н., профессор кафедры физиологии и общей патологии медицинского факультета ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*

Смольков И.В. *– к.б.н., Научно-исследовательский институт комплексных проблем ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*

Татаркова Е.А. *– к.б.н., старший научный сотрудник отдела медико-биологических проблем, Научно-исследовательский институт комплексных проблем ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*

Хацац Д.З. *- врач-терапевт ГБУЗ РА «Адыгейская республиканская клиническая больница», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия.*

Ашканова Т.М. *– врач-кардиолог ГБУЗ РА «Адыгейская республиканская клиническая больница», г. Майкоп, Республика Адыгея, Россия*

Authors:

Tuguz A.R., *PhD, MD (Biology), Head, Immunogenetic Laboratory, Research Institute of Complex Problems, Adyghe State University, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*

Shumilov D.S., *PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Biomedical Problems, Research Institute of Complex Problems, Adyghe State University, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*

Muzhenya D.V., *PhD (Biology), Associate Professor, Department of Physiology and General Pathology, Faculty of Medicine, Maikop State Technological University, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*

Lysenkov S.P., *PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Physiology and General Pathology, Faculty of Medicine, Maykop State Technological University, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*

Smolkov I.V., *PhD (Biology), Research Institute of Complex Problems, Adyghe State University, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*

Tatarkova E.A., *PhD (Biology), Senior Research Associate, Department of Biomedical Problems, Research Institute of Complex Problems, Adyghe State University, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*

Khatsats D.Z., *Medical Practitioner, Adyghe Republican Clinical Hospital, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*

Ashkanova T.M., *Cardiologist, Adyghe Republican Clinical Hospital, Maikop, Republic of Adygeya, Russian Federation*

Поступила 25.05.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 25.05.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 147-156
© 2022, СПб РО РААКИ

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 147-156
© 2022, SPb RAACI

ТРАНСФОРМИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ РОСТА TGF-β1, TGF-β2 И TGF-β3 В ТКАНИ НОСОВЫХ ПОЛИПОВ ПРИ РАЗНЫХ ФЕНОТИПАХ ПОЛИПОЗНОГО РИНОСИНУСИТА

Савлевич Е.Л.[1], Зурочка А.В.[2, 3], Курбачева О.М.[4], Егоров В.И.[5], Гаганов Л.В.[5, 6], Любимова Е.В.[7]

[1] ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия
[2] ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия
[3] ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия
[4] ФГБУ «Государственный научный центр "Институт иммунологии"» ФМБА России, Москва, Россия
[5] ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва, Россия
[6] ГБУЗ «Городская клиническая больница № 51 Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия
[7] ООО «ЛОР клиника», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Полипозный риносинусит (ПРС) является гетерогенным заболеванием. Ранее нами была выявлена разница выраженности клинических проявлений, степени клеточной инфильтрации полипов, значений эозинофильно-нейтрофильного индекса, эффективности базовой терапии интраназальными глюкокортикостероидами и уровня разных воспалительных паттернов мРНК ряда цитокинов при разных фенотипах с изолированным ПРС, в сочетании с респираторной аллергией или с неаллергической бронхиальной астмой (нБА).

Цель исследования – изучить цитокины семейства трансформирующих факторов роста TGF-β в ткани носовых полипов при разных фенотипах полипозного риносинусита. 292 пациента с ПРС были разделены на 3 фенотипические группы: I группа – изолированный ПРС без сопутствующей БА и сенсибилизации к атопическим аллергенам. II группа – ПРС в сочетании с респираторной аллергией, где выделено 2 подгруппы. Группа 2а – ПРС в сочетании с аллергической БА (аБА) и аллергическим ринитом (АР). Группа 2б – пациенты с ПРС и АР без аБА. III группа – ПРС в сочетании с нБА. Контрольная группа – пациенты с гипертрофическим ринитом. Методом мультиплексного анализа выполнили исследование уровня белка TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3 в пг/мг в супернатантах гомогенизированной ткани удаленных при хирургическом лечении носовых полипов и задних концов нижних носовых раковин. Для стандартизации определяли содержание общего белка в супернатанте ткани с последующим перерасчетом содержания цитокинов на концентрацию белка 1 мг/мл.

Адрес для переписки:
*Савлевич Елена Леонидовна
ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации
121359, Россия, Москва,
ул. Маршала Тимошенко, 19, стр. 1А.
Тел.: 8 (985) 145-27-45.
E-mail: savllena@gmail.com*

Address for correspondence:
*Savlevich Elena L.
Central State Medical Academy of Department for Presidential Affairs of the Russian Federation
121359, Russian Federation, Moscow,
Marshal Timoshenko str., 19, bldg 1A.
Phone: 7 (985) 145-27-45.
E-mail: savllena@gmail.com*

Образец цитирования:
Е.Л. Савлевич, А.В. Зурочка, О.М. Курбачева, В.И. Егоров, Л.В. Гаганов, Е.В. Любимова «Трансформирующие факторы роста TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3 в ткани носовых полипов при разных фенотипах полипозного риносинусита» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 147-156. doi: 10.15789/1563-0625-TGF-2365

© Савлевич Е.Л. и соавт., 2022

For citation:
E.L. Savlevich, A.V. Zurochka, O.M. Kurbacheva, V.I. Egorov, L.E. Gaganov, E.V. Lyubimova "Transforming growth factors TGF-β1, TGF-β2 and TGF-β3 in the tissue of nasal polyps in different phenotypes of chronic rhinosinusitis with nasal polyps", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 147-156. doi: 10.15789/1563-0625-TGF-2365

DOI: 10.15789/1563-0625-TGF-2365

В контрольной группе наблюдались следовые концентрации всех 3-х ростковых факторов. Получена достоверная разница уровня белков исследованных цитокинов в зависимости от фенотипа ПРС. При изолированном ПРС уровень TGF-β1 и TGF-β2 был достоверно ниже всех остальных групп пациентов ПРС с коморбидной патологией. Количество TGF-β1 и TGF-β2 в группе 2а ПРС + аБА был значимо ниже, чем в группах ПРС + нБА и ПРС + АР. Количество цитокина TGF-β3 было максимальным в 3 группе ПРС + нБА по сравнению со всеми другими группами. При сочетании ПРС + АР уровень TGF-β3 был достоверно выше по сравнению с группой 1 у пациентов с изолированным ПРС и группой 2а ПРС + аБА.

Выводы:

1. Высокий уровень всех трех изоформ TGF-β у пациентов с ПРС по сравнению с контрольной группой свидетельствует о высоком потенциале слизистой оболочки ОНП к активному ремоделированию ткани с последующим образованием носовых полипов.

2. При разных клинических фенотипах полипозного риносинусита определяется разный механизм развития локального патологического процесса в зависимости от коморбидной патологии в виде БА или респираторной аллергии.

3. При изолированном ПРС выявлен минимальный уровень TGF-β1 и TGF-β2.

4. Наиболее высокий уровень TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3 определяется у больных ПРС в сочетании с неаллергической БА по сравнению с группами изолированного ПРС и при ПРС в сочетании с аБА.

5. Оценка уровней TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3 может служить дополнительным критерием дифференциации механизмов нарушения при локальном патологическом процессе в тканях у больных с сочетанной патологией при разных фенотипических проявлениях ПСР.

Ключевые слова: полипозный риносинусит, трансформирующие факторы роста TGF-β1, трансформирующие факторы роста TGF-β2, трансформирующие факторы роста TGF-β3, фенотипы, мультиплексный анализ, цитокины, бронхиальная астма, аллергический ринит, ремоделирование слизистой оболочки верхних дыхательных путей

TRANSFORMING GROWTH FACTORS TGF-β1, TGF-β2 AND TGF-β3 IN THE TISSUE OF NASAL POLYPS IN DIFFERENT PHENOTYPES OF CHRONIC RHINOSINUSITIS WITH NASAL POLYPS

Savlevich E.L.[a], Zurochka A.V.[b, c], Kurbacheva O.M.[d], Egorov V.I.[e], Gaganov L.E.[e, f], Lyubimova E.V.[g]

[a] *Central State Medical Academy of Department for Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation*

[b] *Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation*

[c] *South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation*

[d] *National Research Center – Institute of Immunology, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation*

[e] *M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russian Federation*

[f] *City Clinical Hospital No. 51, Moscow, Russian Federation*

[g] *LOR Clinics LLC, Ekaterinburg, Russian Federation*

Abstract. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSP) is a heterogenous disease. We have earlier detected differences in severity of clinical manifestations, cellular infiltration degree shown in nasal polyps, of eosinophil-to-neutrophil ratio, efficacy of intranasal glucocorticosteroid baseline therapy, and various inflammatory patterns for several cytokines on the mRNA expression level in different phenotypes with isolated CRSP cases, CRSP associated with respiratory allergy (RA), or non-allergic bronchial asthma.

The purpose of this work was to study the cytokines of TGF-β family in the tissues of nasal polyps in patients with different CRSP phenotypes. The research involved 292 patients suffering from CRSP divided into 3 phenotypic groups. Group I consisted of patients with isolated CRSP free of associated BA and/or sensitization to atopic allergens. Group II included patients with CRSP combined with respiratory allergy and was further divided into two subgroups. I.e., Group 2a comprised patients with CRSP, allergic BA (aBA), and allergic rhinitis (AR), while the patients with CRSP, AR, and non-allergic BA were placed to the group 2b. The patients suffering from CRSP complicated with non-allergic BA were allocated to the group III. The patients with hypertrophic rhinitis served as control. The levels of TGF-β1, TGF-β2, and TGF-β3 proteins (pg/mg) were measured by means of multiplex immunoassay approach in supernates of tissue homogenates from nasal polyps removed by surgery, and in posterior parts of inferior nasal conchae. The total protein level was determined in tissue supernatant, with cytokine contents recalculated for the mg/ml protein concentration for standardization of measurements.

In the control group, trace concentrations of all three growth factors were detected. Significant difference in protein contents was found for the studied cytokines, depending on CRSP phenotype. The levels of TGF-β1 and TGF-β2 were statistically lower in isolated CRSP than in other groups of comorbid CRSP patients. TGF-β1 and TGF-β2 concentrations were significantly lower in CRSP + allergic BA group IIa than in CRSP + non-allergic BA and CRSP + RA groups. The amount of TGF-β3 cytokine was maximal in CRSP + non-allergic BA group III compared to the patients with isolated CRSP of group I and CRSP + non-allergic BA group 2a.

Conclusions.

1. The high level of all three TGF-β isoforms in patients with CRSP compared to the control group suggested a high potential of mucous membranes of paranasal sinuses for active tissue remodeling followed by nasal polype formation.

2. Different mechanisms were presumed for development of local pathological process in different clinical phenotypes of CRSP, depending on the comorbid pathology, especially, BA or respiratory disorders.

3. Minimal TGF-β1 and TGF-β2 levels were detected in isolated CRSP.

4. The highest concentrations of TGF-β1, TGF-β2, and TGF-β3 were discovered in the patients with CRSP accompanied by non-allergic BA as compared to the groups with isolated CRSP and CRSP+allergic BA.

5. Determination of TGF-β1, TGF-β2, and TGF-β3 levels can serve as an additional criterion for differentiating between the mechanisms of mucous membrane damage in local pathological process in tissues of comorbid patients with different CRSP phenotypes.

Keywords: nasal polyps, transforming growth factors TGF-β1, transforming growth factors TGF-β2, transforming growth factors TGF-β3, chronic rhinosinusitis, phenotypes, multiplex analysis, cytokines, asthma, allergic rhinitis, upper airway remodeling

Введение

Полипозный риносинусит (ПРС) – хронический многофакторный воспалительный процесс слизистой оболочки носа и околоносовых пазух (ОНП), который характеризуется агрессивной клеточной инфильтрацией и ремоделированием слизистой. Это проявляется утолщением базальной мембраны, гиперплазией бокаловидных клеток, увеличением числа миофибробластов и альфа-актина гладких мышц, отложением коллагена в подслизистой оболочке, что приводит к образованию и росту полипов. Ремоделирование – это нормальный и важный восстановительный процесс, когда он возникает в ответ на незначительное воспалительное заболевание. Напротив, нарушение регуляции ремоделирования, например, вызванное тяжелым или хроническим длительным воспалением, может вызвать патологическую реконструкцию и формирование патологической ткани в процессе заживления и восстановления [11].

Хотя процесс ремоделирования ткани при ПРС на данный момент не ясен, известно, что в его основе лежит эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), характеризующийся потерей эпителиальными клетками своей типичной морфологии в виде межклеточной адгезии, апикально-базальной полярности, увеличением межклеточных пространств с последующей их пролиферацией и превращением в веретенообразные мезенхимальные клетки с миграционной функцией, которые начинают синтезировать коллагены и другие матричные белки типа фибронектина, тенасцина, периостина, и образуют временный матрикс для временной защиты от нарушения эпителиального барьера, что приводит к утолщению базальной мембраны [8, 18]. Это приводит к процессу, посредством которого полностью дифференцированные эпителиальные клетки претерпевают сложное преобразование и

обретают морфологические особенности мезенхимальных клеток [11]. Развитие ЭМП приводит к потере функции эпителиального барьера, что способствует прогрессированию ПРС [15].

Семейство трансформирующих ростовых факторов (transforming growth factor, TGF) в настоящий момент включает в себя более 40 представителей. Важную роль в регуляции восстановления эпителиальных клеток при ремоделировании дыхательных путей играют 3 изоформы TGF-β (TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3), которые представляют собой плейотропные цитокины, являющиеся регуляторами почти всех основных функций и активности клеток, включая пролиферацию, адгезию, подвижность, апоптоз и дифференцировку [12]. При ПРС TGF-β являются модуляторами активности фибробластов, способствуя пролиферации фибробластов с последующим активным образованием соединительной ткани [13]. Из всех изоформ в полипах носа TGF-β1 играет наиболее важную роль. Он синтезируется эозинофилами, макрофагами, фибробластами, В-клетками, активированными натуральными киллерами и Т-регуляторными лимфоцитами (Treg) [14, 22]. Релиз TGF-β2 осуществляется эпителиальными клетками и нейронами, а TGF-β3 – Т-хелперами (Th) 1 типа, Th17, Treg и мезенхимальными клетками [14]. В нормальном состоянии в дыхательных путях содержится небольшое количество этих молекул [16], которые всегда продуцируются в виде неактивных комплексов и могут быть активированы при формировании функциональных эффектов [20].

Сообщения о локальной экспрессии TGF-β при ПРС противоречивы. Некоторые исследователи сообщают об увеличении экспрессии TGF-β1 у пациентов с ПРС по сравнению с пациентами с хроническим риносинуситом (ХРС) без полипов и группой условно-здоровых людей, с выявлением максимальной его концентрации именно в ткани полипов, где она намного превышает количество TGF-β1 в слизистой оболочке [9, 24, 26]. Другие авторы сообщают о снижении экспрессии TGFβ1 при этом заболевании [23, 25]. При исследовании фибробластов слизистой оболочки носа здоровых людей стимуляция с помощью TGF- β1 не увеличивала их пролиферацию, что свидетельствует о необходимости всех составляющих патологического процесса, наблюдаемого при ПРС, для реализации роли TGF-β1 в образовании полипов [13]. В Японии выявлен факт, что количество TGF-β1 в ткани полипов значительно ниже при эозинофильном ПРС по сравнению с неэозинофильным ПРС, кроме того, установлены положительные корреляционные связи TGF-β1 с числом тучных клеток в полипозной ткани [19].

TGF-β1 представляет собой многофункциональный пептид, который является стимулятором ЭМП, индуцирует переход эпителиальных клеток в миофибробласты, способствуя ремоделированию тканей при ПРС [2, 25] через индукцию микроРНК (microRNAs, miRs), которые представляют собой эндогенные короткие (21-25 нуклеотидов) некодирующие молекулы РНК и действуют как регуляторы посттранскрипционной экспрессии генов, блокируя трансляцию белков и/или индуцируя деградацию матричной РНК (мРНК) [2], что играет важную роль в патогенезе ПРС [11]. TGF-β2 активно участвует при нейтрофильном ПРС в формировании фиброза, во вторичной стадии образования грануляционной ткани, оказывает супрессирующий эффект на рост Т-лимфоцитов [7, 17]. Противовоспалительные свойства TGF-β3 заключаются в ингибировании дифференцировки FoxP3-экспрессирующих $CD4^+$Т-клеток и супрессии Treg [10]. Также TGF-β3 вместе с TGF-β1, оказывает провоспалительное действие, индуцируя Th17 совместно с интерлейкином (IL)-6, и, в зависимости от концентрации в тканях, разнонаправленное влияние на продукцию антител в В-клетках [21].

ПРС является гетерогенным заболеванием, которое может быть подразделено на разные фенотипы по совокупности определенных клинических проявлений заболевания, или эндотипы, в зависимости от молекулярных механизмов патогенеза в том или ином случае. При разделении пациентов на фенотипические группы с изолированным ПРС, с ПРС в сочетании с респираторной аллергией, которая может проявляться в виде только аллергического ринита (АР) или вместе с аллергической бронхиальной астмой (аБА), и с ПРС в сочетании с неаллергической БА (нБА) наблюдалась разница выраженности клинических проявлений хронического риносинусита, степени лейкоцитарной инфильтрации стромы полипов, значений эозинофильно-нейтрофильного индекса [3] и эффективности базовой терапии интраназальными глюкокортикостероидами [6]. Исследованиями уровней мРНК генов, кодирующих белки IL-1β, IL-4, IL-5, IL-13, IL-17F, IL-25, интерферона (IFN)-γ, тимусного стромального лимфопоэтина (TSLP) в ткани полипов выявлены разные воспалительные паттерны при разных фенотипах ПРС, что свидетельствует о разном характере течения патологического процесса у этих групп пациентов [4]. Поскольку белки семейства TGF-β играют важную роль в процессе ЭМП, изучение изменений их количества в зависимости

от коморбидной патологии при ПРС представляется перспективным для понимания патогенеза этого заболевания.

Цель – исследовать цитокины семейства трансформирующих факторов роста TGF-β в ткани носовых полипов при разных фенотипах полипозного риносинусита.

Материалы и методы

За период 2016-2019 годов в Московском областном научно-исследовательском клиническом институте им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ) обследовано 292 больных полипозным риносинуситом – 126 мужчин и 166 женщин (средний возраст – 52,12±13,04 лет). Для подтверждения диагноза двустороннего полипозного риносинусита всем пациентам было проведено эндоскопическое исследование полости носа, компьютерная томография ОНП и гистологическое исследование ткани полипов. Критериями невключения в исследование служили односторонний процесс, наличие онкологической, аутоиммунной патологии, генетических синдромов (муковисцидоз, аллергический гранулематозный или эозинофильный ангиит, синдром Черджа–Стросс). Пациенты были разделены на 3 фенотипические группы по результатам клинического, аллергологического обследования и диагностики БА: I группа – изолированный ПРС без сопутствующей БА и сенсибилизации к атопическим аллергенам, 100 человек, возраст 51,58±1,49 лет. II группа – ПРС в сочетании с респираторной аллергией (95 человек), где выделено 2 подгруппы. Группа 2а – ПРС в сочетании с аБА и АР, 49 человек, возраст 50,39±2,42. Группа 2б – пациенты ПРС в сочетании с АР без аБА, 46 человек, возраст 51,37±3,25 лет. III группа – ПРС в сочетании с нБА, 97 человек, возраст 54,71±2,49 лет. Контрольная группа – пациенты с гипертрофическим ринитом на фоне длительного приема сосудосуживающих препаратов при отсутствии респираторной аллергии, БА, непереносимости НПВП и другой хронической лор-патологии в анамнезе – 36 человек (19 женщин и 17 мужчин, возраст 43±11,7). Аллергологическое обследование и диагностика БА, включающие сбор информации, скарификационные кожные пробы с атопическими аллергенами, спирографию, пациентам всех 4-х групп проводились в отделении бронхиальной астмы ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

Всем пациентам с ПРС была выполнена эндовидеоскопическая полипотомия носа, пациентам с гипертрофическим ринитом – резекция задних концов нижних носовых раковин, после чего удаленную ткань очищали от крови, гомогенизировали, центрифугировали с дальнейшим переносом супернатанта в пластиковую микропробирку, которую замораживали при температуре -60 °С. В иммунологической лаборатории ФГБУ науки «Института иммунологии и физиологии» УрО РАН методом мультиплексного анализа на иммуноанализаторе MAGPIX-100 (США) с использованием системы мультиплексного анализа Bio-Plex компании Bio-Rad (США) выполнили исследование уровня белков TGF-β1, TGF-β2, TGF-β3 в пг/мг в супернатантах гомогенизированной ткани носовых полипов и задних концов нижних носовых раковин. Перед проведением исследования производили быстрое размораживание, затем пробирки центрифугировали в течение 10 минут при скорости 1500 об/мин, в дальнейшем работали с надосадочной жидкостью. Пирогалоловым методом для стандартизации определяли содержание общего белка в супернатанте ткани с последующим перерасчетом содержания цитокинов на концентрацию белка 1 мг/мл [1].

Статистические расчеты выполнены при помощи программы IBM SPSS Statistics 23.0. При определении средних единиц уровня экспрессии генов использовали методы непараметрической статистики, показатели указывали в виде медианы (Me) и границ межквартильных 25-го и 75-го интервалов ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$). При сравнении 2-х групп между собой использовался критерий Манна–Уитни, при множественном сравнении – Краскела–Уоллиса. Значения $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые.

Результаты

Исследование уровня белков всех 3 изоформ семейства TGF-β при разных фенотипах ПРС выявило ряд статистически значимых различий (табл. 1). Были получены только следовые концентрации всех 3 ростовых факторов TGF-β в ткани нижних носовых раковин пациентов контрольной группы, что статистически значимо отличалось от всех групп пациентов с ПРС.

В группе 1 у пациентов с изолированным ПРС уровень TGF-β1 и TGF-β2 был достоверно ниже, чем у пациентов с сопутствующей респираторной аллергией и нБА в группах 2 и 3. Концентрация TGF-β1 и TGF-β2 цитокинов в группе 3 при сочетании с нБА была достоверно выше по сравнению с группой 2а, которую составили пациенты с аБА (TGF-β1 – 5,68 (3,75-8,79) *vs* 3,54 (2,6-4,71) pg/mg и TGF-β2 14 (8,2-17,5) *vs* 24,12 (14,11-40,12) pg/mg). Статистически значимая разница уровней TGF-β1 и TGF-β2 между 2б группой пациентов с сопутствующим АР (TGF-β1 = 4,76 (3,33-5,94) pg/mg и TGF-β2 = 17

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ТРАНСФОРМИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ РОСТА (TGF-β) В ТКАНИ НОСОВЫХ ПОЛИПОВ ПРИ РАЗНЫХ ФЕНОТИПАХ ПРС, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), pg/mg

TABLE 1. LEVEL OF TRANSFORMING GROWTH FACTORS BETA (TGF-β) IN THE TISSUE OF NASAL POLYPS IN DIFFERENT PHENOTYPES OF CRSWNP, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), pg/mg

	Распределение показателей по группам / Distribution parameters by groups				
	1-я группа ПРС Group 1 CRSwNP n = 100	**2-я группа** / Group 2		**3-я группа ПРС + нБА** Group 3 CRSwNP + nBA n = 97	**Группа контроля** Control group n = 36
		2-я а группа ПРС + аБА Group 2a CRSwNP + aBA n = 49	**2-я б группа ПРС + АР** Group 2b CRSwNP + AR n = 46		
TGF-β1, pg/mg	3,43 (2,11-4,29)*	3,54 (2,60-4,71)* #	4,76 (3,33-5,94)* #	5,68 (3,75-8,79)* &#	0 (0,000-0,001)
TGF-β1, pg/mg	9,02 (6,20-11,84)*	14 (8,2-17,5)* #	17 (11,02-25,69)* #	24,12 (14,11-40,12)* &#	0 (0-0,001)
TGF-β1, pg/mg	3,61 (2,11-4,29)*	4,24 (1,52-4,29)*	7,81 (3,9-10,0)* #&£	7,97 (4,68-17,80)* #&	0 (0-0,001)

Примечание. * – статистически значимая разница между контрольной группой и пациентами с ПРС (1-3-й группами) (p < 0,05); # – статистически значимая разница между группой 1 и группами 2 и 3 (p < 0,05); & – статистически значимая разница между 2а и группами 2б и 3 (p < 0,05); £ – статистически значимая разница между группой 2б и 3-й группой (p < 0,05).

Группа 1 – пациенты с изолированным полипозным риносинуситом (ПРС); группа 2а – пациенты с ПРС в сочетании с аллергической бронхиальной астмой (аБА); группа 2б – пациенты с ПРС в сочетании с аллергическим ринитом (АР); группа 3 – пациенты с ПРС в сочетании с неаллергической бронхиальной астмой (нБА).

Note. *, statistically proved difference between Control group 1 and all patients with CRSwNP (p < 0.05); #, statistically proved difference between Group 1 and Groups 2 or 3, (p < 0.05); &, statistically proved difference between Group 2a and Groups 2b or 3, (p < 0.05); £, statistically proved difference between Group 2b and Group 3, (p < 0.05).

Group 1, patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) without asthma and respiratory allergy; group 2a, patients with CRSwNP in combination with allergic bronchial asthma (aBA); group 2b, patients with CRSwNP in combination with allergic rhinitis (AR); group 3, patients with CRSwNP in combination with non-allergic bronchial asthma (nBA).

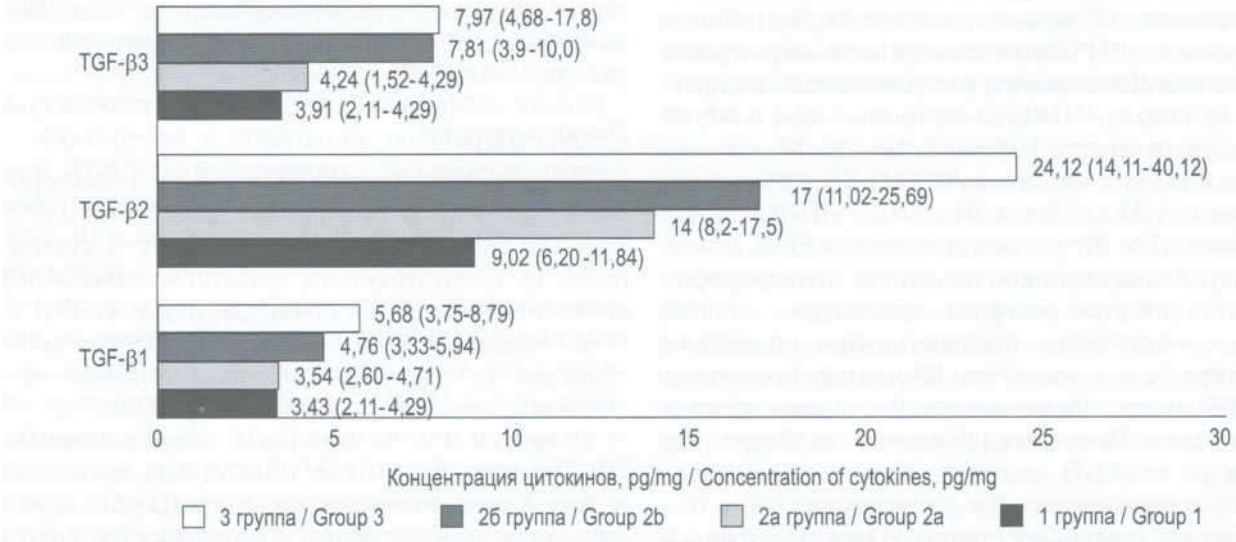


Рисунок 1. Концентрация белков трансформирующих факторов роста (TGF-β) в ткани носовых полипов при разных фенотипах ПРС, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)

Примечание. Группа 1 – пациенты с изолированным полипозным риносинуситом (ПРС); группа 2а – пациенты с ПРС в сочетании с аллергической бронхиальной астмой (аБА); группа 2б – пациенты с ПРС в сочетании с аллергическим ринитом (АР); группа 3 – пациенты с ПРС в сочетании с неаллергической бронхиальной астмой (нБА).

Figure 1. Concentration of transforming growth factors beta (TGF-β) proteins in the tissue of nasal polyps in different phenotypes of CRSwNP, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)

Note. Group 1, patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) without asthma and respiratory allergy; group 2a, patients with CRSwNP in combination with allergic bronchial asthma (aBA); group 2b, patients with CRSwNP in combination with allergic rhinitis (AR); group 3, patients with CRSwNP in combination with non-allergic bronchial asthma (nBA).

(11,02-25,69) pg/mg) и группами 2а и 3 пациентов ПРС с сопутствующей БА не обнаружено.

Количество цитокина TGF-β3 было максимальным в 3 группе ПРС + нБА (7,97 (4,68-17,8) pg/mg), по его уровню получена статистически значимая разница со всеми другими группами пациентов с ПРС. При сочетании ПРС + АР уровень TGF-β3 (7,81 (3,9-10,0) pg/mg) был достоверно выше по сравнению с группой 1 у пациентов с изолированным ПРС (3,61 (2,11-4,29) pg/mg) и группой 2а ПРС + аБА (4,24 (1,52-4,29) pg/mg). Статистически значимого различия между группами 1 и 2а по содержанию TGF-β3 в ткани полипов не выявлено (рис. 1).

Обсуждение

Основной проблемой при лечении полипозного риносинусита является невозможность создать универсальные схемы его лечения, так как по своей природе он достаточно гетерогенный. В настоящий момент объем имеющихся знаний не обеспечивает в полном объеме понимание потенциальных клеточных и молекулярных механизмов развития ПРС, что очень важно для разработки индивидуального подхода к терапии пациента. Особый интерес представляет изучение взаимосвязи респираторной аллергии или нБА с ПРС. При исследовании экспрессии мРНК в ткани носовых полипов у пациентов с рассматриваемой нами коморбидной патологией был выше уровень генов IFNγ, IL-5 и IL-13 по сравнению с группой изолированного ПРС, что свидетельствует об одновременной комбинации Th1- и Th2-механизмов иммунного ответа у этих больных. Также в группе с респираторной аллергией были максимальные количества мРНК IL-17F, IL-25 и TSLP по сравнению со всеми группами [4]. При сравнительном исследовании непосредственно белков цитокинов в ткани носовых полипов при изолированном ПРС и при ПРС в сочетании с аллергическим ринитом был обнаружен высокий уровень IL-6 и достоверно низкие значения IL-5 и IL-13 у пациентов с АР [5]. Эти данные подтвердили разный характер течения патологического процесса при разных фенотипах ПРС.

Плейотропные цитокины TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3 характеризуются количественно-зависимой ролью, которую они играют в иммунных реакциях. При этом биологические свойства этих цитокинов при ПРС частично перекрываются. Основной ключевой ролью TGF-β1 является участие в развитии тканевого фиброза, где он активирует синтез и способствует накоплению компонентов внеклеточного матрикса, одновременно уменьшая их деструкцию матриксными металлопротеиназами. TGF-β2 стимулирует мезенхимальные клетки и совместно с TGF-β3 активирует функциональную способность фибробластов [7]. Наше исследование показало, что существуют значительные различия в синтезе разных ростовых факторов TGF-β при разных клинических фенотипах ПРС. В частности, у пациентов с сопутствующей нБА выявлены наиболее высокие концентрации всех 3-х изучаемых цитокинов, при отсутствии значительных различий между концентрациями TGF-β1 и TGF-β2 у пациентов только с сопутствующим аллергическим ринитом. Напротив, пациенты с изолированным ПРС отличались минимальными показателями TGF-β1 и TGF-β2, с единственным отличием относительно TGF-β3, по уровню которого не наблюдалось разницы с группой ПРС + аБА. Кроме того, в контрольной группе наблюдались следовые концентрации всех 3-х ростковых факторов, что противоречит некоторым данным, полученным в других исследованиях, где уровень описываемых цитокинов в ткани носовых полипов не отличался от контрольной группы [23, 25]. С другой стороны, нашу работу отличает достаточно большая группа пациентов, что повышает статистическую значимость исследования.

Высокий уровень всех трех изоформ факторов роста TGF-β у всех пациентов ПРС по сравнению с контрольной группой свидетельствует о более высоком потенциале вовлеченной в патологический процесс слизистой оболочки ОНП к активному ремоделированию ткани с последующим образованием носовых полипов. Учитывая, что TGF-β является одним из основных регуляторов, участвующих в подавлении воспалительной реакции, возможно увеличение его концентрации в тканях у больных ПРС с сопутствующей коморбидной патологией служит дополнительным маркером нарушения процессов восстановления нормального функционирования эпителия и усиления процессов деструкции ткани с исходом в фиброз и ускорением процессов пролиферации. Одновременно повышение всех 3-х изоформ TGF-β у больных с ПРС в сочетании с неаллергической БА может объяснить сложность медикаментозного контроля этой группы пациентов.

Выводы

1. Высокий уровень всех трех изоформ TGF-β у пациентов с ПРС по сравнению с контрольной группой свидетельствует о высоком потенциале слизистой оболочки ОНП к активному ремоделированию ткани с последующим образованием носовых полипов.

2. При разных клинических фенотипах полипозного риносинусита определяется разный механизм развития локального патологического процесса в зависимости от коморбидной патологии в виде БА или респираторной аллергии.

3. При изолированном ПРС выявлен минимальный уровень TGF-β1 и TGF-β2.

4. Наиболее высокий уровень TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3 определяется у больных ПРС в сочетании с неаллергической БА по сравнению с группами изолированного ПРС и при ПРС в сочетании с аБА.

5. Оценка уровней TGF-β1, TGF-β2 и TGF-β3 может служить дополнительным критерием дифференциации механизмов нарушения при локальном патологическом процессе в тканях у больных с сочетанной патологией при разных фенотипических проявлениях ПСР.

Список литературы / References

1. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018. 720 с. [Zurochka A.V., Khaidukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshnev V.A. Flow cytometry in biomedical research]. Ekaterinburg: RIO UrO RAN, 2018. 720 p.

2. Камышова Е.С., Бобкова И.Н., Кутырина И.М. Современные представления о роли микроРНК при диабетической нефропатии: потенциальные биомаркеры и мишени таргетной терапии // Сахарный диабет, 2017. Т. 20, № 1. С. 42-50. [Kamyshova E.S., Bobkova I.N., Kutyrina I.M. New insights on microRNAs in diabetic nephropathy: potential biomarkers for diagnosis and therapeutic targets. *Sakharnyy diabet = Diabetes Mellitus, 2017, Vol. 20, no. 1, pp. 42-50.* (In Russ.)]

3. Савлевич Е.Л., Дынева М.Е., Гаганов Л.Е., Егоров В.И., Герасимов А.Н., Курбачева О.М. Лечебно-диагностический алгоритм при разных фенотипах полипозного риносинусита // Российский аллергологический журнал, 2019. Т. 16, № 2. С. 50-60. [Savlevich E.L., Dyneva M.E., Gaganov L.E., Egorov V.I., Gerasimov A.N., Kurbacheva O.M. Diagnostic and treatment algorithm for different phenotypes of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Allergology Journal, 2019, Vol. 16, no. 2, pp. 50-60.* (In Russ.)]

4. Савлевич Е.Л., Курбачева О.М., Егоров В.И., Дынева М.Е., Шиловский И.П., Хаитов М.Р. Уровень экспрессии генов цитокинов при разных фенотипах полипозного риносинусита // Вестник оториноларингологии, 2019. Т. 84, № 6. С. 42-47. [Savlevich E.L., Kurbacheva O.M., Egorov V.I., Dyneva M.E., Shilovskiy I.P., Khaitov M.R. Gene expression levels of cytokines in different phenotypes of CRSwNP. *Vestnik otorinolaringologii = Otorhinolaryngology Bulletin, 2019, Vol. 84, no. 6, pp. 42-47.* (In Russ.)]

5. Савлевич Е.Л., Курбачева О.М. Особенности течения полипозного риносинусита в сочетании с аллергическим ринитом // Медицинский Совет, 2019. №. 20. С. 38-43. [Savlevich E.L., Kurbacheva O.M. Features of the course of polypous rhinosinusitis combined with allergic rhinitis. *Meditsinskiy Sovet = Medical Council, 2019, no. 20, pp. 38-43.* (In Russ.)]

6. Савлевич Е.Л., Черенкова В.А., Молодницкая А.Ю. Принципы базисной терапии полипозного риносинусита // Медицинский Совет, 2020. № 16. С. 73-78. [Savlevich E.L., Cherenkova V.A., Molodnitskaia A.Yu. Basic principles for the treatment of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Meditsinskiy Sovet = Medical Council,* 2020, no. 16, pp. 73-78. (In Russ.)]

7. Dropmann A., Dediulia T., Breitkopf-Heinlein K., Korhonen H., Janicot M., Weber S.N., Thomas M., Piiper A., Bertran E., Fabregat I., Abshagen K., Hess J., Angel P., Coulouarn C., Dooley S., Meindl-Beinker N.M. TGF-β1 and TGF-β2 abundance in liver diseases of mice and men. *Oncotarget, 2016, Vol. 7, no. 15, pp. 19499-19518.*

8. Hupin C., Gohy S., Bouzin C., Lecocq M., Polette M., Pilette C. Features of mesenchymal transition in the airway epithelium from chronic rhinosinusitis. *Allergy, 2014, Vol. 69, no. 11, pp. 1540-1549.*

9. Huriyati E., Darwin E., Yanwirasti Y., Wahid I. Association of Inflammation Mediator in Mucosal and Tissue of Chronic Rhinosinusitis with Recurrent Nasal Polyp. *Open Access Maced. J. Med. Sci., 2019, Vol. 7, no. 10, pp. 1635-1640.*

10. Komai T., Okamura T., Inoue M., Yamamoto K., Fujio K. Reevaluation of Pluripotent Cytokine TGF-β3 in Immunity. *Int. J. Mol. Sci., 2018, Vol. 19, no. 8, 2261.* doi: 10.3390/ijms19082261.

11. Li X., Li C., Zhu G., Yuan W., Xiao ZA. TGF-β1 Induces Epithelial-Mesenchymal Transition of Chronic Sinusitis with Nasal Polyps through MicroRNA-21. *Int. Arch. Allergy Immunol., 2019, Vol. 179, no. 4, pp. 304-319.*

12. Li Y.C., An Y.S., Wang T., Zang H.R. Analysis of transforming growth factor β signaling in chronic rhinosinusitis. *Chin. Med. J. (Engl.), 2013, Vol. 126, no. 17, pp. 3340-3343.*

13. Little S.C., Early S.B., Woodard C.R., Shonka D.C. Jr, Han J.K., Borish L., Steinke J.W. Dual action of TGF-beta1 on nasal-polyp derived fibroblasts. *Laryngoscope, 2008, Vol. 118, no. 2, pp. 320-324.*

14. Okamura T., Sumitomo S., Morita K., Iwasaki Y., Inoue M., Nakachi S., Komai T., Shoda H., Miyazaki J., Fujio K., Yamamoto K. TGF-β3-expressing CD4+CD25(-)LAG3+ regulatory T cells control humoral immune responses. *Nat. Commun., 2015, Vol. 6, 6329.* doi: 10.1038/ncomms7329.

15. Schleimer R.P. Immunopathogenesis of Chronic Rhinosinusitis and Nasal Polyposis. *Annu. Rev. Pathol., 2017, Vol. 12, pp. 331-357.*

16. Serpero L., Petecchia L., Sabatini F., Giuliani M., Silvestri M., Di Blasi P., Rossi GA. The effect of transforming growth factor (TGF)-beta1 and (TGF)-beta2 on nasal polyp fibroblast activities involved upper airway remodeling: modulation by fluticasone propionate. *Immunol. Lett., 2006, Vol. 105, no. 1, pp. 61-67.*

17. Shi L.L., Xiong P., Zhang L., Cao P.P., Liao B., Lu X., Cui Y.H., Liu Z. Features of airway remodeling in different types of Chinese chronic rhinosinusitis are associated with inflammation patterns. *Allergy, 2013, Vol. 68, no. 1, pp. 101-109.*

18. Sidhu S.S., Yuan S., Innes A.L., Kerr S., Woodruff P.G., Hou L., Muller S.J., Fahy J.V. Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF-beta activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2010, Vol. 107, no. 32, pp. 14170-14175.*

19. Teranishi Y., Jin D., Takano S., Sunami K., Takai S. Decrease in number of mast cells in resected nasal polyps as an indicator for postoperative recurrence of chronic rhinosinusitis. *Immun. Inflamm. Dis., 2019, Vol. 7, no. 3, pp. 191-200.*

20. Travis M.A., Sheppard D. TGF-β activation and function in immunity. *Annu. Rev. Immunol., 2014, Vol. 32, pp. 51-82.*

21. Tsuchida Y., Sumitomo S., Ishigaki K., Suzuki A., Kochi Y., Tsuchiya H., Ota M., Komai T., Inoue M., Morita K., Okamura T., Yamamoto K., Fujio K. TGF-β3 Inhibits Antibody Production by Human B Cells. *PLoS One, 2017, Vol. 12, no. 1, e0169646.* doi: 10.1371/journal.pone.0169646.

22. van Bruaene N., Derycke L., Perez-Novo C.A., Gevaert P., Holtappels G., De Ruyck N., Cuvelier C., van Cauwenberge P., Bachert C. TGF-beta signaling and collagen deposition in chronic rhinosinusitis. *J. Allergy Clin. Immunol., 2009, Vol. 124, no. 2, pp. 253-259.*

23. van Zele T., Claeys S., Gevaert P., van Maele G., Holtappels G., van Cauwenberge P., Bachert C. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy, 2006, Vol. 61, no. 11, pp. 1280-1289.*

24. Yamin M., Holbrook E.H., Gray S.T., Busaba N.Y., Lovett B., Hamilos D.L. Profibrotic transforming growth factor beta 1 and activin A are increased in nasal polyp tissue and induced in nasal polyp epithelium by cigarette smoke and Toll-like receptor 3 ligation. *Int. Forum Allergy Rhinol., 2015, Vol. 5, no. 7, pp. 573-582.*

25. Yang Y., Zhang N., Lan F., van Crombruggen K., Fang L., Hu G., Hong S., Bachert C. Transforming growth factor-beta 1 pathways in inflammatory airway diseases. *Allergy, 2014, Vol. 69, no. 6, pp. 699-707.*

26. Yarmohammadi M.E., Saderi H., Izadi P., Afshin MS., Hashemi M. The role of transforming growth factor beta 1 (TGFβ1) in nasal and paranasal sinuses polyposis. *Iran J. Pathol., 2010, Vol. 5, no. 2, pp. 72-76.*

Авторы:

Савлевич Е.Л. *– д.м.н., доцент, доцент кафедры оториноларингологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия*

Зурочка А.В. *– д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург; профессор кафедры пищевых и биотехнологий ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия*

Authors:

Savlevich E.L., *PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Department of Otholaryngology, Central State Medical Academy of Department for Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation*

Zurochka A.V., *PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg; Professor, Department of Food and Biotechnology, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation*

Курбачева О.М. – д.м.н., профессор, заведующая отделением бронхиальной астмы ФГБУ «Государственный научный центр "Институт иммунологии"» ФМБА России, Москва, Россия

Егоров В.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой оториноларингологии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского», Москва, Россия

Гаганов Л.Е. – д.м.н., ведущий научный сотрудник патологоанатомического отделения ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»; заведующий патологоанатомическим отделением ГБУЗ «Городская клиническая больница № 51 Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

Любимова Е.В. – врач-оториноларинголог ООО «ЛОР клиника», г. Екатеринбург, Россия

Kurbacheva O.M., PhD, MD (Medicine) Professor, Head, Department of Bronchial Asthma, National Research Center – Institute of Immunology, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation

Egorov V.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Otholaryngology, M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

Gaganov L.E., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Department of Pathology, M. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute; Head, Department of Pathology, City Clinical Hospital No. 51, Moscow, Russian Federation

Lyubimova E.V., Clinical Othorynolaringologist, LOR Clinics LLC, Ekaterinburg, Russian Federation

Поступила 27.05.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 27.05.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 157-170
© 2022, СПб РО РААКИ

Оригинальные статьи
Original articles

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 157-170
© 2022, SPb RAACI

СКРИНИНГ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ВЛАЖНОЙ И АТРОФИЧЕСКОЙ ФОРМАХ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ

Нероев В.В., Балацкая Н.В., Нероева Н.В., Кармокова А.Г., Рябина М.В., Куликова И.Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Цитокины играют важную роль в патогенезе возрастной макулярной дегенерации (ВМД). Особый интерес представляют поздние стадии данного заболевания, которые являются основной причиной прогрессирующего снижения зрения. Терапевтический эффект изменений концентраций цитокинов после лечения также требует изучения как в краткосрочной, так и в долгосрочной перспективе, в особенности при возникновении атрофии на фоне антиангиогенной терапии. Цель: провести исследование комплекса 45 цитокинов различного биологического действия в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ) пациентов с влажной и атрофической ВМД.

В исследование были включены 70 человек (85 глаз) с 3-4 стадией ВМД по AREDS. В зависимости от формы ВМД, были сформированы 3 группы: I-я группа (n = 24) – пациенты с «географической атрофией», II-я группа (n = 22) – пациенты с макулярной атрофией на фоне антиангиогенной терапии влажной ВМД, III-я группа (n = 24) – пациенты с влажной формой, ранее не получавших лечение. Контрольную группу составили здоровые добровольцы (n = 25). Все группы были сопоставимы по возрасту и полу. Пациентам было проведено комплексное офтальмологическое обследование для постановки диагноза. Мультиплексное исследование локального (в СЖ) и системного (в СК) цитокинового статуса проводилось на приборе MAGPIX (платформа xMAP, Luminex Corporation, США) в программе Luminexx PONENT 3.1, наборами Procarta Plex (eBioscience, Австрия). Определялись 45 цитокинов различного биологического действия IL-1α, IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, IFNα, IFNγ, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, TNFα, TNFβ, GM-CSF, VEGF-A, VEGF-D, FGF-2, EGF, PDGF-BB, HGF, SCF, GRO-α, NGF-β, BDNF, LIF, PIGF-1.

Проведен скрининг широкой линейки цитокинов различного биологического действия в СК и СЖ пациентов с атрофической и влажной формами ВМД. Показано, что поздние стадии заболевания ассоциируются с локальными и системными нарушениями в звеньях про-/противовоспалительных медиаторов (IL-1β, IL-1ra, IL-18, LIF), хемоаттрактантных цитокинов (IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10,

Адрес для переписки:

*Кармокова Асият Гисовна
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ
105062, Россия, Москва,
ул. Садовая-Черногрязская, 14/19.
Тел.: 8 (963) 669-54-91.
E-mail: asyakarma17@gmail.com*

Address for correspondence:

*Karmokova Asiyat G.
Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases
105062, Russian Federation, Moscow, Sadovaya-Chernogryazskaya str., 14/19.
Phone: 7 (963) 669-54-91.
E-mail: asyakarma17@gmail.com*

Образец цитирования:

*В.В. Нероев, Н.В. Балацкая, Н.В. Нероева, А.Г. Кармокова, М.В. Рябина, И.Г. Куликова «Скрининг цитокинов в сыворотке крови и слезной жидкости при влажной и атрофической формах возрастной макулярной дегенерации» // Медицинская иммунология. 2022. Т. 24, № 1. С. 157-170.
doi: 10.15789/1563-0625-SOC-2351*

© Нероев В.В. и соавт., 2022

For citation:

*V.V. Neroev, N.V. Balatskaya, N.V. Neroeva, A.G. Karmokova, M.V. Ryabina, I.G. Kulikova "Screening of cytokines in blood serum and lacrimal liquid in wet and atrophic forms of age-related macular degeneration", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 157-170.
doi: 10.15789/1563-0625-SOC-2351*

DOI: 10.15789/1563-0625-SOC-2351

MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11), регуляторов гемопоэза (IL-7) и факторов роста с ангиогенной активностью (EGF, HGF, PDGF-BB, VEGF-A). Изменения концентраций ряда хемокинов IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5 и Eotaxin/CCL11 ($p < 0,05$) в СК пациентов с атрофической и влажной формами ВМД могут представлять интерес для поиска биомаркеров, связанных с различными клиническими фенотипами заболевания, а также могут оказать помощь в разработке новых терапевтических стратегий лечения.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация, «географическая атрофия», хориоидальная неоваскуляризация, «макулярная атрофия», сыворотка крови, слезная жидкость, цитокины, мультиплексный анализ

SCREENING OF CYTOKINES IN BLOOD SERUM AND LACRIMAL LIQUID IN WET AND ATROPHIC FORMS OF AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

Neroev V.V., Balatskaya N.V., Neroeva N.V., Karmokova A.G., Ryabina M.V., Kulikova I.G.

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Abstract. Cytokines play an integral role in pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). Of particular interest are the late stages of this disease, which causes progressive visual impairment. Therapy-induced effects of post-treatment cytokine concentrations also need to be studied, both at long and short observation terms. These studies are of vital importance if the atrophy occurs during antiangiogenic therapy. Our purpose was to study an array of 45 cytokines, in blood serum (BS) and lacrimal liquid (LL) of the patients with wet and atrophic AMD.

The study included 70 people (85 eyes) with stage 3-4 AMD according to AREDS. Depending on the form of AMD, 3 groups were discerned: I group (n = 24) included the patients with "geographic atrophy"; II group (n = 22), consisted of the patients with macular atrophy treated with antiangiogenic therapy of wet AMD; III group (n = 24), comprised the patients with a wet AMD who did not previously receive the treatment. Control group consisted of healthy volunteers (n = 25). All the groups were comparable for age and gender. The patients underwent a comprehensive ophthalmological examination to make a diagnosis. A multiplex study of the local (in the BS) and systemic (in the LL) cytokine status was carried out on a MAGPIX device (platform xMAP, Luminex Corporation, USA) in the Luminexx PONENT 3.1 software, using Procarta Plex kits (eBioscience, Austria). We determined 45 cytokines causing various biological effects, i.e., IL-1α, IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, IFNα, IFNγ, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, TNFα, TNFβ, GM-CSF, VEGF-A, VEGF-D, FGF-2, EGF, PDGF-BB, HGF, SCF, GRO-α, NGF-β, BDNF, LIF, PIGF-1.

Screening of a wide range of cytokines showing various biological effects was carried out in BS and LL of patients with atrophic and wet forms of AMD. It has been shown that the late stages of the disease are associated with local and systemic changes of pro / anti-inflammatory mediators (IL-1β, IL-1ra, IL-18, LIF), chemoattractant cytokines (IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11), hematopoietic regulators (IL-7), and growth factors with known angiogenic activity (EGF, HGF, PDGF-BB, VEGF-A). Altered concentrations of numerous chemokines, e.g., IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5 and Eotaxin/CCL11 ($p < 0.05$) in BS of the patients with atrophic and wet AMD may be of interest for the search of biomarkers associated with various clinical phenotypes of the disease and may be also helpful for development of new therapeutic strategies.

Keywords: macular degeneration, age-related, geographic atrophy, neovascularization, choroidal, macular atrophy; blood serum, lacrimal liquid, cytokines, multiplex analysis

Введение

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) составляет 8-7% всех случаев слепоты в мире и является одной из главных причин слепоты в пожилом возрасте [27].

ВМД характеризуется прогрессирующим дегенеративно-дистрофическим поражением центральной фотоактивной зоны сетчатки и ведет к необратимой потере зрительных функций [5]. Существенные нарушения зрения возникают на продвинутых стадиях заболевания, при развитии влажной и атрофической форм ВМД [13].

Лечение поздней ВМД сопряжено с большими трудностями: требует интравитреального введения антиангиогенных препаратов, направленных на борьбу с патологическим ангиогенезом у пациентов с хориоидальной неоваскуляризацией (ХНВ) (далеко не всегда приводящего к положительным функциональным результатам), а лечение для «географической атрофии» (ГА) в настоящее время, к сожалению, отсутствует [6].

Трудности лечения в том числе связаны с недостаточно изученным патогенезом ВМД. Исследования последнего десятилетия (в большинстве экспериментальные) представили убедительные доказательства участия иммунологических факторов в развитии и прогрессировании этой патологии. Было показано, что начальные этапы ВМД характеризуются преимущественно сдвигами в неспецифическом звене иммунитета, а дальнейшее прогрессирование патологического процесса к поздней стадии – формированию ХНВ, сопровождается глубокими нарушениями в системе регуляции ангиогенеза [17].

Иммунопатогенез влажной формы ВМД изучен полнее, чем атрофической: накопленные данные свидетельствуют, что рост и развитие неполноценных сосудов с повышенной проницаемостью ассоциируется не только с дисбалансом основных про- и антиангиогенных факторов, но и активно модулирующими этот процесс провоспалительными цитокинами и хемоаттрактными медиаторами [19].

Однако патологические механизмы, направляющие вектор развития заболевания во влажную или атрофическую формы, остаются нерасшифрованными.

Продолжительная антиангиогенная терапия в состоянии стабилизировать зрительную функцию в долгосрочной перспективе, недавние исследования вызвали опасения, что лечение ингибиторами ангиогенеза может ускорить развитие и/или прогрессирование вторичных атрофических изменений – макулярной атрофии (МА) [4, 9, 10, 16]. Ряд публикаций также обращают внимание на возможные неблагоприятные эффекты ингибиторов ангиогенеза и, в частности, способность бевацизумаба существенно снижать выживаемость ганглиозных клеток сетчатки в условиях окислительного стресса [12]. Вышеуказанное обстоятельство определяет актуальность прогнозирования риска возникновения и прогрессирования МА и разработке подходов к ее лечению.

Несмотря на то, что значительное число работ посвящено изучению цитокинов при неоваскулярной ВМД в клинике, их данные получены в ограниченном числе наблюдений и являются достаточно противоречивыми [20, 28].

Особенности локальной (на уровне глаза) и системной (на уровне организма) продукции цитокинов различного биологического действия при ГА и, особенно, МА на фоне антиангиогенной терапии остаются малоизученными, их роль в механизмах формирования основных фенотипов поздней ВМД до настоящего времени остается неясной: в доступной литературе встречены единичные публикации с акцентом на исследовании расширенной панели цитокинов (с воспалительной, профибротической активностью) при атрофической форме ВМД [24]. Таким образом, отмечается целесообразность проведения углубленных исследований иммунопатогенеза атрофической и влажной форм ВМД.

Цель исследования – исследование комплекса 45 цитокинов различного биологического действия: IL-1α, IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, IFNα, IFNγ, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, TNFα, TNFβ, GM-CSF, VEGF-A, VEGF-D, FGF-2, EGF, PDGF-BB, HGF, SCF, GRO-α, NGF-β, BDNF, LIF, PIGF-1 в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ) пациентов с влажной и атрофической формами ВМД.

Материалы и методы

В исследование вошло 70 человек (85 глаз) с 3 и 4 стадией ВМД по классификации AREDS [3], проходивших обследование в ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца». Первую группу составили 24 пациента (35 глаз) с ГА на фоне прогрессирования сухой формы ВМД – из них 4 мужчины и 20 женщин, в возрасте от 48 до 83 (в среднем 71,7±2,51) лет, со средней максимально корригированной остротой зрения (МКОЗ) 0,4±0,05; во вторую группу вошли 22 пациента (23 глаза) с макулярной атрофией (МА) на фоне лечения ингибиторами ангиогенеза влажной ВМД – из них 4 мужчины и 18 женщин, в возрасте от 50 до 84 (в среднем 70,8±2,2) лет, со средней МКОЗ 0,3±0,05, которые получили инъекции ингибиторов ангиогенеза в диапазоне от 1 до 15 (в среднем

6±0,83); третья группа сформирована из 24 пациентов (27 глаз) с ХНВ, ранее не получавших лечение, – из них 7 мужчин и 17 женщин в возрасте от 50 до 82 (в среднем 69,7±1,6) лет, со средней МКОЗ 0,4±0,05.

Группа контроля составили 25 здоровых добровольцев (35 глаз) в возрасте от 50 до 65 лет сопоставимых по полу и возрасту с основными группами.

Критериями исключения пациентов из исследования были: сопутствующие заболевания сетчатки, воспалительные заболевания органа зрения, глаукома, помутнения оптических сред, препятствующие достаточной визуализации глазного дна, аномалия рефракции более 3 диоптрий.

Всем пациентам было проведено комплексное офтальмологическое обследование для постановки диагноза.

Забор СК и СЖ проводили до каких-либо манипуляций. СЖ (без стимуляции) отбирали стерильной градуированной пипеткой из нижнего конъюнктивального свода в объеме 25-50 мкл в микропробирки Eppendorf. Кровь забирали из локтевой вены в стерильные вакуумные пробирки без активатора свертывания. СК получали, используя стандартные методики. До проведения исследования собранный биоматериал хранили при температуре -70 °С. Методом мультиплексного анализа на платформе xMAP (прибор MAGPIX, Luminex Corporation, США) в программе Luminexx PONENT 3.1, наборов Procarta Plex (eBioscience, Австрия) в пробах определяли концентрации 45 цитокинов различного биологического действия: IL-1α, IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31, IFNα, IFNγ, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, TNFα, TNFβ, GM-CSF, VEGF-A, VEGF-D, FGF-2, EGF, PDGF-BB, HGF, SCF, GRO-α, NGF-β, BDNF, LIF, PIGF-1. Исследования проводились согласно инструкциям производителя (Millipore, Берлингтон, Массачусетс, США) с учетом минимальной и максимальной границ чувствительности метода. Забор биологических жидкостей проводился с согласия пациента после разъяснения метода и целей исследования.

Математическая и статистическая обработка полученных данных проведена при использовании стандартных пакетов прикладных программ MS Excel и Biostat v. 5. Определялись среднее арифметическое (M), стандартная ошибка среднего арифметического (m), стандартное отклонение (σ), медиана (Me). Оценка на нормальность распределения количественных показателей выполнялась с помощью критерия Шапиро–Уилка. Показатели содержания цитокинов в биологических жидкостях представлены в виде Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), где Me – медиана, 25% – первый, 75% – третий процентили. Для определения статистически значимых различий (p) показателей двух независимых выборок использовали U-критерий Манна–Уитни. Качественные переменные представлены в абсолютных (n) и относительных (%) значениях. Анализ качественных признаков в таблицах сопряженности проводился с применением критерия χ^2, для малых выборок применялся точный критерий Фишера. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принят равным $p < 0,05$.

Результаты

Результаты мультиплексного анализа СК пациентов исследуемых групп представлены в таблице 1.

В СК практически здоровых людей из 45 исследуемых цитокинов выявлены 32, среди которых в 68-100% проб обнаруживались хемокины и вазорегуляторные факторы IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, VEGF-A, EGF, PDGF-BB, HGF, SCF, BDNF, LIF, PIGF-1, в норме, как известно, выполняющие гомеостатические функции, несколько реже, в 16-32% случаев определялись IL-8, MIP-1α/CCL3, Gro-α (табл. 1). Остальные медиаторы выявлялись в небольшом количестве образцов либо их концентрации находились ниже предела минимальной чувствительности тест-системы, что делало невозможным проведение статистического анализа.

В 1 группе пациентов (с ГА) в 21-100% тест-проб обнаружены 26 цитокинов (IL-1α, IL-1ra, IL-2, IL-7, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, VEGF-A, EGF, PDGF-BB, HGF, SCF, GRO-α, BDNF, LIF, PIGF-1). Достаточно редко, в 4-8% случаев определялись IL-1β, IL-6, IL-13, IFNα, TNFα и TNFβ (табл. 1).

При исследовании уровней системной продукции иммуномедиаторов в этой группе выявлены достоверные изменения концентраций 7 цитокинов по сравнению с контролем: так в СК пациентов этой группы было достоверно снижено содержание IL-18, в то время как показатели IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, Eotaxin/CCL11, VEGF-A значительно превышали таковые в норме. Необходимо отметить, что IL-2 и MIP-1α/CCL3 статистически значимо чаще встречались в тест-пробах пациентов с ГА чем в контроле ($p < 0,05$) (табл. 1).

В СК пациентов с МА на фоне антиангиогенной терапии влажной ВМД (II группа) из 45 цитокинов были обнаружены 32: в подавляющем большинстве проб (90-100%) определены IL-1ra, IL-2, IL-7, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, VEGF-A, EGF, PDGF-BB, HGF, SCF, BDNF, LIF, PIGF-1), реже, в 12,5-62,5% случаях выявлены IL-1α, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-27, IL-8/CXCL8, MIP-1α/CCL3, TNFα, Gro-α и VEGF-D. В 4-8% проб отмечены IL-1β, IL-13 и IFNγ (табл. 1).

Во II группе отмечалось достоверное снижение содержания сывороточных IL-2, SDF-1α/CXCL12, RANTES/CCL5 и PDGF-BB по сравнению с нормой при значительном статистически значимом повышении уровня IL-ra ($p < 0,05$). Стоит отметить, что в СК 18,1% больных данной группы выявлен отсутствующий в норме лимфангиогенный фактор роста VEGF-D (табл. 1).

У пациентов с влажной формой ВМД, ранее не получавших антиангиогенную терапию (III группа) из 45 цитокинов были обнаружены 39 цитокинов. В 50-100% случаев выявлены (IL-1ra, IL-2, IL-7, IL-18, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, VEGF-A, EGF, PDGF-BB, HGF, SCF, BDNF, LIF, PIGF-1). Несколько реже, в 12,5-29% тест-проб определены IL-1α, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-21, IL-22, IL-27, IFNα, IL-8/CXCL8, TNFα, GRO-α. У 8% пациентов в СК выявлен IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-31, NGF-β, VEGF-D (табл. 1).

Стоит отметить, что частота встречаемости IL-6 ($p < 0,05$) была достоверно выше в третьей группе относительно контроля (табл. 1).

В этой группе статистически значимые сдвиги от нормы отмечены для 5 цитокинов (IL-ra, RANTES/CCL5, EGF, PDGF-BB и HGF): наблюдался достоверный подъем сывороточных уровней IL-ra, EGF и HGF при незначительном снижении концентраций RANTES/CCL5 и PDGF-BB по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Изменения в системной продукции хемоаттрактантных цитокинов стали важными признаками, отличающими между собой фенотипы поздней ВМД, в частности ГА.

В СК больных I группы выявлено достоверное значительное повышение концентраций хемокинов SDF-1α/CXCL12, MIP-1α/CCL3 и RANTES/CCL5 ($p < 0,05$) по сравнению с таковыми у пациентов с МА и нативной влажной формой ВМД. Статистически значимые сдвиги сывороточных уровней 6 хемоаттрактантных цитокинов различали I и II группы: так при ГА обнаружено существенное усиление системной продукции IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5 и Eotaxin/CCL11, по сравнению с группой МА ($p < 0,05$).

Результаты мультиплексного анализа СЖ пациентов исследуемых групп представлены в таблице 2.

В СЖ группы контроля из линейки исследуемых цитокинов определены 22 цитокина, среди которых в подавляющем числе тест-проб (88,5-100%) обнаруживались IL-7, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MIP-1β/CCL4, Eotaxin/CCL11, VEGF-A, EGF, PDGF-BB, HGF, Gro-α. Более чем у половины здоровых доноров выявлялись IL-1β (54,2%), IL-1ra (68,5%), IL-8/CXCL8 (57,1%), LIF (65,7%), PIGF-1 (60%), значительно реже, в 5,7-48,5% случаев регистрировались IL-2, IL-13, IL-15, IL-17A, SDF-1α/CXCL12, RANTES/CCL5 и GM-CSF (табл. 2). В отличие от проб СК в СЖ этой группы не обнаружены IL-1α, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-27, IFNγ, MIP-1α/CCL3, TNFα, BDNF и SCF.

В СЖ пациентов с ГА из 45 изучаемых медиаторов, выявлены 39: IL -1α, IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-27, IFNγ, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, TNFα, GM-CSF, VEGF-A, FGF-2, EGF, PDGF-BB, HGF, SCF, Gro-α, LIF, PIGF-1 определены в 17,1 – 100% случаях; очень редко, в 2,8 – 11,5% тест-проб обнаружены IL-5, IL-10, IL-21, IL-22, IL-23, IFNα, MIP-1α/CCL3, NGF-β. Следует отметить, что в СЖ пациентов с ГА достоверно чаще чем в группе здоровых встречались IL-1α, IL-1ra, IL-2, IL-17A, IL-18, IL-27, IL-8/CXCL8, SDF-1α/CXCL12, MIP-1α/CCL3, RANTES/CCL5, SCF и LIF ($p < 0,05$) (табл. 2).

Анализ локальной продукции цитокинов в этой группе обнаружил статистически значимые изменения концентраций 13 из них по сравнению с таковыми в контроле: повышение содержания IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-7, IL-8/CXCL8, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, VEGF-A, EGF, HGF, а также снижения уровня PDGF-BB ($p < 0,05$).

В СЖ пациентов с МА на фоне антиангиогенной терапии влажной ВМД (II группы) выявлены 35 цитокинов, из них в 21,7 – 100% проб определялись IL-1α, IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-7, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-27, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, TNFα, GM-CSF, VEGF-A, FGF-2, EGF, PDGF-BB, HGF, Gro-α, LIF, PIGF-1 достаточно редко, в 4,3 -17,3% случаев, встречались IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFNα, IFNγ, MIP-1α/CCL3 и SCF. Обратим внимание, что в СЖ пациентов с МА статистически значимо чаще, чем в группе здо-

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СК ПРИ АТРОФИЧЕСКОЙ И ВЛАЖНОЙ ФОРМАХ ВМД

TABLE 1. CONCENTRATION OF CYTOKINES IN BS IN ATROPHIC AND WET FORMS OF AMD

	Первая группа First group (n = 24)		**Вторая группа** Second group (n = 22)		**Третья группа** Third group (n = 24)		**Контрольная группа** Control group (n = 25)	
Цитокин, пг/мл Cytokine, pg/ml	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**
IL-1β	–	–	2 (9)	5,3 (3,9-6,7)	3 (12,5)	27,9 (22,3-31,8)	2 (8)	5,2 (5,2-5,2)
IL-18	5 (21)	23,7 (19,5-25,3) ↓*	13 (59)	22,2 (19,5-35,9)	17 (71)	26 (21,3-36,5)	11 (44)	33,5 (30,9-38,6)
IL-1ra	21 (87,5)	459,1 (208,3-922,8)	22 (100)	579,9 (426,2-744,6) ↑*	23 (96)	592,7 (371,5-1027,6) ↑*	23 (92)	371,5 (209,8-484,8)
IL-6	1 (4)	–	–	–	4** (16,7)	29 (17,9-37,7)	–	–
IL-7	24 (100)	4,1 (2,8-4,8)	21 (95,4)	3,7 (2,1-4,6)	24 (100)	3,3 (2,1-5,8)	25 (100)	3,5 (2,5-4,9)
Eotaxin/ CCL11	24 (100)	148 (84,9-180,4) ↑*#	22 (100)	79,3 (63,3-117,1)	24 (100)	83,5 (84,9-180,4) ###	25 (100)	63,7 (45,3-108,4)
GRO-α	10 (42)	8,64 (5,0-19,4)	2 (9)	5 (4,8-5,2)	6 (25)	7,6 (4,6-10,0)	8 (32)	5,4 (4,6-5,7)
IL-8/ CXCL8	8 (33,3)	20 (8,0-24,6)	3 (13,6)	4,5 (3,9-5,5)	4 (16,7)	14,9 (5,5-27,2)	4 (16)	29,5 (6-53)
IP-10/ CXCL10	24 (100)	52,7 (24,9-63,0) ↑*#	22 (100)	19,6 (13,4-45,5)	24 (100)	27,1 (15,9-40,8) ###	25 (100)	20,4 (18,0-35,7)
MCP-1/ CCL2	24 (100)	40,4 (22,8-53,3)	22 (100)	60,3 (40,5-76,9)	24 (100)	60,3 (40,5-76,9)	25 (100)	46,7 (24,0-77,6)
MIP-1α/ CCL3	15** (62,5)	14,9 (10,00-3,22) ↑*#	10 (45,4)	5,8 (3,7-8,4)	12 (50)	7,8 (6-14) ###	6 (24)	2,1 (2,0-19,7)
MIP-1β/ CCL4	24 (100)	116,7 (81,2-158,7) ↑*#	22 (100)	83,8 (75,6-117,4)	24 (100)	87,1 (67,8-120,9)	25 (100)	81,1 (66,9-88,0)

Таблица 1 (окончание)
Table 1 (continued)

	Первая группа First group (n = 24)		**Вторая группа** Second group (n = 22)		**Третья группа** Third group (n = 24)		**Контрольная группа** Control group (n = 25)	
Цитокин, пг/мл Cytokine, pg/ml	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**
SDF-1α/ CXCL12	24 (100)	855,4 (657,8-1056,9) ↑**	22 (100)	478,7 (392,0-598,4) ↓*	24 (100)	536,9 (454,8-625,7) ###	25 (100)	599,5 (486,2-835,8)
RANTES/ CCL5	24 (100)	32,4 (18,9-88,9) #	22 (100)	17,8 (16,0-22,1) ↓*	24 (100)	20,4 (13,6-26,7) ↓*###	25 (100)	25 (17,0-51,4)
BDNF	24 (100)	229 (132,4-356,4)	22 (100)	263,6 (97,0-423,3)	23 (96)	323,9 (127,2-427,1)	25 (100)	276,3 (175,6-307,1)
EGF	20 (83,3)	17,6 (10,2-51,4)	21 (95,4)	34,3 (17,3-47,7)	23 (96)	45,9 (33,8-50,9) ↑*	25 (100)	25 (11,0-62,8)
HGF	24 (100)	247,3 (184,3-315,5)	22 (100)	240,5 (191,9-287,0) ##	24 (100)	284,3 (232,4-344,0) ↑*	25 (100)	220,9 (164,6-258,5)
LIF	10 (42)	6,9 (4,8-8,4)	21 (95,4)	5,61 (5,00-6,67) ##	18 (75)	7,6 (6,4-9,7)	17 (68)	7,6 (5,2-8,8)
PDGF-BB	24 (100)	114,4 (64,7-167,6) #	22 (100)	56 (37,8-83,8) ↓*	24 (100)	70,5 (42,8-102,8) ↓*	25 (100)	96,3 (76,1-172,8)
PIGF-1	19 (79)	24,8 (11,1-33,7)	20 (90,9)	24,6 (19,3-35,3)	22 (92)	26,3 (18,7-37,1)	23 (92)	16,7 (14,3-37,0)
SCF	18 (75)	7,3 (4,9-9,9)	22 (100)	7,2 (4,8-15,4)	24 (100)	8,5 (7,2-15,2)	23 (92)	6,2 (3,7-10,4)
VEGF-A	24 (100)	383,6 (245,6-707,8) ↑*	22 (100)	243,6 (177,3-521,2)	24 (100)	374,1 (270,3-464,7)	25 (100)	253,9 (176,2-370,9)
VEGF-D	–	–	4** (18,1)	7,3 (6,3-8,3)	2 (8)	22,5 (12,7-32,3)	–	

Примечание. n – количество проб; «–» – не определяется; * – достоверность отличия показателей относительно контрольной группы (p < 0,05); ** – достоверность частоты встречаемости показателей относительно контрольной группы (p < 0,05); # – достоверность отличия показателей между первой и второй группами (p < 0,05); ## – достоверность отличия показателей между второй и третьей группами (p < 0,05); ### – достоверность отличия показателей между первой и третьей группами (p < 0,05).

Note. n, number of samples; "–", not defined; *, reliability of the differences in indicators relative to control group (p < 0.05); **, reliability of the frequency of occurrence in indicators relative to control group (p < 0.05); #, reliability of the difference in indicators between the first and second groups (p < 0.05); ##, reliability of the difference in indicators between the second and third groups (p < 0.05); ###, reliability of the difference in indicators between the first and third groups (p < 0.05).

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЖ ПРИ АТРОФИЧЕСКОЙ И ВЛАЖНОЙ ФОРМАХ ВМД

TABLE 2. CONCENTRATION OF CYTOKINES IN LL IN ATROPHIC AND WET FORMS OF AMD

	Первая группа First group (n = 35)		**Вторая группа** Second group (n = 23)		**Третья группа** Third group (n = 27)		**Контрольная группа** Control group (n = 35)	
Цитокин, пг/мл Cytokine, pg/ml	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**
IL-1β	18 (51,4)	6,7 (4,9-8,4) ↑*	8 (34,7)	4,5 (4,1-7,0)	11 (40,7)	6,2 (5,2-8,7) ↑*	19 (54,2)	4 (4,0-5,6)
IL-2	24** (68,5)	38,9 (27,9-51,9) ↑*#	11** (47,8)	21,1 (15,9-39,0) ↑*	12** (44,4)	28,2 (25,0-37,7) ↑*	6 (17,1)	12,5 (11,4-13,6)
IL-18	17** (48,5)	49,5 (27,0-79,2)	8** (34,7)	42 (24,6-52,2)	9** (33,3)	69,9 (40-80)	–	–
IL-1ra	31** (88,5)	2369,4 (900,3-8506,2) ↑*#	19 (82,6)	726,6 (404,6-1327,1)	21 (77,7)	854,3 (655,2-1806,0) *##	24 (68,5)	542,2 (418,8-1540,9)
IL-7	32 (91,4)	47,5 (8,3-120,5) ↑*#	22 (95,6)	10,8 (4,5-36,7)	26 (96,2)	13,6 (3,6-27,6) *##	31 (88,5)	3,9 (3,6-24,3)
Eotaxin/ CCL11	34 (97,1)	5,8 (4,8-8,1) *	20 (86,9)	2,9 (2,0-5,2) ↓*	27 (100)	3 (2,4-5,7) ↓*##	31 (88,5)	6,2 (5,1-7,6)
GRO-α	31 (88,5)	31,3 (18,0-50,5)	20 (86,9)	23,3 (15,4-34,1) ##	24 (88,8)	38,7 (21,9-105,6)	31 (88,5)	42,9 (17,5-45,9)
IL-8/ CXCL8	32** (91,4)	142,4 (58,4-208,5) ↑*	21** (91,3)	69,3 (37,3-117,6) ↑*	25** (92,5)	68,5 (21,9-123,8) ↑*##	20 (57,1)	17,1 (13,0-45,6)
IP-10/ CXCL10	35 (100)	54,8 (22,6-147,2)	22 (95,6)	74,2 (44,0-132,2)	27 (100)	60 (36,4-118,2)	35 (100)	22,2 (19,0-161,2)
MCP-1/ CCL2	33 (94,2)	43,4 (26,3-119,1) ↑*	18 (78,2)	22 (12,4-80,6)	27 (100)	32,6 (21-85)	31 (88,5)	23 (6,7-51,9)
MIP-1α/ CCL3	4** (11,4)	12,6 (9,1-16,4)	2 (8,6)	8,5 (6,9-9,5)	4** (14,8)	34,6 (27,1-35,5)	–	–

Таблица 2 (окончание)
Table 2 (continued)

	Первая группа First group (n = 35)		**Вторая группа** Second group (n = 23)		**Третья группа** Third group (n = 27)		**Контрольная группа** Control group (n = 35)	
Цитокин, пг/мл Cytokine, pg/ml	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**	**Частота выявления, абс (%)** Detection rate, abs (%)	**Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)**
MIP-1β/ CCL4	30 (85,7)	61,8 (46,8-80,5) ↑*	18 (78,2)	57,6 (50,8-73,9) ↑*	26 (96,2)	65,5 (45,6-83,0) ↑*	31 (88,5)	28,6 (23,9-50,5)
SDF-1α/ CXCL12	26** (74,2)	573,8 (269,0-1198,9) ↑*	10 (43,4)	379,7 (270,8-911,5) ↑*	16 (59,2)	225,3 (126,1-625,7)	14 (40)	137,5 (93,5-278,4)
RANTES/ CCL5	31** (88,5)	13,9 (7,1-37,1) ↑*#	20** (86,9)	5,7 (2,7-8,7)	26** (96,2)	11,4 (3,9-18,1)	9 (25,7)	4,3 (2,8-4,3)
EGF	32 (91,4)	139,4 (92,9-265,3) ↑*#	22 (95,6)	88,1 (68,7-112,0) ↑*	27 (100)	80,1 (58,9-120,2) ↑*###	35 (100)	33,7 (23,7-45,8)
HGF	35 (100)	113,4 (72,8-195,5) ↑*	22 (95,6)	69,1 (47,0-200,1)	27 (100)	128,9 (83,2-292,8) ↑*	35 (100)	37,5 (36,4-81,2)
LIF	31** (88,5)	8,9 (7,3-14,0)	21** (91,3)	10,7 (6,2-13,7)	27** (100)	7,6 (6,1-12,2) ↓*	23 (65,7)	9,7 (8,1-20,2)
PDGF-BB	34 (97,1)	19,2 (11,9-28,7) ↓*	20 (86,9)	24,2 (12,8-37,4) ↓*	27 (100)	15 (10,6-34,6) ↓*	35 (100)	51,4 (31,7-84,2)
PIGF-1	22 (62,8)	11,5 (5,8-14,6)	17 (73,9)	10,6 (7,8-16,0)	20 (74)	10,2 (5,8-14,6)	21 (60)	8,3 (6,5-11,6)
SCF	9** (25,7)	2 (1,8-2,5)	3** (13,0)	1,4 (1,3-1,8)	4** (14,8)	1,7 (1,6-2,4)	–	–
VEGF-A	32 (91,4)	301,1 (135,2-606,2) ↑*	20 (86,9)	276,7 (148,3-531,3) ↑*	26 (96,2)	381,7 (136,4-705,5) ↑*	35 (100)	96,8 (40,6-341,0)

Примечание. См. примечание к таблице 1.
Note. As for Table 1.

ровых встречались IL-2, IL-18, IL-8/CXCL8, LIF, RANTES/CCL5 и SCF ($p < 0,05$) (табл. 2).

В этой же группе отмечались достоверные разнонаправленные изменения локальной продукции 8 из исследуемых цитокинов по сравнению с контролем: повышение содержания в СЖ IL-2, IL-8/CXCL8, MIP-1β/CCL4, SDF-1α/CXCL12, VEGF-A, EGF и снижение уровней Eotaxin/CCL11 и PDGF-BB ($p < 0,05$).

При тестировании СЖ пациентов с нативной ХНВ (III группа) 25 цитокинов: IL-1β, IL-1ra, IL-2, IL-7, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-18, IL-27, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MCP-1/CCL2, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11, GM-CSF, VEGF-A, FGF-2, EGF, PDGF-BB, HGF, Gro-α, LIF и PIGF-1 обнаруживались в 33,3-100% тест-проб. Достаточно редко, в 3,7-14,8% случаев определялись IL-1α, IL-4, IL-6, IL-10, IL-21, IL-31, IFNα, IFNγ, MIP-1α/CCL3, TNFα, VEGF-D и SCF. В этой группе частота встречаемости IL-1α, IL-2, IL-17A, IL-18, IL-27, IL-8/CXCL8, MIP-1α/CCL3, RANTES/CCL5, SCF, LIF была достоверно выше чем в контроле ($p < 0,05$) (табл. 2).

В СЖ пациентов III группы выявлены статистически значимые изменения в продукции 10 цитокинов относительно нормы: увеличение локальных уровней IL-1β, IL-2, IL-8/CXCL8, MIP-1β/CCL4, VEGF-A, HGF и EGF, при снижении концентраций Eotaxin/CCL11, PDGF-BB, LIF ($p < 0,05$).

При сравнительном анализе локального содержания медиаторов в исследуемых группах в СЖ больных I группы (ГА) было выявлено достоверное повышение уровней IL-1ra, IL-7 и Eotaxin/CCL11 ($p < 0,05$) по сравнению с таковыми во II-й (МА) и III-й (ХНВ) группах. Статистически значимые сдвиги в продукции 2 цитокинов отличали группы МА и ГА: так при МА обнаружено существенное ослабление локальной продукции IL-2 и EGF по сравнению с ГА ($p < 0,05$); при этом значительное снижение концентрации IL-8/CXCL8 относительного такового в I группе было определено СЖ пациентов с нативной влажной формой ВМД ($p < 0,05$) (табл. 2).

Обсуждение

ВМД, особенно поздние стадии заболевания, характеризующиеся развитием ХНВ и/или ГА, является наиболее распространенной причиной необратимой потери зрения у пожилых людей [13]. Несмотря на то, что этиология этого сложного заболевания до сих пор неизвестна, участие системных и локальных иммунологических механизмов связывают с патогенезом ВМД [14].

Исследования цитокинов, как важнейшего звена иммунорегуляции, проводились на разных стадиях ВМД, при этом работы, посвященные изучению отдельных клинических фенотипов поздней стадии заболевания, единичны, их данные достаточно противоречивы [17, 19, 20, 24, 28].

Отдельный интерес представляет МА, так как механизм формирования атрофических изменений на фоне влажной ВМД или присоединения ХНВ к атрофии не ясен и требует дальнейшего изучения [23].

IL-1, IL-2 и IL-6 – индуцибельные провоспалительные цитокины, из которых IL-2 вырабатывается Т-лимфоцитами и является медиатором специфического иммунного ответа [22]. В работе Roh M.I. и соавт. отмечен вклад IL-2, IL-6 и IL-8/CXCL8 в патогенез различных форм влажной ВМД. При нативной форме ХНВ авторами не отмечено достоверных сдвигов в концентрации данных цитокинов на локальном уровне по сравнению контролем, но при этом была обнаружены значимые корреляции уровней IL-6 и IL-8/CXCL8 с размером ХНВ пациентов групп с нативной и рецидивирующей ХНВ [21]. В нашем исследовании, напротив, уровень IL-2 был достоверно ниже в СК в группах с ГА и МА относительно контрольной группы. Значимой разницы между контролем и группой пациентов с влажной ВМД, ранее не получавших антиангиогенную терапию, при сравнении сывороточных концентраций IL-2 не наблюдалось. Однако в СЖ зафиксировано достоверное увеличение содержания IL-2 во всех группах относительно контроля ($p < 0,05$). Нами не отмечено изменений локальной и системной продукции IL-6 относительно нормы, что согласуется с данными научных публикаций по этой теме [21]. Значимых сдвигов IL-8/CXCL8 в СК пациентов основных групп не было обнаружено, однако в СЖ наблюдалось повышение уровня данного цитокина относительно контроля во всех исследуемых группах ($p > 0,05$) (табл. 2).

Несмотря на то, что роль VEGF-A и PDGF-BB в развитии патологического ангиогенеза не подлежит сомнению, участие данных факторов в механизмах формирования атрофической форм ВМД до конца не изучено.

Наши данные согласуются с исследованием Funk M. и соавт., в котором отмечено достоверное увеличение концентрации VEGF-A и уменьшение PDGF-BB на локальном уровне при влажной форме ВМД [8]. Аналогичные изменения в концентрации этих цитокинов мы наблюдали также в группах с МА и ГА ($p < 0,05$). В ходе проведенной работы нами также было обнаружено, что концентрация VEGF-A в СК пациентов с

влажной ВМД существенно не превышала таковую у здоровых. Анализ содержания вазоактивных факторов в СК показал достоверное увеличение концентрации VEGF-A в группе с ГА и снижение PDGF-BB во второй и третьей группах относительно контроля ($p < 0,05$).

Говоря о VEGF-A, следует отметить, что в нашем исследовании в 3,6-13,1% проб СЖ при поздней ВМД этот цитокин не был выявлен. Отсутствие локальной продукции VEGF-A в 13,1% случаев при МА можно объяснить применением антиангиогенных препаратов в данной группе, однако подобное наблюдение в 8,6% случаях при ГА позволяет думать о вероятной генетически детерминированной блокировке продукции медиатора и нуждается в дальнейшем исследовании, тем более, что в литературе встречается все больше доказательств его важнейшей нейропротекторной и трофической роли. Отсутствие VEGF-A в СЖ у 3,2% пациентов с влажной ВМД не исключает включения механизмов патологической неоваскуляризации, зависимых от активации других вазоактивных медиаторов с митогенным действием в отношении эндотелия сосудов.

Так, на сегодняшний день известно, что HGF принимает участие в ангиогенезе, росте, пролиферации и дифференцировке многих типов клеток [1]. В работе Jonas J.B. и соавт. были отмечены более высокие концентрации EGF и HGF в биологических жидкостях при влажной ВМД [11]. Эти результаты согласуются с данными нашего исследования, в котором были выявлены однонаправленные изменения локальной и системной продукции указанных факторов роста. В СЖ отмечалось значимое увеличение концентраций EGF в группах с МА и ГА, а также повышение уровня HGF в группе с ГА ($p < 0,05$).

В доступной литературе не было обнаружено данных об участии IL-1ra в патогенезе ВМД. Интересен тот факт, что результаты нашего исследования показывают достоверно высокий уровень цитокина IL-1ra в СК в группах с влажной ВМД, как нативных, так и на фоне антиангиогенной терапии по сравнению с контролем, а также значимое повышение уровня данного цитокина в первой группе на локальном уровне относительно контроля ($p < 0,05$).

Такая активная продукция в СК и СЖ HGF, EGF и IL-1ra, обнаруженная в 96%-100% проб, указывает на их непосредственное участие в патогенезе заболевания.

Как известно, хемокины, и в частности MCP-1/CCL2, играют центральную роль в развитии воспаления и играет решающую роль в регулировании миграции и инфильтрации моноцитов и макрофагов. Повышение внутриглазной концентрации MCP-1 в значительной степени связывают с влажной ВМД [7]. В нашей работе зафиксировано повышение уровня этого цитокина в СЖ пациентов с ГА. Следует отметить, что нами было обнаружено значимое увеличение содержания хемокинов в СК MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, SDF-1α/CXCL12 в группе с ГА и снижение уровня SDF-1α/CXCL12 в группе с МА. На локальном уровне отмечалось повышение уровня MIP-1β/CCL4 во всех группах и повышение концентрации SDF-1α/CXCL12 в СЖ в первой и второй группах ($p < 0,05$).

Данные литературы также свидетельствуют о повышении системной продукции Eotaxin/CCL11 и IP-10/CXCL10 на всех стадиях ВМД, в том числе при ГА и влажной форме ВМД [15]. IP-10/CXCL10 хорошо известен своей ангиостатической и антифибротической активностью. Он подавляет пролиферацию эндотелиальных клеток, конкурируя с клетками за связывающие участки гепарана сульфата протеогликанов, что приводит к регрессу формирования новых сосудов [2, 25]. Takeda A. и соавт. показали, что блокада Eotaxin/CCL11 эффективна при снижении ХНВ в мышиной модели, тем самым указывая на его ангиогенный характер [26].

В нашем исследовании Eotaxin/CCL11 и IP-10/CXCL10 были достоверно повышены только в СК пациентов ГА относительно контроля ($p < 0,05$). При этом на локальном уровне отмечалось снижение уровня Eotaxin/CCL11 во второй и третьей группах ($p < 0,05$). Значимого сдвига IP-10/CXCL10 в СЖ ни в одной из групп не наблюдалось.

IL-7 играет роль в повышении гомеостатической пролиферации и длительном выживании наивных Т-клеток [18]. Роль данного цитокина в патогенезе ВМД мало изучена. В ходе проведенной нами работы наблюдались значимые сдвиги в концентрации IL-7 в СЖ в группе с ГА относительно контроля фактически в 92% проб ($p < 0,05$). Достоверных сдвигов в системной продукции данного цитокина не обнаружено.

Заключение

Таким образом проведен скрининг широкой линейки цитокинов различного биологического действия в СК и СЖ пациентов с атрофической и влажной формами ВМД.

Показано, что поздние стадии заболевания ассоциируются с локальными и системными нарушениями в звеньях про-/противовоспалительных медиаторов (IL-1β, IL-1ra, IL-18, LIF), хемоаттрактантных цитокинов (IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11), регуляторов гемопоэза (IL-7) и факторов роста с анги-

огенной активностью (EGF, HGF, PDGF-BB, VEGF-A).

Изменения концентраций ряда хемокинов: IP-10/CXCL10, SDF-1α/CXCL12, MIP-1α/CCL3, MIP-1β/CCL4, RANTES/CCL5 и Eotaxin/CCL11 ($p < 0,05$) в СК пациентов с атрофической и влажной формами ВМД, значимо отличающихся между собой могут представлять интерес для поиска биомаркеров, связанных с различными клиническими фенотипами заболевания, а также могут оказать помощь в разработке новых терапевтических стратегий лечения.

Список литературы / References

1. Нероев В.В., Балацкая Н.В., Новикова А.Ю., Рябина М.В., Илюхин П.А. Известные и малоизученные гемопоэтические и вазоактивные факторы роста при капиллярной гемангиоме сетчатки // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 5. С. 943-956. [Neroev V.V., Balatskaya N.V., Novikova A.Yu., Ryabina M.V., Ilyukhin P.A. Proven and less studied hematopoietic and vasoactive growth factors in retinal capillary hemangioma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2020, Vol. 22, no. 5, pp. 943-956.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-PAL-2002.

2. Нероев В.В., Зайцева О.В., Балацкая Н.В., Лазутова А.А. Локальная и системная продукция 45 цитокинов при осложненной пролиферативной диабетической ретинопатии // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 2. С. 301-310. [Neroev V.V., Zaytseva O.V., Balatskaya N.V., Lazutova A.A. Local and systemic production of 45 cytokines in complicated proliferative diabetic retinopaty. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2020, Vol. 22, no. 2, pp. 301-310.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-LAS-1802.

3. Age-related eye disease study research group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Arch. Ophthalmol., 2001, Vol. 119, no. 10, pp. 1417-1436.*

4. Bhisitkul R.B., Mendes T.S., Rofagha S., Enanoria W., Boyer D.S., Sadda S.R., Zhang K. Macular atrophy progression and 7-year vision outcomes in subjects from the ANCHOR, MARINA, and HORIZON studies: the SEVEN-UP study. *Am. J. Ophthalmol., 2015, Vol. 159, no. 5, pp. 915-924.e2.*

5. Bhutto I., Lutty G. Understanding age-related macular degeneration (AMD): relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex. *Mol. Aspects Med., 2012, Vol. 33, no. 4, pp. 295-317.*

6. Chew E.Y., Clemons T.E., Agrón E., Sperduto R.D., Sangiovanni J.P., Kurinij N., Davis M.D., Age-related eye disease study research group. Long-term effects of vitamins C and E, beta-carotene, and zinc on age-related macular degeneration: AREDS report no. 35. *Ophthalmology, 2013, Vol. 120, no. 8, pp. 1604-1611.e4.*

7. Du Z., Wu X., Song M., Li P., Wang L. Oxidative damage induces MCP-1 secretion and macrophage aggregation in age-related macular degeneration (AMD). *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 2016, Vol. 254, no. 12, pp. 2469-2476.*

8. Funk M., Karl D., Georgopoulos M., Benesch T., Sacu S., Polak K., Zlabinger G.J., Schmidt-Erfurth U. Neovascular age-related macular degeneration: intraocular cytokines and growth factors and the influence of therapy with ranibizumab. *Ophthalmology, 2009, Vol. 116, no. 12, pp. 2393-2399.*

9. Horani M., Mahmood S., Aslam T.M. A Review of macular atrophy of the retinal pigment epithelium in patients with neovascular age-related macular degeneration: What is the link? Part II. *Ophthalmol. Ther., 2020, Vol. 9, no. 1, pp. 35-75.*

10. Horani M., Mahmood S., Aslam T.M. Macular atrophy of the retinal pigment epithelium in patients with neovascular age-related macular degeneration: What is the link? Part I: A review of disease characterization and morphological associations. *Ophthalmol. Ther., 2019, Vol. 8, no. 2, pp. 235-249.*

11. Jonas J.B., Tao Y., Neumaier M., Findeisen P. Cytokine concentration in aqueous humour of eyes with exudative age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol., 2012, Vol. 90, no. 5, pp. e381-e388.*

12. Lee J.M., Bae H.W., Lee S.Y., Seong G.J., Kim C.Y. Effect of anti-vascular endothelial growth factor antibody on the survival of cultured retinal ganglion cells. *Korean J. Ophthalmol., 2017, Vol. 31, no. 4, pp. 360-365.*

13. Lim L.S., Mitchell P., Seddon J.M., Holz F.G., Wong T.Y. Age-related macular degeneration. *Lancet, 2012, Vol. 379, no. 9827, pp. 1728-1738.*

14. Liu F., Ding X., Yang Y., Li J., Tang M., Yuan M., Hu A., Zhan Z., Li Z., Lu, L. Aqueous humor cytokine profiling in patients with wet AMD. *Mol. Vis., 2016, Vol. 22, pp. 352-361.*

15. Mo F.M., Proia A.D., Johnson W.H., Cyr D., Lashkari K. Interferon gamma-inducible protein-10 (IP-10) and eotaxin as biomarkers in age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2010, Vol. 51, no. 8, pp. 4226-4236.*

16. Munk M.R., Ceklic L., Ebneter A., Huf W., Wolf S., Zinkernagel M.S. Macular atrophy in patients with long-term anti-VEGF treatment for neovascular age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol., 2016, Vol. 94, no. 8, pp. e757-e764. 7*

17. Patel M., Chan C.C. Immunopathological aspects of age-related macular degeneration. *Semin. Immunopathol., 2008, Vol. 30, no. 2, pp. 97-110.*

18. Pongsachareonnont P., Mak M.Y.K., Hurst C.P., Lam W.C. Neovascular age-related macular degeneration: intraocular inflammatory cytokines in the poor responder to ranibizumab treatment. *Clin. Ophthalmol., 2018, Vol. 12, pp. 1877-1885.*

19. Pugazhendhi A., Hubbell M., Jairam P., Ambati B. Neovascular macular degeneration: a review of etiology, risk factors, and recent advances in research and therapy. *Int. J. Mol. Sci., 2021, Vol. 22, no. 3, 1170.* doi: 10.3390/ijms22031170.

20. Rezar-Dreindl S., Sacu S., Eibenberger K., Pollreisz A., Bühl W., Georgopoulos M., Krall C., Weigert G., Schmidt-Erfurth U. The intraocular cytokine profile and therapeutic response in persistent neovascular age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2016, Vol. 57, no. 10, pp. 4144-4150.*

21. Roh M.I., Kim H.S., Song J.H., Lim J.B., Koh H.J., Kwon O.W. Concentration of cytokines in the aqueous humor of patients with naive, recurrent and regressed CNV associated with amd after bevacizumab treatment. *Retina, 2009 Vol. 29, no. 4, pp. 523-529.*

22. Sakamoto S., Takahashi H., Tan X., Inoue Y., Nomura Y., Arai Y., Fujino Y., Kawashima H., Yanagi Y. Changes in multiple cytokine concentrations in the aqueous humour of neovascular age-related macular degeneration after 2 months of ranibizumab therapy. *Br. J. Ophthalmol., 2018, Vol. 102, no. 4, pp. 448-454.*

23. Siedlecki J., Fischer C., Schworm B., Kreutzer T.C., Luft N., Kortuem K.U., Schumann R.G., Wolf A., Priglinger S.G. Impact of sub-retinal fluid on the long-term incidence of macular atrophy in neovascular age-related macular degeneration under treat & extend anti-vascular endothelial growth factor inhibitors. *Sci. Rep., 2020, Vol. 10, no. 1, 8036.* doi: 10.1038/s41598-020-64901-9.

24. Spindler J., Zandi S., Pfister I.B., Gerhardt C., Garweg J.G. Cytokine profiles in the aqueous humor and serum of patients with dry and treated wet age-related macular degeneration. *PLoS One, 2018, Vol. 13, no. 8, e0203337.* doi: 10.1371/journal.pone.0203337.

25. Tager A.M., Kradin R.L., LaCamera P., Bercury S.D., Campanella G.S., Leary C.P., Polosukhin V., Zhao L.H., Sakamoto H., Blackwell T.S., Luster A.D. Inhibition of pulmonary fibrosis by the chemokine IP-10/CXCL10. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 2004, Vol. 31, no 4, pp. 395-404.*

26. Takeda A., Baffi J.Z., Kleinman M.E., Cho W.G., Nozaki M., Yamada K., Kaneko H., Albuquerque R.J., Dridi S., Saito K., Raisler B.J., Budd S.J., Geisen P., Munitz A., Ambati B.K., Green M.G., Ishibashi T., Wright J.D., Humbles A.A., Gerard C.J., Ogura Y., Pan Y., Smith J.R., Grisanti S., Hartnett M.E., Rothenberg M.E., Ambati J. CCR3 is a target for age-related macular degeneration diagnosis and therapy. *Nature, 2009, Vol. 460, no. 7252, pp. 225-230.*

27. Wang P., Wang J., Ma J., Jin G., Guan X. The association between age-related macular degeneration and the risk of mortality. *Biomed Res. Int., 2017, Vol. 2017, 3489603.* doi: 10.1155/2017/3489603.

28. Zhou H., Zhao X., Yuan M., Chen Y. Comparison of cytokine levels in the aqueous humor of polypoidal choroidal vasculopathy and neovascular age-related macular degeneration patients. *BMC Ophthalmol., 2020, Vol. 20, no. 1, 15.* doi: 10.1186/s12886-019-1278-8.

Авторы:

Нероев В.В. *– д.м.н., профессор, академик РАН, начальник отдела патологии сетчатки и зрительного нерва, директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Балацкая Н.В. *– к.б.н., ведущий научный сотрудник, начальник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Нероева Н.В. *– к.м.н., врач-офтальмолог отдела патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Authors:

Neroev V.V.*, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Department of Retinal and Optic Nerve Pathology, Director, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Balatskaya N.V.*, PhD (Biology), Leading Research Associate, Head, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Neroeva N.V.*, PhD (Medicine), Clinical Ophthalmologist, Department of Retinal and Optic Nerve Pathology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Кармокова А.Г. *– аспирант отдела патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Рябина М.В. *– к.м.н., врач-офтальмолог, старший научный сотрудник отдела патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Куликова И.Г. *– старший научный сотрудник отдела отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия*

Karmokova A.G., *Postgraduate Student, Department of Retinal and Optic Nerve Pathology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Ryabina M.V., *PhD (Medicine), Clinical Ophthalmologist, Senior Research Associate, Department of Retinal and Optic Nerve Pathology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Kulikova I.G., *Senior Research Associate, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation*

Поступила 29.04.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 29.04.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 171-180
© 2022, СПб РО РААКИ

Оригинальные статьи
Original articles

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 171-180
© 2022, SPb RAACI

ВЛИЯНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ НА РИГИДНОСТЬ МЕМБРАНЫ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ

Абакумова Т.В.[1], Генинг Т.П.[1], Генинг С.О.[1], Антонеева И.И.[1, 2], Песков А.Б.[1]

[1] *ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия*
[2] *ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» г. Ульяновск, Россия*

Резюме. Праймирование и активация при участии цитокинов вызывают в нейтрофилах (Нф) транзиторные реакции полимеризации актина, расширение и размягчение клеток, изменение рецепторного статуса, способности к фагоцитозу и генерации внеклеточных ловушек (NET), что, в конечном счете, определяет про- или противоопухолевый фенотип Нф.

С целью оценки влияния провоспалительных цитокинов на ригидность мембраны и морфофункциональное состояние нейтрофилов при доброкачественных опухолях и раке яичников методом ИФА оценивали уровень циркулирующих цитокинов (IL-2, IL-18, MCP-1, TIMP-1), экспрессию маркеров адгезии (CD11b), дегрануляции (CD63), рецепторов FcγRIIIb, способствующих фагоцитозу (CD16). Определяли способность нейтрофилов к фагоцитозу и к образованию NET. Статистическую обработку полученных данных проводили с использование ПО Statistica 13.0, Jamovi 1.6.5.0.

Установлено повышение ригидности мембраны при доброкачественных и злокачественных опухолях яичников. При доброкачественных опухолях яичников повышена фагоцитарная активность и экспрессия CD11b. При раке яичников увеличивается количество $CD11b^+$Нф и $CD63^+$Нф. При этом, на начальной стадии преобладает способность образовывать NET, а фагоцитарная активность повышается при распространенном раке яичников. Уровень сывороточного MCP-1 повышен при доброкачественных опухолях яичников. IL-2 повышен на начальной стадии и при распространенном раке яичников. Уровень IL-18 и TIMP-1 в сыворотке пациентов с доброкачественными опухолями яичников в пределах коридора нормы. С помощью множественной регрессии при доброкачественных опухолях яичников выявлена зависимость ригидности мембраны нейтрофилов от уровня циркулирующих IL-2, TIMP-1, MCP-1, IL-18, и прямая корреляционная связь ригидности мембраны нейтрофилов с экспрессией CD11b. На ригидность мембраны нейтрофилов при раке яичников оказывает

Адрес для переписки:
Абакумова Татьяна Владимировна
ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»
432017, Россия, г. Ульяновск, ул. Архитектора Ливчака, 2.
Тел./факс: 8 (8422) 32-70-71.
E-mail: taty-abakumova@yandex.ru

Address for correspondence:
Abakumova Tatyana V.
Ulyanovsk State University
432017, Russian Federation, Ulyanovsk, Arch. Livchak str., 2.
Phone/fax: 7 (8422) 32-70-71.
E-mail: taty-abakumova@yandex.ru

Образец цитирования:
Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, С.О. Генинг, И.И. Антонеева, А.Б. Песков «Влияние провоспалительных цитокинов на ригидность мембраны и морфофункциональное состояние циркулирующих нейтрофилов при опухолях яичников» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 171-180. doi: 10.15789/1563-0625-IOP-2333

© Абакумова Т.В. и соавт., 2022

For citation:
T.V. Abakumova, T.P. Gening, S.O. Gening, I.I. Antoneeva, A.B. Peskov "Influence of proinflammatory cytokines on membrane rigidity and morphofunctional state of circulating neutrophils in ovarian tumors", 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 171-180.
doi: 10.15789/1563-0625-IOP-2333
DOI: 10.15789/1563-0625-IOP-2333

влияние только IL-2. При этом ригидность мембраны нейтрофилов прямо коррелирует с экспрессией CD16, CD63, с фагоцитарным индексом и обратно коррелирует с числом ловушек.

Комбинация показателей IL-2, MCP-1 и ригидности мембраны циркулирующих нейтрофилов (по результатам мультивариантного анализа) может быть использована для дифференциальной диагностики рака яичника.

Таким образом, при доброкачественных опухолях яичников циркулирующие провоспалительные цитокины вызывают увеличение ригидности мембраны нейтрофилов и увеличение их адгезионных способностей. При раке яичников только IL-2 влияет на ригидность циркулирующих Нф, повышение которой сопровождается усилением фагоцитарной активности и снижением способности образовывать NET.

Ключевые слова: рак яичников, доброкачественная опухоль яичников, нейтрофилы, ригидность мембраны, IL-2, IL-18, MCP-1, TIMP-1

INFLUENCE OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES ON MEMBRANE RIGIDITY AND MORPHOFUNCTIONAL STATE OF CIRCULATING NEUTROPHILS IN OVARIAN TUMORS

Abakumova T.V.[a], Gening T.P.[a], Gening S.O.[a], Antoneeva I.I.[a, b], Peskov A.B.[a]

[a] *Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation*
[b] *Regional Center of Clinical Oncology, Ulyanovsk, Russian Federation*

Abstract. Priming and activation mediated by cytokines cause transient reactions of actin polymerization in neutrophils (Nph), expansion and softening of cells, changes in receptor status, phagocytic ability, and generation of extracellular traps (NET), thus ultimately determining pro- or antitumor phenotype of Nph. To assess the effects of pro-inflammatory cytokines on membrane rigidity and morphofunctional state of neutrophils in benign tumors and ovarian cancer, the levels of circulating cytokines (IL-2, IL-18, MCP-1, TIMP-1), expression of adhesion markers (CD11b), degranulation (CD63), as well as FcγRIIIb receptors promoting phagocytosis (CD16). Ability of neutrophils to phagocytosis and the formation of NET was determined. Statistical evaluation of the data obtained was carried out using Statistica 13.0, Jamovi 1.6.5.0 software. An increase in membrane rigidity was found in benign and malignant ovarian tumors. In benign ovarian tumors, phagocytic activity and expression of CD11b were enhanced. In ovarian cancer, the number of $CD11b^+$Nph and $CD63^+$Nph were increased. Meaanwhile, at initial cancer stage, the ability to form NET predominates, and phagocytic activity increases with advancing ovarian cancer. Serum MCP-1 levels are elevated in benign tumors and at all stages of ovarian cancer. IL-2 is elevated at early stage and in advanced ovarian cancer. The level of IL-18 and TIMP-1 in the serum of patients with benign ovarian tumor did not differ significantly from the norm. Using multiple regression approach, the dependence of neutrophil membrane rigidity on the levels of circulating IL-2, TIMP-1, MCP-1, IL-18 was revealed in benign ovarian tumors, and a direct correlation was found between the neutrophil membrane rigidity and CD11b expression. Only IL-2 was associated with neutrophil membrane rigidity in ovarian cancer. At the same time, the rigidity of the neutrophil membrane directly correlated with CD16, CD63, expression like as with phagocytic index and inversely correlates with the number of traps. A combination of IL-2, MCP-1 and membrane rigidity of circulating neutrophils (based on multivariate analysis) could be used for differential diagnosis of ovarian cancer. Thus, in a benign ovarian tumor, circulating proinflammatory cytokines are associated with increased rigidity of neutrophil membrane and increase in their adhesion capacity. In ovarian cancer, only IL-2 is associated with altered rigidity of circulating neutrophils. Increase of the latter index is accompanied by elevated phagocytic activity and decreased ability to form NET.

Keywords: ovarian cancer, benign ovarian tumor, neutrophils, membrane rigidity, IL-2, IL-18, MCP-1, TIMP-1

Введение

Клетки обладают широким спектром нелинейно-упругих и неупругих свойств, которые определяются механическими характеристиками клеточных компонентов [11]. Биомеханические свойства мембраны нейтрофилов (Нф) важны при морфогенезе, цитокинезе и миграции, и влияют на их способность к проникновению через стенку сосуда, что определяет их роль в канцерогенезе [4]. Прайминг и активация вызывают в Нф характерные физиологические перестройки, заключающиеся в транзиторной реакции полимеризации актина, расширение и размягчение клеток [3]. Показано участие ряда провоспалительных цитокинов в праймировании циркулирующих Нф [10, 18, 21].Так установлено повышение у Нф, стимулированных IL-18, способности к образованию внеклеточных ловушек (NET) и экспрессии CD11b [9]. Известна способность IL-2, используемого в химиотерапии рака, рекрутировать Нф в легкие [14], влиять на пролиферацию, активацию, дифференцировку и выживание иммунных клеток [19]. Показано in vitro влияние MCP-1/CCL2 на рекрутирование Нф [7]. С другой стороны MCP-1 влияет на жесткость клеток эпителия сетчатки [23]. Повышение уровня циркулирующего TIMP-1 в эксперименте вызывает нейтрофилию. Цитокин реализует влияние на гомеостаз Нф через CD63 [12]. Активация нейтрофилов приводит к фагоцитозу, стимуляции продукции активных форм кислорода (АФК), дегрануляции и генерации NET [2].

Цель исследования – оценить влияние провоспалительных цитокинов на ригидность мембраны и морфофункциональное состояние циркулирующих нейтрофилов при опухолях яичников.

Материалы и методы

Обследовали 97 больных раком яичников (РЯ) I-IV стадии по FIGO, 30 больных с доброкачественными опухолями яичников (ДОЯ) и контрольную группу (n = 22) (табл.1).

Уровень TIMP-1 (eBioscience, Австрия) и IL-2, IL-18, MCP-1 («Вектор-Бест-Волга», Россия) в сыворотке (пг/мл) оценивали с помощью ИФА.

Нейтрофилы выделяли из 5 мл гепаринизированной крови в двойном градиенте плотности фиколл-урографина (1.117 и 1.077 г/мл). Нативные Нф сканировали, используя микроскоп SolverPro (NT-MDT, г. Зеленоград). Использовали зонды с жесткостью 0,3 N/m, радиус закругления кончика зонда составлял 10 nm.

Для оценки жесткости мембран использовали режим спектроскопии. Ригидность мембраны оценивалась по модулю Юнга, который рассчитывали согласно теории Герца [16].

Методом флуоресцентной микроскопии (Nikon Ni-U), с использованием моноклональных антител CD11b, CD16, CD64 (ООО «Сорбент», Москва), меченных FITC, определяли количество антиген позитивных клеток (% флуоресцирующих клеток при просматривании 100 Нф).

Изучение фагоцитарной активности Нф проводили путем количественного определения поглотительной и переваривающей способности Нф при 30 мин инкубации с *Saccharomyces cervisiae*. Рассчитывали фагоцитарный индекс (ФИ) – процент нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе от общего их количества (%).

Для определения NET, нейтрофилы, выделенные из периферической крови, окрашивали с помощью 0,04% раствора акридинового оранжевого по методу Долгушина И.И. и соавт. (2010). Образование внеклеточных ловушек оценивали после инкубации Нф с выбранной нами в качестве индуктора суточной культурой *Saccharomyces cerevisiae*. Полученные результаты оценивали на флуоресцентном микроскопе, используя при этом фильтры, которые обеспечивают возбуждающий свет с длиной волны не более 490 нм и эмиссию с длинной волны 520 нм. Высчитывали число нейтрофильных ловушек (%) – количество нейтрофильных ловушек, содержащих дрожжевые клетки, из 100 подсчитанных сетеподобных структур. От всех пациенток получено информированное добровольное согласие. Статистическую обработку производили с использованием one-way ANOVA, корреляцию независимых показателей по Спирмену (Statistica 13.0 (TIBCO, США)). Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, также представленных количественными показателями, разрабатывали с помощью методов парной или множественной линейной регрессии. В качестве показателя силы связи использовали линейный коэффициент корреляции F. Для оценки качества подбора линейной функции рассчитывали квадрат линейного коэффициента корреляции R^2. Построение прогностической модели риска исхода злокачественного новообразования выполнялось при помощи метода бинарной логистической регрессии. Статистическая значимость полученной модели определялась с помощью критерия χ^2. Качество прогностической модели, полученной с помощью ROC-анализа, оценивалось исходя из значений площади под ROC-кривой со стандартной ошибкой и 95% доверительным интер-

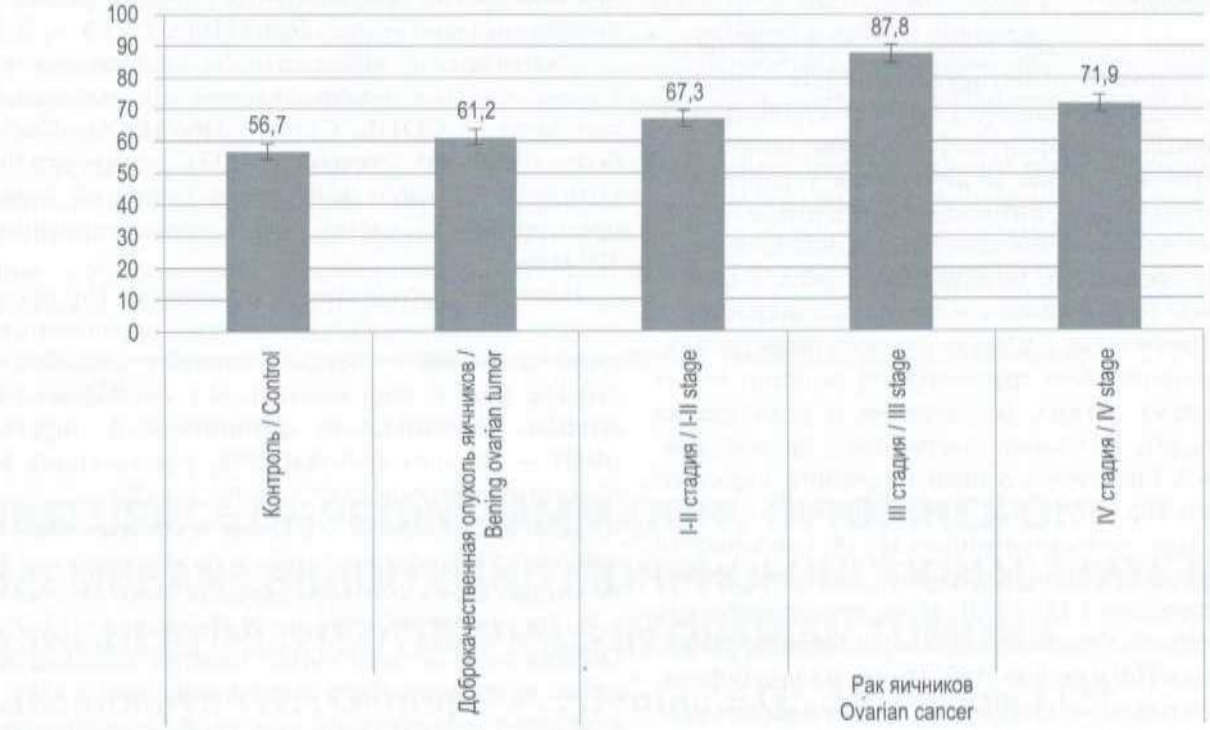


Рисунок 1. Ригидность мембраны нейтрофилов (МПа) при доброкачественных и злокачественных опухолях яичников

Figure 1. Rigidity of the neutrophil membrane (MPa) in benign and malignant ovarian tumors

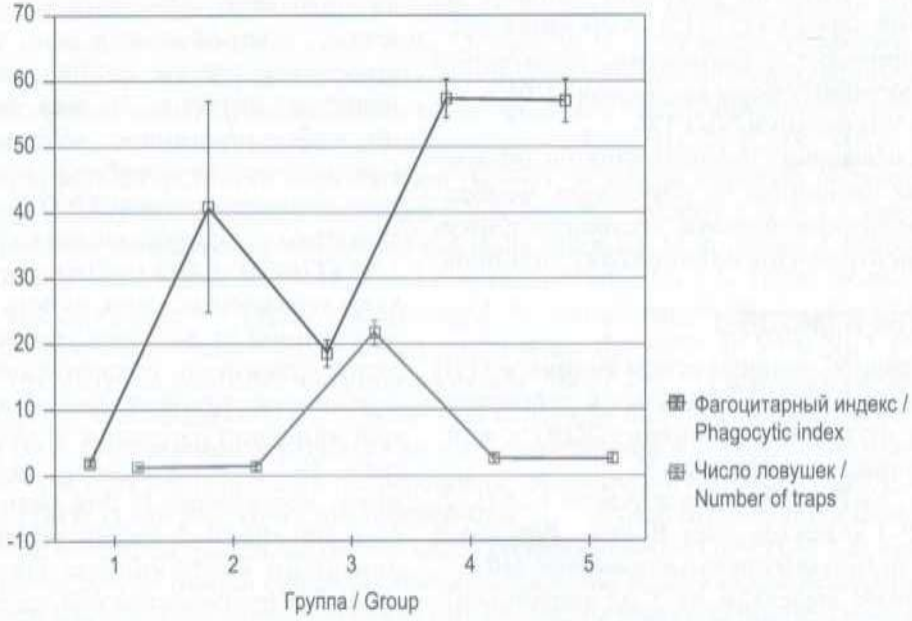


Рисунок 2. Количество нейтрофилов, способных к фагоцитозу (фагоцитарный индекс) и количество NET (число ловушек) при доброкачественных опухолях и на разных стадиях рака яичников

Примечание. 1 – контроль, 2 – доброкачественная опухоль яичников, 3 – I-II стадия рака яичников, 4 – III стадия рака яичников, 5 – IV стадия рака яичников 100 v × 100 c. Среднее; Отрезок: среднее ± 0,95 дов. интервал.

Figure 2. Number of neutrophils capable of phagocytosis (phagocytic index) and the number of NET (the number of traps) in benign tumors and at different stages of ovarian cancer

Note. 1, control; 2, benign ovarian tumors; 3, stage I-II ovarian cancer; 4, stage III ovarian cancer; 5, IV stage ovarian cancer 100 v × 100 c. The average; bar – Mean±0.95 confidence interval.

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОК, ВКЛЮЧЕННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ

TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS INCLUDED IN THE STUDY

Группа Group	**Клиническая характеристика** Clinical characteristics	**Значение** significance
Доброкачественная опухоль яичников Benign ovarian tumor n = 15	**Возраст – Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), лет** Age, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), years	54 (49-59)
	Уровень CA-125 при поступлении – Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), Ед/мл CA-125 level at admission, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), U/ml	10 (6-119)
Рак яичников Ovarian cancer n = 58	**Возраст – Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), лет** Age, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), years	60 (53-65)
	Уровень CA-125 при поступлении – Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), Ед/мл CA-125 level at admission, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), U/ml	352 (142-611)
	Стадия по классификации FIGO FIGO stage	
	– I, n (%)	8 (13,8)
	– II, n (%)	8 (13,8)
	– III, n (%)	24 (41,4)
	– IV, n (%)	18 (31,0)
	Наличие асцита при поступлении Presence of ascites on admission	
	– да, n (%) – yes, n (%)	14 (24,1)
	– нет, n (%) – no, n (%)	44 (75,9)
	Гистологический подтип Histological subtype	
	– серозный high-grade, n (%) – serous high-grade, n (%)	42 (72,4)
	– муцинозный, n (%) – mucinous, n (%)	1 (1,7)
	– эндометриоидный, n (%) – endometrioid, n (%)	5 (8,6)
	– светлоклеточный, n (%) – ovarian clear cell carcinoma, n (%)	2 (3,4)
	– недифференцированный, n (%) – undifferentiated, n (%)	8 (13,8)

Примечание. Me – медиана, ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$) – интерквартильный размах.

Note. Me, median; ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$), interquartile range.

валом (ДИ) и уровня статистической значимости (Jamovi 1.6.5.0).

Результаты

Нами установлено значимое повышение ригидности мембраны Нф по сравнению с контролем при ДОЯ и на разных стадиях РЯ ($p_{доя} = 0,0001$, $p_{I-II} = 0,0096$, $p_{IV} = 0,0005$) (рис. 1).

При этом у пациентов с III стадией РЯ ригидность мембраны выше, чем в контроле и при ДОЯ ($p_1 = 0,0001$ и $p_2 = 0,0001$) (рис. 1).

Нф обладают мощным рецепторным аппаратом, обеспечивающим связь между собой, с клетками эндотелия, эпителия, клетками иммунной системы и различными тканями. К ним относятся рецепторы адгезии (CD11b (CR3)) [22], рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулинов (FcγRIII (CD16)) [8]. Праймирование и активация Нф вызывают увеличение экспрессии интегринов CD11/CD18 [6]. Фагоцитарную функцию Нф выполняют при участии ферментов цитоплазматических гранул. Маркером азурофильных гранул является CD63, который экспрессируется после активации Нф цитокинами [7]. Повышение количества $CD63^+$Нф наблюдалось на III стадии РЯ по сравнению с группой контроля ($p = 0,0328$), и тенденция к снижению на I-II стадии по сравнению с доброкачественными опухолями ($p = 0,0754$) (табл. 2).

При оценке фенотипа Нф циркулирующей крови было обнаружено увеличение количества $CD11b^+$Нф, способных к повышенной адгезии при ДОЯ ($p = 0,0077$) и на всех стадиях РЯ по сравнению с контрольной группой ($p_{I-II} = 0,0069$, $p_{III} = 0,0218$, $p_{IV} = 0,0069$). При прогрессировании РЯ количество $CD11b^+$Нф статистически значимо не изменялось по сравнению с аналогичным в группе с ДОЯ ($p_{I-II} = 0,4185$, $p_{III} = 0,1763$, $p_{IV} = 0,5754$). Количество $CD16^+$Нф при доброкачественных опухолях яичников и на начальных стадиях РЯ находилось в пределах коридора нормы ($p = 0,9989$). А на III и IV стадиях РЯ

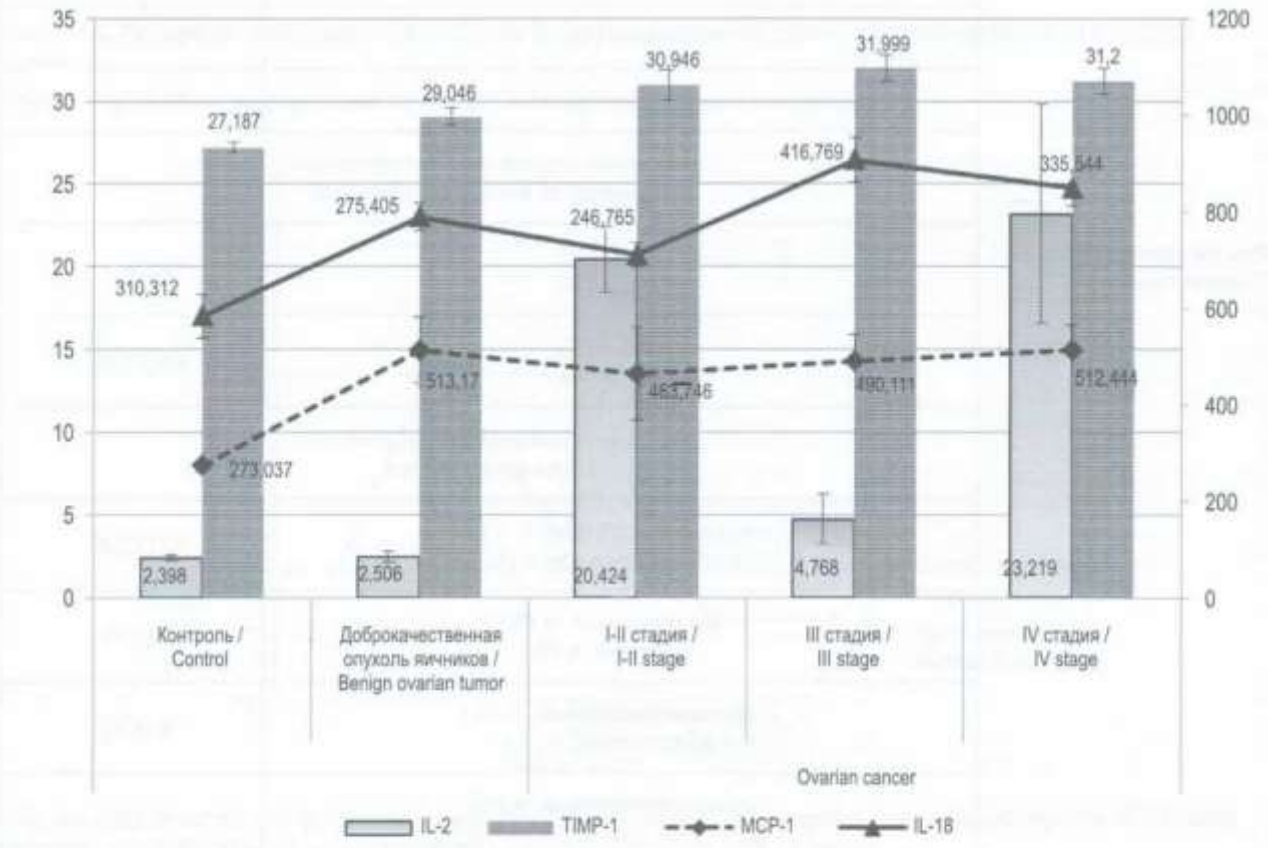


Рисунок 3. Уровень сывороточных цитокинов (пг/мл), влияющих на ригидность мембраны нейтрофилов при доброкачественных опухолях яичников

Figure 3. Level of serum cytokines (pg/ml) affecting the rigidity of the neutrophil membrane in benign ovarian tumor and ovarian cancer

ТАБЛИЦА 2. КОЛИЧЕСТВО НЕЙТРОФИЛОВ С РАЗЛИЧНЫМ ФЕНОТИПОМ ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ И НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ РАКА ЯИЧНИКОВ

TABLE 2. NUMBER OF NEUTROPHILS WITH DIFFERENT PHENOTYPES IN BENIGN OVARIAN TUMORS AND AT DIFFERENT STAGES OF OVARIAN CANCER

Группа / Group; Показатели / Indicators	**Контроль** Control n = 22	**Доброкачественная опухоль яичников** Benign ovarian tumor n = 15	**I-II стадия РЯ** I-II stage OC n = 17	**III стадия РЯ** III stage OC n = 26	**IV стадия РЯ** IV stage OC n = 20
$CD11b^+$,%	60,40±7,76	95,60±3,92*	98,80±0,53*	92,00±3,49*	93,00±1,00*
$CD16^+$,%	98,90±0,74	99,60±0,40	99,00±0,44	94,80±1,76*	94,00±6,00*#
$CD63^+$,%	34,90±7,38	52,00±12,66	40,44±1,26	60,22±11,26*	52,80±4,88

Примечание. * – данные статистически значимо отличаются от аналогичных в группе контроля; # – данные статистически значимо отличаются от аналогичных в группе с доброкачественными опухолями яичников.

Note. *, the data are statistically significantly different from those in the control group; #, the data are statistically significantly different from those in the group with benign ovarian tumors.

значимо снижалось по сравнению с контролем ($p_1 = 0,0279$ и $p_2 = 0,0284$).

В результате проведенного исследования при ДОЯ не выявлено значимых изменений показателей фагоцитоза и NET по сравнению с контрольной группой (рис. 2).

На начальной стадии РЯ наблюдалось статистически значимое снижение фагоцитарной активности ($p = 0,0281$) и повышение числа NET по сравнению с ДОЯ ($p = 0,0001$). На III и IV стадиях РЯ заметно повышалась фагоцитарная активность ($p_1 = 0,0001$ и $p_2 = 0,0001$) и ЧЛ ($p_1 = 0,0021$ и $p_2 = 0,0012$) по сравнению с аналогичными показателями на I-II стадии РЯ (рис. 2). Но при этом снижалась способность нейтрофилов образовывать NET ($p_1 = 0,0035$ и $p_2 = 0,0512$).

При ДОЯ уровень MCP-1 в сыворотке пациентов с ДОЯ и на различных стадиях РЯ значимо повышен по сравнению с контролем ($p_{ДОЯ} = 0,0002$, $p_{I-II} = 0,0310$, $p_{III} = 0,0012$, $p_{IV} = 0,0005$) (рис. 3).

Уровень сывороточного IL-2 при ДОЯ значимо не отличается ($p = 0,7631$) от контроля. На начальных стадиях РЯ ($p_{1,2} = 0,0001$) и при распространенном РЯ ($p_1 = 0,0020$ и $p_2 = 0,0108$) уровень IL-2 выше такового в контроле и при ДОЯ (рис. 3). Значимых изменений IL-18 при ДОЯ ($p = 0,5578$) и РЯ ($p_{I-II} = 0,2578$, $p_{III} = 0,1045$, $p_{IV} = 0,6668$) по сравнению с контролем не наблюдается, однако на III стадии РЯ уровень IL-18 в сыворотке повышается относительно такового при ДОЯ ($p = 0,0283$) и начальной стадии РЯ ($p = 0,0057$) (рис. 3). Уровень циркулирующего TIMP-1 при ДОЯ и РЯ находится в пределах коридора нормы (рис. 3).

Обсуждение

Согласно немногочисленным данным литературы, повышение жесткости мембраны Нф имело место при ряде патологических состояний. Так, при анализе результатов атомно-силовой спектроскопии выявлено увеличение жесткости мембран нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ [1]. По результатам исследований Плесковой С.Н. и соавт. (2020), жесткость мембраны и сила адгезии нейтрофилов снижается под влиянием *Staphylococcus aureus* [17], а увеличение жесткости мембраны проявляется при мумификации нейтрофилов [16]. Под действием IL-2 наблюдается увеличение жесткости и снижение функциональной активности NK-клеток [13]. Опосредованное повышение ригидности мембраны Нф и их готовность к хемотаксису при сепсисе может привести к секвестрации этих клеток в капиллярах и последующему нарушению микрососудистой перфузии [6]. Повышенная ригидность Нф наблюдается у ВИЧ-инфицированных с тяжелой иммуносупрессией [8].

В нашем исследовании при ДОЯ методом множественного регрессионного анализа выявлено влияние циркулирующих IL-2, TIMP-1, MCP-1, IL-18 на увеличение ригидности мембраны Нф ($F(4.10) = 9,6878$, $p = 0,0018$, $R^2 = 0,7128$).

При ДОЯ прямая заметная корреляционная связь между ригидностью мембраны нейтрофилов и экспрессией CD11b ($r = 0,5254$, $p = 0,0442$),

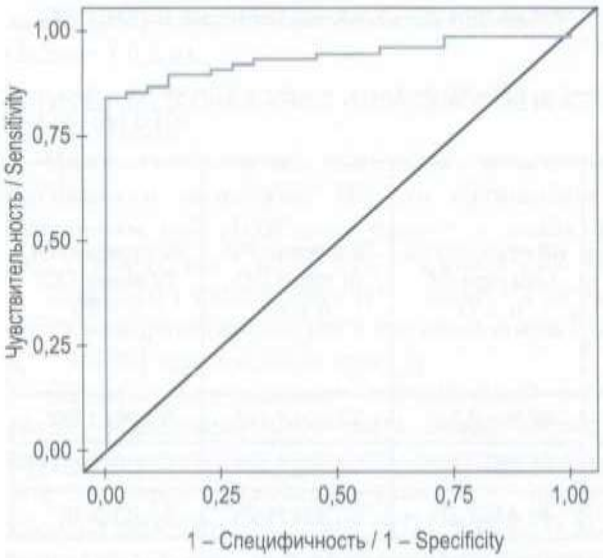


Рисунок 4. ROC-кривая для регрессионной модели дифференциальной диагностики рака яичников с учетом показателей в сыворотке IL-2 и MCP-1 и ригидности мембраны циркулирующих нейтрофилов

Figure 4. ROC-curve for the regression model of differential diagnosis of ovarian cancer taking into account the parameters in serum IL-2 and MCP-1, and the rigidity of the membrane of circulating neutrophils

что подтверждает взаимосвязь повышенной адгезивной способности нейтрофилов с повышенной ригидностью.

В результате исследования Nano R. и соавт. (1997) было выявлено, что под влиянием высоких доз рекомбинантного IL-2 наблюдалось повышение интенсивного фагоцитоза нейтрофилов и появлением плотной сети клеточных мембран [15]. При РЯ методом линейной регрессии влияние сывороточного IL-2 на ригидность мембраны Нф объясняется обратной зависимостью в модели только в 6% от общей дисперсии ($F(1.59) = 4,892$, $p = 0,0308$, $R^2 = 0,0609$). По данным Vorselen D. и соавт. (2020), механические свойства клеток оказывают влияние на процесс фагоцитарного поглощения [22]. Выявлена прямая умеренная корреляционная связь между ригидностью мембраны нейтрофилов и ФИ ($r = 0,3546$, $p = 0,0050$), и обратная слабая корреляционная связь ригидности с ЧЛ ($r = -0,2999$, $p = 0,0188$). Возможно, что полученные связи подтверждают влияние ригидности мембраны на повышение способности нейтрофилов к фагоцитозу и снижение способности образовывать NET. Это также подтверждается прямой заметной корреляционной связью между ригидностью мембраны и экспрессией CD16 ($r = 0,5628$, $p = 0,0042$) на III стадии РЯ.

Гибель активированных Нф может быть отсрочена для поддержки таких эффекторных функций, как фагоцитоз, высвобождение цитокинов и разрушение патогена путем дегрануляции [5]. По данным Sprenkeler E.G.G. и соавт. (2020), при неизменном фагоцитозе дегрануляция усиливалась при неоптимальной активации нейтрофилов при мегакариобластном лейкозе [20]. При РЯ повышение способности к дегрануляции прямо корреляционно связано с повышением ригидности мембраны Нф ($r = 0,2588$, $p = 0,0439$).

На модели бинарной логистической регрессии продемонстрировали возможность использования показателей сывороточных уровней IL-2, MCP-1 и ригидности мембраны циркулирующих Нф для дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных опухолей яичников ($\chi^2 = 51,0$, $p = 0,010$). Достоверную значимость при их комбинации оценивали методом анализа ROC-кривой (IL-2, ОШ 1,29; 95% ДИ 1,02-1,62, $p = 0,031$; MCP-1, ОШ 1,01; 95% ДИ 1,00-1,02, $p = 0,004$; и ригидность мембраны циркулирующих Нф, ОШ 1,07 95% ДИ 0,02-1,12, $p = 0,005$). Площадь под кривой такой модели составила 0,911, и РЯ мог быть диагностирован с 93,4% вероятностью (рис. 4).

Значения выбранных показателей позволяет классифицировать пациентов по степени риска РЯ в сочетании с чувствительностью (0,934) и специфичностью (0,636).

Заключение

Таким образом, при ДОЯ циркулирующие провоспалительные цитокины вызывают увеличение ригидности мембраны Нф и увеличение их адгезионных способностей. При РЯ только IL-2 влияет на ригидность циркулирующих Нф, повышение которой сопровождается усилением фагоцитарной активности и снижением способности образовывать NET.

Список литературы / References

1. Гайнитдинова В.В., Шарафутдинова Л.А., Камалтдинов И.М., Авдеев С.Н. Сила адгезии, жесткость мембраны нейтрофилов и биомаркеры системного воспаления у больных хронической обструктивной болезнью легких с легочной гипертензией // Пульмонология, 2014. № 6. С. 33-39. [Gaynitdinova V.V., Sharafutdinova L.A., Kamaltdinov I.M., Avdeev S.N. Adhesion force, neutrophil membrane stiffness and systemic inflammation biomarkers in patients with chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary hypertension. *Pulmonologiya = Pulmonology, 2014, no. 6, pp. 33-39.* (In Russ.)]

2. Галкин А.А., Демидова В.С. Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костючёнка, 2015. Т. 2, № 2. С. 25-31. [Galkin A.A., Demidova V.S. Neutrophils and systemic inflammatory response syndrome. Rany i ranevyye infektsii. *Zhurnal imeni prof. B.M. Kostyuchonka = Wounds and Wound Infections. Prof. B. Kostyuchenok Journal, 2015, Vol. 2, no. 2, pp. 25-31.* (In Russ.)]

3. Галкин А.А., Демидова В.С. Роль адгезии в активации нейтрофилов и цитотоксическом взаимодействии нейтрофилов с эндотелием // Успехи современной биологии, 2011. Т. 131, № 1. С. 62-78. [Galkin A.A., Demidova V.S. The role of adhesion in activation in activation of neutrophils and their cytotoxic interaction with endothelium. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews, 2011, Vol. 131, no. 1, pp. 62-78.* (In Russ.)]

4. Bashant K.R., Vassallo A., Herold Ch., Berner R., Menschner L., Subburayalu J., Kaplan M.J., Summers Ch., Guck J., Chilvers E.R., Toepfner N. Real-time deformability cytometry reveals sequential contraction and expansion during neutrophil priming. *J. Leukoc. Biol., 2019, Vol. 105, no. 6, pp. 1143-1153.*

5. Brostjan C., Oehler R. The role of neutrophil death in chronic inflammation and cancer. *Cell Death Discov., 2020, no. 6, 26.* doi: 10.1038/s41420-020-0255-6.

6. Drost E.M., Kassabian G., Meiselman H.J., Gelmont D., Fisher T.C. Increased rigidity and priming of polymorphonuclear leukocytes in sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1999, Vol. 159, no. 6, pp. 1696-1702.*

7. Espinoza-Sánchez N.A., Chimal-Ramírez G.K., Mantilla A., Fuentes-Pananá E.M. IL-1β, IL-8, and Matrix Metalloproteinases-1, -2, and -10 Are Enriched upon Monocyte-Breast Cancer Cell Cocultivation in a Matrigel-Based Three-Dimensional System. *Front. Immunol., 2017, Vol. 8, 205.* doi: 10.3389/fimmu.2017.00205.

8. Goldenberg D.T., Holland G.N., Cumberland W.G., Fisher T.C., Folz I.C., Wang R.C., Terry B.G., Moe A.A., Kramer F., Lim J.I., Rao N.A., Meiselman H.J. An assessment of polymorphonuclear leukocyte rigidity in HIV-infected individuals after immune recovery. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2002, Vol. 43, no. 6, pp. 1857-1861.*

9. Huang W., Jiao J., Liu J., Huang M., Hu Y., Ran W., Yan L., Xiong Y., Li M., Quan Z., Rao Y., Chen J., Huang Y., Zhang D. MFG-E8 accelerates wound healing in diabetes by regulating "NLRP3 inflammasome-neutrophil extracellular traps" axis. *Cell Death Discov., 2020, no. 6, 84.* doi: 10.1038/s41420-020-00318-7.

10. Jiang W.G., Puntis M.C., Hallett M.B. Neutrophil priming by cytokines in patients with obstructive jaundice. *HPB Surg., 1994, Vol. 7, no. 4, pp. 281-289.*

11. Jung W., Li J., Chaudhuri O., Kim T. Nonlinear Elastic and Inelastic Properties of Cells. *J. Biomech. Eng., 2020, Vol. 142, no. 10, 100806.* doi: 10.1115/1.4046863.

12. Kobuch J., Cui H., Grünwald B., Saftig P., Knolle P.A., Krüger A. TIMP-1 signaling via CD63 triggers granulopoiesis and neutrophilia in mice. *Haematologica, 2015, Vol. 100, no. 8, pp. 1005-1013.*

13. Melder R.J, Jain R.K. Kinetics of interleukin-2 induced changes in rigidity of human natural killer cells. *Cell Biophys., 1992, Vol. 20, no. 2-3, pp. 161-176.*

14. Ménoret A., Buturla J.A., Xu M.M., Svedova J., Kumar S., Rathinam VAK, Vella A.T. T cell-directed IL-17 production by lung granular gammadelta T cells is coordinated by a novel IL-2 and IL-1beta circuit. *Mucosal Immunol., 2018, Vol. 11, no. 5, pp. 1398-1407.*

15. Nano R., Capelli E., Barni S., Gerzeli G. Ultrastructural changes of neutrophils following IL-2 treatment *in vivo*. *Ann. N. Y. Acad. Sci., 1997, Vol. 832, pp. 194-199.*

16. Pleskova S.N., Gorshkova E.N., Novikov V.V., Solioz M. Treatment by serum up-conversion nanoparticles in the fluoride matrix changes the mechanism of cell death and the elasticity of the membrane. *Micron, 2016, Vol. 90, pp. 23-32.*

17. Pleskova S.N., Kriukov R.N., Bobyk S.Z., Boryakov A.V., Gorelkin P.V., Erofeev A.S. Conditioning adhesive contacts between the neutrophils and the endotheliocytes by *Staphylococcus aureus*. *J. Mol. Recognit., 2020, Vol. 33, no. 9, e2846.* doi: 10.1002/jmr.2846.

18. Prikhodko A.S., Vitushkina M.V., Zinovkina L.A., Popova E.N., Zinovkin R.A. Priming of Human Neutrophils Is Necessary for Their Activation by Extracellular DNA. *Biochemistry (Mosc.), 2016, Vol. 81, no. 6, pp. 609-614.*

19. Sim G.C., Radvanyi L. The IL-2 cytokine family in cancer immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev., 2014, Vol. 25, no. 4, pp. 377-390.*

20. Sprenkeler E.G.G., Henriet S.S.V., Tool A.T.J., Kreft I.C., van der Bijl I., Aarts C.E.M., van Houdt M., Verkuijlen PJJH, van Aerde K., Jaspers G., van Heijst A., Koole W., Gardeitchik T., Geissler J., de Boer M., Tol S., Bruggeman C.W., van Alphen F.P.J., Verhagen HJMP, van den Akker E., Janssen H., van Bruggen R., van den Berg T.K., Liem K.D., Kuijpers T.W. MKL1 deficiency results in a severe neutrophil motility defect due to impaired actin polymerization. *Blood, 2020, Vol. 135, no. 24, pp. 2171-2181.*

21. Sun R., Luo J., L i D., Shu Yu , Luo C., Wang S.S, Qin J., Zhang G.M., Feng Z.H. Neutrophils with protumor potential could efficiently suppress tumor growth after cytokine priming and in presence of normal NK cells. *Oncotarget, 2014, Vol. 5, no. 24, pp. 12621-12634.*

22. Vorselen D., Labitigan R.L.D., Theriot J.A. A mechanical perspective on phagocytic cup formation. *Curr. Opin. Cell Biol., 2020, Vol. 66, pp. 112-122.*

23. White C., DiStefano T., Olabisi R. The influence of substrate modulus on retinal pigment epithelial cells. *J. Biomed. Mater. Res. A., 2017, Vol. 105, no. 5, pp. 1260-1266.*

Авторы:

Абакумова Т.В. *– к.б.н., доцент, доцент кафедры физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия*

Генинг Т.П. *– д.б.н., профессор, заведующая кафедрой физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия*

Генинг С.О. *– ассистент кафедры физиологии и патофизиологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия*

Антонеева И.И. *– д.м.н., доцент, профессор кафедры онкологии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»; заведующая отделением онкогинекологии ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» г. Ульяновск, Россия*

Песков А.Б. *– д.м.н., профессор, декан факультета последипломного медицинского и фармацевтического образования ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия*

Authors:

Abakumova T.V., *PhD (Biology), Associate Professor, Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation*

Gening T.P., *PhD, MD (Biology), Professor, Head, Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation*

Gening S.O., *Assistant Professor, Department of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation*

Antoneeva I.I., *PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Oncology and Radiology, Ulyanovsk State University; Head, Department of Oncogynecology, Regional Center of Clinical Oncology, Ulyanovsk, Russian Federation*

Peskov A.B., *PhD, MD (Medicine), Professor, Dean, Faculty of Postgraduate Medical and Pharmaceutical Education, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation*

Поступила 07.04.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 07.04.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 181-186
© 2022, СПб РО РААКИ

Краткие сообщения
Short communications

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 181-186
© 2022, SPb RAACI

РОЛЬ ДИАМИНОКСИДАЗЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОЙ КРАПИВНИЦЫ

Микрюкова Н.В.[1], Калинина Н.М.[1, 2]

[1] *ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия*

Резюме. Хроническая крапивница – это полиэтиологическое заболевание с различными иммунологическими и неиммунологическими (псевдоаллергическими) механизмами. Одним из видов псевдоаллергии является пищевая непереносимость, и ее частный случай – синдром непереносимости гистамина, проявляющийся нарушением равновесия между накопленным гистамином и способностью к его деградации. Целью данной статьи было обобщить результаты исследований последних лет, обсудить сложности диагностики данной патологии, которая прежде всего зависит от степени нарушения деградации гистамина под воздействием диаминоксидазы. Диаминоксидаза является основным ферментом, необходимым для разрушения гистамина в кишечнике, и синтезируется апикальными энтероцитами. В работе обращено внимание на причины, приводящие к повышению уровня гистамина не только с поступающей пищей, учитывая разную его концентрацию в одних и тех же продуктах питания, в зависимости, напрімер, от их обработки и хранения, но и с подавлением активности ферментов, необходимых для метаболизма гистамина различными пищевыми добавками, влиянием микробиоты.

Приведены результаты исследований, в которых определялись уровни гистамина и/или активности диаминоксидазы, меняющиеся в зависимости от соблюдения диеты, что подтверждает ответственность диаминоксидазы за симптомы непереносимости гистамина. Соблюдение диеты у большинства авторов приводило к повышению уровня диаминоксидазы, однако в некоторых исследованиях не выявлено изменения активности этого фермента. Существует ряд работ, в которых оценивались уровни диаминоксидазы у пациентов с истинной аллергией. Также некоторые авторы, помимо соблюдения диеты, оценивали эффективность препаратов, содержащих диаминоксидазу, у пациентов с низкими уровнями данного фермента в сыворотке крови.

Также исследователи подтверждают высокую долю синдрома непереносимости гистамина среди различных реакций на пищу и говорят о необходимости проведения дифференциальной диагностики с другими неиммуноопосредованными реакциями, в том числе заболеваниями желудочно-кишечного тракта и психосоматическими реакциями.

Таким образом, все авторы подтверждают необходимость лабораторной диагностики синдрома непереносимости гистамина, так как это не только повысит эффективность соблюдения диеты, но и позволит использовать препараты, содержащие диаминоксидазу, что улучшит качество жизни пациентов. Однако клиническое ведение пациентов по-прежнему продолжается с соблюдением диеты с низким содержанием гистамина.

Адрес для переписки:
Микрюкова Наталья Васильевна
ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России
197345, Россия, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, 54.
Тел.: 8 (812) 702-63-45 (доб. 3331).
E-mail: natalya@mikryukov.info

Address for correspondence:
Mikryukova Natalya V.
A. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine
197345, Russian Federation, St. Petersburg, Optikov str., 54.
Phone: 7 (812) 702-63-45 (acc. 3331).
E-mail: natalya@mikryukov.info

Образец цитирования:
Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина «Роль диаминоксидазы в патогенезе хронической крапивницы» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 181-186. doi: 10.15789/1563-0625-ROD-2204

© *Микрюкова Н.В., Калинина Н.М., 2022*

For citation:
N.V. Mikryukova, N.M. Kalinina "Role of diamine oxidase in the pathogenesis of chronic urticaria", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 181-186. doi: 10.15789/1563-0625-ROD-2204
DOI: 10.15789/1563-0625-ROD-2204

Данные литературы подтверждают возможность использовать этот фермент, вызывающий деградацию гистамина, как биологический маркер синдрома непереносимости гистамина, и рекомендовать его определение для включения в диагностический алгоритм при хронической крапивнице.

Ключевые слова: хроническая крапивница, гистамин, диаминоксидаза, ДАО, непереносимость гистамина

ROLE OF DIAMINE OXIDASE IN THE PATHOGENESIS OF CHRONIC URTICARIA

Mikryukova N.V.[a], Kalinina N.M.[a, b]

[a] *A. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*
[b] *First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation*

Abstract. Chronic urticaria is a polyetiological disease proceeding by various immunological and non-immunological (pseudo-allergic) mechanisms. Food intolerance is a distinct type of pseudo-allergies, manifesting, e.g., with histamine intolerance syndrome, caused by imbalance between the histamine accumulation and the ability to degrade it. The purpose of this article was to summarize results of recent studies, to discuss the difficulties of diagnosing this pathology, which primarily depends on the degree of impaired histamine degradation under the influence of diamine oxidase. Diamine oxidase is the main enzyme required for histamine destruction in the intestines, being synthesized by apical enterocytes. The review draws attention to the reasons leading to increased level of histamine not only with consumed food, given its different concentration in the same food products, depending, for example, on their processing and storage, but also with suppressing activity of the enzymes required for metabolism of histamine by various food additives, by the influence of microbiota. The results of studies in which the levels of histamine and/or diamine oxidase activity were determined, which depend on adherence to the diet confirming the association of diamine oxidase with the symptoms of histamine intolerance. According to most studies, the compliance with diet led to increased level of diamine oxidase. However, in some studies, no changes in the activity of this enzyme were found. There are several studies that have evaluated the levels of diamine oxidase in patients with true allergies. Moreover, some authors, in addition to adherence to the diet, evaluated the effectiveness of drugs containing diamine oxidase in patients with low levels of this enzyme in blood serum. The workers also confirm high proportion of histamine intolerance syndrome among various food reactions, suggesting a need for differential diagnosis with other non-immune reactions, including disorders of gastrointestinal tract and psychosomatic reactions. Thus, all the authors confirm the need for laboratory diagnosis of histamine intolerance syndrome, since this will not only increase the efficiency of dietary adherence, but also substantiate the usage of drugs containing diamine oxidase, which will improve quality of life in these cohorts. However, these patients are still treated with low-histamine diets. The literature data confirm the opportunity of using this histamine degradation enzyme as a biological marker of histamine intolerance syndrome, and recommend its assays for inclusion into the diagnostic algorithm for chronic urticaria.

Keywords: chronic urticaria, histamine, diamine oxidase, DAO, histamine intolerance

Введение

Общеизвестно, что часто пациенты связывают обострение хронической крапивницы с приемом в пищу конкретных продуктов. При проведении дифференциальной диагностики между различными патогенетическими вариантами хронической крапивницы выделяется истинная аллергия, перекрестный оральный синдром, заболевания пищеварительной системы и синдром непереносимости гистамина. Гистамин является главным медиатором хронической крапивницы, и избыточное его количество в организме может возникать, когда пациенты принимают пищу, богатую гистамином, или если у них нарушена деградация гистамина из-за пониженной активности диаминоксидазы (ДАО). ДАО – это основной фермент, катаболизирующий гистамин в кишечнике.

Материалы и методы

В последнее время выявление нарушений деградации гистамина в качестве причины хронической крапивницы становится все более популярным, обсуждается как врачами, так и пациентами как причина их симптомов, однако существуют

определенные сложности лабораторной диагностики данных нарушений в связи с отсутствием в широкой практике тест-систем. В статье приведены исследования последних лет, касающиеся метаболизма гистамина и диаминоксидазы.

При сборе анамнеза у пациентов с крапивницей частой причиной появления или рецидива симптомов заболевания является погрешность в диете. Зачастую это происходит вследствие избыточного поступления гистамина с пищей и недостаточного его разрушения в пищеварительном тракте. В последние годы появилось значительное количество исследований, посвященных так называемой непереносимости гистамина. Гистамин – это биогенный амин, полученный в результате декарбоксилирования аминокислоты гистидина. Эндогенно синтезируемый гистамин, который накапливается в основном в тучных клетках и базофилах, является одним из важнейших медиаторов аллергических и неаллергических клинических реакций. Основным путем разрушения гистамина является дезаминирование с помощью фермента диаминоксидазы (ДАО). Менее физиологически значимым является метилирование или ацетилирование гистамина соответствующими метил- и ацетилтрансферазами. Поступивший с пищей гистамин должен метаболизироваться посредством этих же путей разложения. ДАО, являясь основным ферментом, необходимым для деградации гистамина, синтезируется апикальными энтероцитами, располагающимися в ворсинах кишечника [21].

Результаты и обсуждение

Считается, что непереносимость гистамина вызвана непропорционально большим его количеством в организме [7]. Обычное потребление небольших количеств биогенных аминов не влияет на общее самочувствие. По мнению Dara Doeun [3], гистамин содержат достаточно большое количество продуктов питания и в каждом конкретном продукте его концентрация повышается, в зависимости от времени хранения и обработки. Также на концентрацию биогенных аминов в ферментированных пищевых продуктах влияют несколько факторов производственного процесса, в том числе гигиена сырья, микробный состав, условия и продолжительность ферментации. Чтобы контролировать концентрацию биогенных аминов в пище, можно регулировать активность декарбоксилазы для аминокислот. С другой стороны, уменьшить содержание биогенных аминов в пище может создание специальной упаковки продуктов, пастеризация, создание определенного температурного режима, исключение добавок, использование копчения, заквaски для окисления образующегося биогенного амина [3].

Определенные продукты питания, пищевые добавки, консерванты и лекарства могут вызывать высвобождение гистамина или ингибировать ферменты, необходимые для метаболизма гистамина [4]. В 2015 году Isabel J. Skypala и соавт. [15] был представлен обзор исследований, определяющих чувствительность пациентов с крапивницей к пищевым добавкам, вазоактивным аминам и салицилатам. В исследованиях оценивалась способность пищевых добавок вызывать симптомы, характерные для непереносимости гистамина. В большом количестве исследований было показано, что отказ от продуктов с высоким содержанием гистамина или продуктов, содержащих высокий уровень сульфитов, может облегчить симптомы непереносимости гистамина. Другими исследователями не найдено никаких доказательств эффективности диет с низким содержанием салицилата [15].

Если съеденная пища содержит большое количество биогенных аминов и/или их разложение ингибируется или нарушается, гистамин накапливается в организме [12]. В 2013 году в обзорной статье Smolinska S. и соавт. представили данные иммунорегуляторного влияния гистамина в кишечнике и обсудили в том числе не только непереносимость гистамина, истинную пищевую аллергию, но и влияние микробиоты, т.к. существуют микробы выделяющие гистамин [16].

В ряде работ исследовалось определение активности ДАО и эффективность диеты с ограничением гистамина в пище. В 2013 году авторы Mušič E. и соавт. представили результаты обследования 316 взрослых пациентов и доказали, что определение активности ДАО в сыворотке крови является полезным инструментом для диагностики непереносимости гистамина. По завершении курса безгистаминовой диеты, большинство симптомов непереносимости гистамина исчезло, а активность ДАО в сыворотке крови значительно увеличилась [10]. Группой авторов Daschner A. и соавт. у пациентов с хронической крапивницей и низкими уровнями ДАО выявлено обострение крапивницы после употребления в пищу рыбы [2].

Boehm T. и соавт. в 2017 году предложили методику для надежного и точного количественного определения активности ДАО человека в различных биологических жидкостях, как биомаркера при различных заболеваниях [1]. В том же году опубликовано руководство немецкого общества аллергологии и клинической иммунологии по лечению реакций на гистамин. Reese I. с группой авторов [12] в руководстве показали, что наиболее частый тип пищевой непереносимости

это непереносимость пищевых биогенных аминов (50%). Диагностика основывалась на клинической картине, было проведено анкетирование, на основании которого пациенты сообщали об улучшении состояния кожи и желудочно-кишечного тракта при соблюдении диеты с низким содержанием биогенных аминов. В руководстве отмечена важность дифференциальной диагностики непереносимости гистамина и других неиммуноопосредованных реакций. Требуется исключение заболеваний желудочно-кишечного тракта, побочных эффектов лекарств и психосоматических реакций.

В 2018 году в исследовании Pinzer T. и соавт. [11] было выявлено снижение активности ДАО, которое коррелировало с повышенным уровнем гистамина в подгруппе лиц с подозрением на непереносимость гистамина. В работе Kacik J. и соавт. (2018) были аналогичные результаты, полученные данные свидетельствовали о том, что ДАО в сыворотке ответственна за симптомы непереносимости гистамина [6].

В 2019 году были представлены результаты исследования Lackner S. и соавт.: при обследовании 101 пациента выявлено повышение значений ДАО в сыворотке, которое коррелировало с уменьшением симптомов непереносимости гистамина и зависело от степени соблюдения диеты [8]. В следующем исследовании [14] было показано повышение уровня ДАО в сыворотке примерно через 2 месяца соблюдения безгистаминовой диеты и уменьшение симптомов, связанное с непереносимостью гистамина, было продемонстрировано почти у 80% пациентов.

В двух исследованиях были получены противоречивые результаты, в 2016 Wagner N. и соавт. [20], исследуя активность ДАО у 56 пациентов с хронической крапивницей, не выявили изменения активности ДАО на фоне соблюдения в течение 3 недель безгистаминовой диеты. Аналогичные результаты получены в исследовании Son J.H. и соавт. (2018), у 22 пациентов измерялись уровни гистамина в плазме и активность диаминоксидазы до и после диеты без гистамина. Уровень гистамина в плазме после завершения диеты показал значительное снижение по сравнению с исходным уровнем ($p = 0,010$). Однако активность ДАО не изменилась [18].

Параллельно с представлением о роли ДАО в непереносимости гистамина существует ряд работ, оценивающих роль фермента ДАО в сыворотке как диагностического маркера аллергии. Refaat M.M. и соавт. (2019) показали, что уровни ДАО были выше у болеющих респираторными аллергическими заболеваниями, чем в контрольной группе. Между тяжестью заболевания и уровнем ДАО наблюдалась положительная корреляция. Определение ДАО имело высокую отрицательную прогностическую ценность (94,7%) и высокую чувствительность (97,5%) [13]. В то же время исследование Aneta Wagner и соавт. (2019) свидетельствует, что пациенты с аллергией характеризовались значительно более низкой активностью ДАО и более высоким содержанием гистамина по сравнению со здоровыми субъектами и имеют симптомы непереносимости гистамина [19].

В ряде исследований, помимо соблюдения диеты со сниженным содержанием гистамина в пище, оценивалась эффективность терапии препаратами, содержащими ДАО. В статье 2015 года Kovacova-Hanuskova E. и соавт. отмечали сложности в диагностике непереносимости гистамина, при этом обращали внимание на важность постановки правильного диагноза для последующей терапии с использованием препаратов диаминоксидазы, так как такая терапия может значительно улучшить качество жизни пациента [7].

В 2016 свои результаты представили Manzotti G. и соавт. Было обследовано 14 пациентов, у которых были исключены пищевая аллергия, целиакия, заболевания желудочно-кишечного тракта, системная гиперчувствительность к никелю. Средняя активность ДАО у пациентов с непереносимостью гистамина была значительно ниже, чем обнаруженная в группе здоровых доноров крови. В качестве порогового значения для диагностики непереносимости гистамина предложена активность ДАО в сыворотке < 10 Ед/мл. Пациенты получали диаминоксидазу и сообщали о купировании симптомов, связанных с пищевой непереносимостью. Авторы сделали вывод, что у пациентов с симптомами, вызванными приемом пищи богатой гистамином, измерение активности диаминоксидазы в сыворотке крови позволит выявить субъекты, которым может помочь диета с ограничением гистамина и/или добавление диаминоксидазы [9].

В 2018 Yacoub M.-R. и соавт. представили рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование, посвященное добавлению диаминоксидазы при хронической спонтанной крапивнице. В нем степень уменьшения симптоматики обратно коррелировала с уровнями базального ДАО ($p = 0,019$). Пациенты, получавшие добавку ДАО, смогли снизить суточную дозу антигистаминных препаратов. Эти данные доказывают, что ДАО может участвовать в патогенезе хронической крапивницы и что добавление ДАО может быть эффективным для облегчения симптомов у пациентов с низким уровнем ДАО в сыворотке [22].

Интерес к изучению непереносимости гистамина не ослабевает, многие авторы продолжают свои исследовательские работы. И уже в 2020

году Solymosi D. и соавт. представили результаты своего исследования, согласно которым непереносимость гистамина играла заметную роль в реакциях на пищу и во время контрольных посещений, при соблюдении диеты, сообщалось об уменьшении жалоб [17].

Клиническое ведение пациентов осуществляется в основном с соблюдением диеты с низким содержанием гистамина, несмотря на отсутствие единого представления о списке продуктов, которые следует исключить. Параллельно с диетой существует тактика повышения уровня ДАО с использованием препаратов, которые увеличивают способность расщеплять гистамин пищи. Отсутствие стандартного оборудования для определения активности ДАО, разработка тест-системы и внедрение методов определения уровня ДАО в когорте пациентов с нарушением чувствительности к гистамину является крайне перспективным.

Заключение

Таким образом, введение в клиническую практику тестов определения ДАО, внедрение стандартизированного оборудования и тест-систем позволит выделить когорту пациентов с нарушением чувствительности к гистамину.

Список литературы / References

1. Boehm T., Pils S., Gludovacz E., Szoelloesi H., Petroczi K., Majdic O., Jilma B. Quantification of human diamine oxidase. *Clin. Biochem., 2017, Vol. 50, no. 7-8, pp. 444-451.*
2. Daschner A., González-Fernández J., Valls A., de Frutos C., Rodero M., Cuéllar C. Diamine oxidase levels in different chronic urticaria phenotypes. *Allergol. Immunopathol. (Madr.), 2015, Vol. 43, no. 6, pp. 593-600.*
3. Doeun D., Davaatseren M., Chung M.-S. Biogenic amines in foods. *Food Sci. Biotechnol., 2017, Vol. 26, no. 6, pp. 1463-1474.*
4. Enko D., Meinitzer A., Mangge H., Kriegshäuser G., Halwachs-Baumann G., Reininghaus E.Z., Schnedl W.J. Concomitant prevalence of low serum diamine oxidase activity and carbohydrate malabsorption. *Can. J. Gastroenterol. Hepatol., 2016, 4893501.* doi: 10.1155/2016/4893501.
5. Gludovacz E., Maresch D., de Carvalho L.L., Puxbaum V., Baier L.J., Sützl L., Guédez G., Grünwald-Gruber C., Ulm B., Pils S., Ristl R., Altmann F., Jilma B., Salminen T.A., Borth N., Boehm T. Oligomannosidic glycans at asn-110 are essential for secretion of human diamine oxidase. *J. Biol. Chem., 2018, Vol. 293, pp. 1070-1087.*
6. Kacik J., Wróblewska B., Lewicki S., Zdanowski R., Kalicki B. Serum diamine oxidase in pseudoallergy in the pediatric population. *Adv. Exp. Med. Biol., 2018, Vol. 1039, pp. 35-44.*
7. Kovacova-Hanuskova E., Buday T., Gavliakova S., Plevkova J. Histamine, histamine intoxication and intolerance. *Allergol. Immunopathol. (Madr.), 2015, Vol. 43, no. 5, pp. 498-506.*
8. Lackner S., Malcher V., Enko D., Mangge H., Holasek S.J., Schnedl W.J. Histamine-reduced diet and increase of serum diamine oxidase correlating to diet compliance in histamine intolerance. *Eur. J. Clin. Nutr., 2018, Vol. 73, pp. 102-104.*
9. Manzotti G., Breda D., di Gioacchino M., Burastero S.E. Serum diamine oxidase activity in patients with histamine intolerance. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol., 2016, Vol. 29, pp. 105-111.*
10. Mušič E., Korošec P., Šilar M., Adamič K., Košnik M., Rijavec M. Serum diamine oxidase activity as a diagnostic test for histamine intolerance. *Wien. Klin. Wochenschr., 2013, Vol. 125, no. 9-10, pp. 239-243.*
11. Pinzer T.C., Tietz E., Waldmann E., Schink M., Neurath M.F., Zopf Y. Circadian profiling reveals higher histamine plasma levels and lower diamine oxidase serum activities in 24% of patients with suspected histamine intolerance compared to food allergy and controls. *Allergy, 2017, Vol. 73, no. 4, pp. 949-957.*
12. Reese I., Ballmer-Weber B., Beyer K., Fuchs T., Kleine-Tebbe J., Klimek L., Worm M. German guideline for the management of adverse reactions to ingested histamine. *Allergo J. Int., 2017, Vol. 26, no. 2, pp. 72-79.*
13. Refaat M.M., Abdel-Rehim A.S., Elmahdi A.R., Mohamed N.A., Ghonaim S.S. Diamine oxidase enzyme: a novel biomarker in respiratory allergy. *Int. Forum Allergy Rhinol., 2019, Vol. 9, no. 12, pp. 1478-1484.*
14. Schnedl W.J., Schenk M., Lackner S., Enko D., Mangge H., Forster F. Diamine oxidase supplementation improves symptoms in patients with histamine intolerance. *Food Sci. Biotechnol., 2019, Vol. 28, pp. 1779-1784.*
15. Skypala I.J., Williams M., Reeves L., Meyer R., Venter C. Sensitivity to food additives, vaso-active amines and salicylates: a review of the evidence. *Clin. Transl. Allergy, 2015, Vol. 5, no. 1, 34.* doi: 10.1186/s13601-015-0078-3.
16. Smolinska S., Jutel M., Crameri R., O'Mahony L. Histamine and gut mucosal immune regulation. *Allergy, 2013, Vol. 69, no. 3, pp. 273-281.*
17. Solymosi D., Sárdy M., Pónyai G. Interdisciplinary significance of food-related adverse reactions in adulthood. *Nutrients, 2020, Vol. 12, no. 12, 3725.* doi: 10.3390/nu12123725.
18. Son J.H., Chung B.Y., Kim H.O., Park C.W. A histamine-free diet is helpful for treatment of adult patients with chronic spontaneous urticaria. *Ann. Dermatol., 2018, Vol. 30, no. 2, pp. 164-172.*
19. Wagner A., Buczyłko K., Zielińska-Bliźniewska H., Wagner W. Impaired resolution of wheals in the skin prick test and low diamine oxidase blood level in allergic patients. *Adv. Dermatol. Allergol., 2019, Vol. 36, no. 5, pp. 538-543.*

20. Wagner N., Dirk D., Peveling-Oberhag A., Reese I., Rady-Pizarro U., Mitzel H., Staubach P. A Popular myth – low-histamine diet improves chronic spontaneous urticaria – fact or fiction? *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol., 2016, Vol. 31, no. 4, pp. 650-655.*

21. Wollin A., Wang X., Tso P. Nutrients regulate diamine oxidase release from intestinal mucosa. *Am. J. Physiol., 1998, Vol. 275, no. 4, pp. R969-R975.*

22. Yacoub M.-R., Ramirez G.A., Berti A., Mercurio G., Breda D., Saporiti N., Colombo G. Diamine oxidase supplementation in chronic spontaneous urticaria: a randomized, double-blind placebo-controlled study. *Int. Arch. Allergy Immunol., 2018, Vol. 176, no. 3-4, pp. 268-271.*

Авторы:

Микрюкова Н.В. *– заведующая отделением профилактики и экспертизы профессиональной пригодности поликлиники ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия*

Калинина Н.М. *– д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия*

Authors:

Mikryukova N.V., *Head, Department of Prevention and Expertise of Professional Fitness, A. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*

Kalinina N.M., *PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Department of Laboratory Diagnostics, A. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine; Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation*

Поступила 15.02.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 15.02.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 187-194
© 2022, СПб РО РААКИ

Краткие сообщения
Short communications

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 187-194
© 2022, SPb RAACI

ОСОБЕННОСТИ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ, СОПРОВОЖДАЕМЫМИ ЯВЛЕНИЯМИ ПНЕВМОФИБРОЗА

Евсеева Г.П.[1], Книжникова Е.В.[1], Супрун Е.Н.[1, 2], Супрун С.В.[1], Кудерова Н.И.[1], Пичугина С.В.[1], Полубарцева В.В.[1], Евдокимова Т.С.[1], Лебедько О.А.[1]

[1] Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия
[2] ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», г. Хабаровск, Россия

Резюме. Пневмофиброз является патологическим исходом воспаления легочной ткани и может выступать осложнением практически любого заболевания легких и бронхов. Мембранный потенциал митохондрий отражает функциональное состояние иммунокомпетентных клеток крови, влияющих на реализацию хронического воспалительного процесса. Целью данной работы явилось изучение особенностей мембранного потенциала митохондрий (МПМ) иммунокомпетентных клеток крови у детей с хроническими неспецифическими заболеваниями легких (ХНЗЛ), сопровождаемыми явлениями пневмофиброза.

Проведено обследование 79 детей с ХНЗЛ с явлениями очагового пневмофиброза. Структура пациентов включала в себя детей с врожденными пороками развития легких (43%), исходами бронхолегочной дисплазии (41%), хроническим бронхитом (10%), постпневмоническим пневмофиброзом (6%). Средний возраст детей составил 6,5±1,2 лет, из них мальчиков – 43 (54%), девочек – 36 (46%). В группу сравнения вошли 46 детей с ХНЗЛ без явлений пневмофиброза, группу контроля составили 30 практически здоровых детей. Исследование содержания клеток со сниженным МПМ в популяции лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов периферической крови проводили на цитометре BD FACS Calibur (США) в программе Cell Quest Pro с использованием красителя JC-1 (Becton Dickinson, США).

Адрес для переписки:
Супрун Евгений Николаевич
Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства
680022, Россия, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49/1.
Тел.: 8 (914) 772-76-85.
Факс: 8 (4212) 70-05-91.
E-mail: evg-suprun@yandex.ru

Address for correspondence:
Suprun Evgeniy N.
Research Institute of Maternity and Childhood Protection
680022, Russian Federation, Khabarovsk,
Voronezhskaya str., 49/1.
Phone: 7 (914) 772-76-85.
Fax: 7 (4212) 70-05-91.
E-mail: evg-suprun@yandex.ru

Образец цитирования:
Г.П. Евсеева, Е.В. Книжникова, Е.Н. Супрун, С.В. Супрун, Н.И. Кудерова, С.В. Пичугина, В.В. Полубарцева, Т.С. Евдокимова, О.А. Лебедько «Особенности мембранного потенциала митохондрий иммунокомпетентных клеток крови у детей с хроническими неспецифическими заболеваниями легких, сопровождаемыми явлениями пневмофиброза» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 187-194. doi: 10.15789/1563-0625-FOM-2119

© Евсеева Г.П. и соавт., 2022

For citation:
G.P. Evseeva, E.V. Knizhnikova, E.N. Suprun, S.V. Suprun, N.I. Kuderova, S.V. Pichugina, V.V. Polubentseva, T.S. Evdokimova, O.A. Lebedko "Features of mitochondrial membrane potential of immunocompetent blood cells in children with chronic nonspecific lung diseases accompanied by pneumofibrosis", Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 187-194. doi: 10.15789/1563-0625-FOM-2119
DOI: 10.15789/1563-0625-FOM-2119

Доля лимфоцитов со сниженным МПМ у пациентов с ХНЗЛ не имела различий у детей основной и группы сравнения и превышала в 1,7 раза показатели группы контроля ($p < 0,001$). Сниженный МПМ гранулоцитов у детей с пневмофиброзом выявлялся в 1,9 раза чаще, чем у детей с ХНЗЛ без фиброза ($p < 0,05$) и 3,4 раза чаще, чем у детей контрольной группы ($p < 0,001$). Моноциты со сниженным МПМ у детей с пневмофиброзом выявлялись в 2 раза чаще, чем у детей с ХНЗЛ без фиброза ($p < 0,05$) и в 7,3 раза чаще по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$), изменения были более выражены у детей в период обострения заболевания. Выявленные особенности свидетельствует о снижении уровня метаболической активности клеток, что может являться иммунопатогенетической основой для развития пневмофиброза.

Ключевые слова: ХНЗЛ, фиброз, мембранный потенциал митохондрий, иммунокомпетентные клетки крови

FEATURES OF MITOCHONDRIAL MEMBRANE POTENTIAL OF IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS IN CHILDREN WITH CHRONIC NONSPECIFIC LUNG DISEASES ACCOMPANIED BY PNEUMOFIBROSIS

Evseeva G.P.[a], Knizhnikova E.V.[a], Suprun E.N.[a, b], Suprun S.V.[a], Kuderova N.I.[a], Pichugina S.V.[a], Polubentseva V.V.[a], Evdokimova T.S.[a], Lebedko O.A.[a]

[a] *Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*
[b] *Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation*

Abstract. Pneumofibrosis is a pathological outcome of pulmonary tissue inflammation. It can complicate any lung and bronchial disorder. The mitochondrial membrane potential reflects functional state of immunocompetent blood cells that influence progression of a chronic inflammatory process. The aim of this work was to study the features of mitochondrial membrane potential (MMP) of immunocompetent blood cells in children with chronic nonspecific lung diseases (CNPD), accompanied by pneumofibrosis. We have examined 79 children with CNPD manifesting with symptoms of focal pneumofibrosis. The group of patients included children with congenital lung malformations (43%), consequences of bronchopulmonary dysplasia (41%), chronic bronchitis (10%), post-pneumonic pulmonary fibrosis (6%). The average age of children was 6.5±1.2 years, including 43 boys (54%) and 36 girls (46%). The comparison group included 46 children with COPD without signs of pulmonary fibrosis, the control group consisted of 30 apparently healthy children. The contents of cells with reduced MMP among lymphocytes, monocytes, and granulocytes in peripheral blood was determined with JC-1 dye, using the BD FACSCalibur instrument and Cell Quest Pro software (Becton Dickinson, USA). The proportion of lymphocytes with reduced MMP in patients with COPD was similar in the children of the main and comparison group, exceeding the indexes of the control group by 1.7 times ($p < 0.001$). Decreased MMP of granulocytes in children with pneumofibrosis was detected 1.9 times more often than in children with fibrosis-free CNPD cases ($p < 0.05$), and 3.4 times more common than in children from the control group ($p < 0.001$). Monocytes with reduced MMM in children with pulmonary fibrosis were detected 2 times more often than in children with COPD without fibrosis ($p < 0.05$), and 7.3 times more frequent than in the control group ($p < 0.001$). The changes were more expressed in children during exacerbation of the disease. The revealed features suggest a decreased level of metabolic activity of blood cells, thus, probably, presenting an immunopathogenetic basis for development of pneumofibrosis.

Keywords: COPD, fibrosis, membrane potential of mitochondria, immunocompetent cells of blood

Введение

В педиатрической пульмонологии проблема хронического воспаления остается актуальной, поскольку составляет патогенетическую основу подавляющего большинства заболеваний системы дыхания. В легкие перманентно поступает значимое количество ксенобиотиков, инициирующих работу врожденного иммунитета и, соответственно, провоцирующих воспаление, в основе некоторых иных хронических заболеваний легкого лежит асептическое воспаление. В любом случае при тяжелом, длительном течении повреждающего воздействия или нарушении регуляции восстановления ткани высока вероятность усиление фиброзирования и разрастание соединительной ткани в интерстиции органа, что ведет к прогрессированию необратимого фиброзного ответа, как патологического исхода воспалительного процесса, и, в конечном итоге, приводит к гипоксии тканей [9].

В патогенез легочного фиброза вовлечены многочисленные взаимосвязанные механизмы, что приводит к значительным трудностям в разграничении первичных и вторичных событий в развитии заболевания. Одной из причин развития хронических форм заболеваний легких и пневмофиброза как патологического исхода этого воспаления может быть дисфункция неполноценность иммунного ответа, детерминированная нарушением функционирования важной органеллы иммунокомпетентных клеток крови (ИКК) – митохондрии [1, 4, 11]. При экспериментальном моделировании процесса хронического воспаления и фиброза в легких в очаге, в ранние сроки острой воспалительной реакции, происходит усиленная инфильтрация ткани иммунокомпетентными клетками – моноцитами, лимфоцитами, гранулоцитами разных популяций, что указывало на развитие иммунной реакции [5]. Изучение роли митохондриальной дисфункции позволило установить ее системный характер, что позволяет фиксировать нарушения в том числе в иммунокомпетентных клетках крови функций митохондрий не только в клетках тканей легких, но и других органов, например в клетках крови.

Отражением митохондриальной функции или дисфункции являются изменения мембранного потенциала митохондрий (МПМ, $\Delta\psi$), служащего индикатором метаболической активности клеток, корелирующей как с биохимическими процессами внутри клетки, так и с воздействием экзогенных по отношению к клетке факторов [10]. Падение величины МПМ ($\Delta\psi$) является отражением энергодефицита ИКК, определяющих характер течения воспаления и его исход, а также инициации митохондриального пути запуска их апоптоза [3, 8].

В связи с этим **целью данной работы** явилось изучение особенностей мембранного потенциала митохондрий (МПМ, $\Delta\psi$) иммунокомпетентных клеток крови у детей с ХНЗЛ, сопровождаемые явлениями пневмофиброза.

Материалы и методы

Мы обследовали 79 детей с ХНЗЛ с явлениями пневмофиброза находившихся на госпитализации в ДСО ХФ ДНЦ ФПД – НИИ ОМИД. Дизайн исследования соответствовал положениям Хельсинкской декларации «Рекомендации для врачей по биомедицинским исследованиям на людях» (2013) и был одобрен Этическим комитетом ХФДНЦ ФПД – НИИ ОМИД. Имеется информированное согласие родителей и/или законных представителей каждого ребенка на включение в изучаемую группу.

В работу включались все госпитализированные пациенты с подтвержденным ранее или в ходе текущей госпитализации диагнозом ХНЗЛ, дальнейшее обследование проводилось в условиях детского соматического отделения клиники ХФ ДНЦ ФПД НИИ ОМиД. В отношении пациентов осуществлялось клиническое обследование согласно рекомендованным стандартам, включая морфологическое, бронхоскопию, бронхографию, присутствие пневмофиброза верифицировалось с использованием спиральной компьютерной томографии (СКТ).

Структура пациентов с ХНЗЛ с очаговым пневмофиброзом включала в себя детей с врожденными пороками развития легких (43%), исходами бронхолегочной дисплазии (41%), хроническим бронхитом (10%), постпневмонический пневмофиброз имел место у 6% пациентов. Средний возраст в исследуемых группах – 6,5±1,2 лет, гендерный состав – мальчиков – 43 (54%), девочек – 36 (46%).

Группа сравнения представлена 46 больными с ХНЗЛ вне обострения, без признаков фиброзирования легочной ткани и нормальной функцией внешнего дыхания, рандомизированными по нозологической структуре основной группой. В группу контроля включены дети без признаков бронхолегочной патологии, практически здоровые, в количестве 30 человек. Все исследуемые группы рандомизированы по полу и возрасту.

Доля клеток со сниженным потенциалом митохондриальной мембраны ($\Delta\psi$) среди субпопуляций лейкоцитов (лимфоцитов, моноцитов,

гранулоцитов) периферической крови определялась методом проточной цитометрии с использованием FACS Calibur и программы Cell Quest Pro, при окраске JC-1 (5,5',6,6'-тетрахлор-1,1',3,3' тетраэтилбензимидазолкарбоцианин иодид/хлорид) (Becton Dikcenson, США). Его поглощение зависит от митохондриального мембранного потенциала. Анализ первичных данных осуществляли методами вариационной статистики с помощью ППП Statistica 10.0 и Excel 2007. Достоверность различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Как статистически значимые, учитывались различия показателей при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате исследования выявлено – доля лимфоцитов со сниженным МПМ ($\Delta\psi$) у пациентов с ХНЗЛ была в 1,7 раза выше, чем у детей в группе контроля ($p < 0,001$) (табл. 1). Достоверных различий в уровне лимфоцитов с мембранным нарушением митохондрий между в основной группой и группой сравнения не обнаружено, это свидетельствует об угнетении энергетической функции лимфоцитов у детей с ХНЗЛ вне зависимости от наличия пневмофиброза. Только у 7,5% детей с ХНЗЛ показатели МПМ ($\Delta\psi$) лимфоцитов были близки к показателям группы контроля.

У детей с ХНЗЛ с наличием фиброза моноциты со сниженным МПМ ($\Delta\psi$) выявлялись чаще в 7,3 раза, по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$), и в 2 раза, чем у детей с ХНЗЛ без фиброза ($p < 0,05$). Дисфункция митохондрий может оказывать влияние на функциональную активность моноцитов, являющихся основными клетками, осуществляющими активный врожденный иммунитет (фагоцитоз, выделение неспецифических медиаторов воспаления, продукция активных форм кислорода и иных противоинфекционных факторов), запуск адаптивного иммунитета (за счет распознавания патогенов PPR – рецепторов, синтеза иммунорегуляторных цитокинов и в качестве антигенпрезентирующих клеток), кроме того, именно эти клетки осуществляют первичное распознавание не только патогенов, но и собственных тканей организма, утративших главный комплекс гистосовместимости и, соответственно, подлежащих утилизации с заменой на функционирующую ткань *ab novo* (в норме) или соединительную ткань (при патологии) [7].

Сниженный уровень МПМ ($\Delta\psi$) гранулоцитов у детей с наличием пневмофиброза выявлялся чаще в 3,4 раза, по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$), и в 1,9 раза, чем у детей с ХНЗЛ без фиброза ($p < 0,05$). От адекватной реализации физиологических функций нейтрофильных гранулоцитов зависит постоянство иммунного гомеостаза организма, поскольку они не только непосредственно фагоцитируют и разрушают патогены, но и регулируют иммунный ответ в процессе воспаления [2].

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ДОЛИ ИКК СО СНИЖЕННЫМ МПМ ($\Delta\psi$) У ДЕТЕЙ (M±m)

TABLE 1. INDICATORS OF THE PROPORTION OF IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS (IBC) WITH REDUCED MMP ($\Delta\psi$) IN CHILDREN (M±m)

Пул клеток Cell pool	**Дети с фиброзом** Children with fibrosis (n = 79)	**Группа сравнения** Comparison group (n = 46)	**Группа контроля** Monitoring group (n = 30)
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	50,85±3,71	49,78±1,85	28,9±2,5**
Гранулоциты, % Granulocytes, %	14,27±3,08	7,35±1,30°	4,2±0,7**
Моноциты, % Monocytes, %	16,15±3,02	8,07±1,08°	2,2±0,4**

Примечание. * – $p < 0,05$ – по отношению к группе контроля; ** – $p < 0,001$ – по отношению к группе контроля; ° – $p < 0,05$ – различия с группой сравнения; °° – $p < 0,001$ – различия с группой сравнения.

Note. *, $p < 0.05$, in relation to the control group; **, $p < 0.001$, in relation to the control group; °, $p < 0.05$, differences with the comparison group; °°, $p < 0.001$, differences with the comparison group.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ДОЛИ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ (ИКК) СО СНИЖЕННЫМ МПМ (%) У ДЕТЕЙ С ХНЗЛ С ЯВЛЕНИЯМИ ПНЕВМОФИБРОЗА В ПЕРИОДЕ ОБОСТРЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ И РЕМИССИИ

TABLE 2. INDICATORS OF THE PROPORTION OF IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS (IBC) WITH REDUCED MMP (%) IN CHILDREN WITH CNZL WITH THE PHENOMENA OF PNEUMOFIBROSIS IN THE PERIOD OF EXACERBATION OF THE DISEASE AND REMISSION

Пул клеток Cell pool	**Обострение** Exacerbation (n = 37)	**Ремиссия** Remission (n = 42)
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	48,3±4,7	46,8±2,9
Гранулоциты, % Granulocytes, %	25,6±4,5	9,4±2,9*
Моноциты, % Monocytes, %	26,2±4,7	7,9±3,0*

Примечание. * – $p < 0,001$.
Note. *, $p < 0.001$.

Таким образом, значимая разница в уровне МПМ между пациентами с пневмофиброзом и без оного наблюдается именно для клеток, непосредственно осуществляющих тканевой фагоцитоз, – макрофагов и гранулоцитов. Снижение мембранного потенциала митохондрий фагоцитирующих клеток инициируют снижение продолжительности жизни, ведет к увеличению количества клеток, находящихся в процессе апоптоза. Клеточный апоптоз является одним из ведущих механизмов, жестко регулирующий и ограничивающий деструктивную способность продуктов фагоцитов к окружающей ткани, и его замедление может изменять характеристики тканевого фагоцитоза [6]. Именно эти клетки уничтожают поврежденную функциональную ткань, которая в норме регенерирует, а при патологическом исходе воспаления заменяется соединительной, и от характера функционирования именно этих клеток, вероятно, зависит какой из этих исходов реализуется.

На следующем этапе работы нами изучались уровни МПМ ИКК у детей с ХНЗЛ осложненными пневмофиброзом в зависимости от наличия обострения на момент исследования. Результаты анализа продемонстрировали достоверные различия доли клеток со сниженным МПМ в обострении и вне его в двух группах ИКК – моноцитах (в 2,7 раза, $p < 0,001$) и гранулоцитах (в 3,3 раза, $p < 0,001$), для лимфоцитов она не различается достоверно в этих группах, и не имеет достоверных отличий с таковой у детей с ХНЗЛ без пневмофиброза (49,78%) (табл. 2).

Исходя из вышеизложенного, доля лимфоцитов со сниженным МПМ сохраняется стабильной у детей с ХНЗЛ, вне зависимости от стадии заболевания и наличия пневмофиброза. Изменения МПМ фагоцитирующих клеток, характерные для пациентов с фибротическими осложнениями воспалительных заболеваний легких в большей степени реализуются именно в фазу обострения, когда доля клеток со сниженым МПМ возрастает трехкратно, в ремиссии она близка к таковой у детей с ХНЗЛ без пневмофиброза.

Заключение

Анализ результатов проведенного исследования приводит к следующим заключениям:

Хронические заболевания легких, даже находящихся в стадии ремиссии, взаимосвязаны с состоянием энергетического метаболизма лимфоцитов, напряженность регуляторного звена иммунитета сохраняется в течении всех стадий заболевания.

Хронические заболевания легких, вне зависимости от наличия пневмофиброза, коррелируют с $\Delta\psi$ лимфоцитов, отличаясь от группы контроля, но МПМ клеток, непосредственно осуществляющих фагоцитоз – нейтрофилов и макрофагов, – взаимосвязано с наличием фиброза и, возможно, является иммунопатогенетической основой для

его развития. Это подтверждается тем, что обострение заболевания у детей с пневмофиброзом не влияет на Δψ лимфоцитов, но МПМ гранулоцитов и макрофагов в обострении и вне его достоверно различаются.

Показатели митохондриальной дисфункции фагоцитирующих ИКК могут являться потенциальными биомаркерами риска развития процессов фиброзирования у детей с хроническими воспалительными процессами в легких.

Список литературы / References

1. Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Виткина Т.И., Антонюк М.В., Жукова Н.В. К вопросу о митохондриальной дисфункции при хронической обструктивной болезни легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2016. Вып. 60. С. 28-33. [Denisenko Yu.K., Novgorodtseva T.P., Vitkina T.I., Antonyuk M.V., Zhukova N.V. Mitochondrial dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Byulleten fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration, 2016, Iss. 60, pp. 28-33.* (In Russ.)]

2. Долгушин И.И., Мезенцева Е.А., Савочкина А.Ю., Кузнецова Е.К. Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы // Инфекция и иммунитет, 2019. Т. 9, № 1. С. 9-38. [Dolgushin I.I., Mezentseva E.A., Savochkina A.Yu., Kuznetsova E.K. Neutrophil as a multifunctional relay in immune system. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2019, Vol. 9, no. 1, pp. 9-38.* (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-9-38

3. Евсеева Г.П., Яковлев Е.И., Лебедько О.А., Кузнецова М.С., Пичугина С.В., Кудерова Н.И., Сирина Т.С., Варакина В.Л., Козлов В.К. Диагностика энергодефицитных состояний у детей с хронической бронхолегочной патологией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2018. Вып. 68. С. 46-51. [Evseeva G.P., Iakovlev E.I., Lebed'ko O.A., Kuznetsova M.S., Pichugina S.V., Kuderova N.I., Sirina T.S., Varakina V.L., Kozlov V.K. The diagnostics of cell energetic deficit in children with chronic bronchopulmonary pathology. *Byulleten fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration, 2018, Iss. 68, pp. 46-51.* (In Russ.)]

4. Игнатович Т.В., Зафранская М.М. Иммунопатогенез фиброза // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2019. № 1. С. 6-17. [Ihnatovich T.V., Zafranskaya M.M. The immunopathogenesis of fibrosis. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology, 2019, no. 1, pp. 6-17.* (In Russ.)]

5. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Мусина Л.А. Экспериментальное моделирование процесса хронического воспаления и фиброза // Биомедицина, 2013. № 4. С. 114-123. [Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Musina L.A. Experimental modeling of the chronic inflammation process and fibrosis. *Biomeditsina = Biomedicine, 2013, no. 4, pp. 114-123.* (In Russ.)]

6. Маянский Н.А. Митохондрии нейтрофилов: особенности физиологии и значение в апоптозе // Иммунология, 2004. Т. 5, № 5. С. 307-311. [Maianski N.A. Neutrophil mitochondria: features of physiology and significance in apoptosis. *Immunologiya = Immunologiya, 2004, Vol. 5, no. 5, pp. 307-311.* (In Russ.)]

7. Савченко А.А., Борисов А.Г., Модестов А.А., Мошев А.В., Кудрявцев И.В., Тоначева О.Г., Кощеев В.Н. Фенотипический состав и хемилюминесцентная активность моноцитов у больных почечно-клеточным раком // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 2. С. 141-150. [Savchenko A.A., Borisov A.G., Modestov A.A., Moshev A.V., Kudryavtsev I.V., Tonacheva O.G., Koshcheev V.N. Monocytes subpopulations and chemiluminescent activity in patients with renal cell carcinoma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2015, Vol. 17, no. 2, pp. 141-150.* (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-2-141-150.

8. Фрелих Г.А., Поломеева Н.Ю., Васильев А.С., Удут В.В. Современные методы оценки функционального состояния митохондрий // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины, 2013. Т. 28, № 3. С. 7-13. [Frelikh G.A., Polomeeva N.U., Vasil'ev A.S., Udut V.V. State of the art methods of evaluation of mitochondrial function. *Sibirskiy zhurnal klinicheskoy i eksperimentalnoy meditsiny = Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2013, Vol. 28, no. 3, pp. 7-13.* (In Russ.)]

9. Хоринко А.В., Амарантов Д.Г., Косарева П.В. Роль нарушения клеточно-матриксных взаимодействий в патогенезе прогрессирования фиброза легких // Журнал анатомии и гистопатологии, 2016. Т. 5, № 3. С. 84-89. [Khorinko A.V., Amarantov D.G., Kosareva P.V. The role of the disorders of cell matrix interactions in the pathogenesis of pulmonary fibrosis progression. *Zhurnal anatomii i gistopatologii = Journal of Anatomy and Histopathology, 2016, Vol. 5, no. 31, pp. 84-89.* (In Russ.)]

10. Aravamudan B., Thompson M.A., Pabelick C.M., Prakash Y.S. Mitochondria in lung diseases. *Expert Rev. Respir. Med., 2013, Vol. 7, no. 5. pp. 631-646.*

11. Brand M.D., Nicholls D.G. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochem. J., 2011, Vol. 435, pp. 297-312.*

12. Drakopanagiotakis F., Xifteri A., Polychronopoulos V., Bouros D. Apoptosis in lung injury and fibrosis. *Eur. Respir. J., 2008, Vol. 32. pp. 1631-1638.*

13. Hao W., Marsh C., Friedman A. A mathematical model of idiopathic pulmonary fibrosis. *PLoS One, 2015, Vol. 10, no. 9, e0135097.* doi: 10.1371/journal.pone.0135097.

14. Prakash Y.S., Pabelick C.M., Sieck G.C. Mitochondrial dysfunction in airway disease. *CHEST, 2017, Vol. 152, no. 3. pp. 618-626.*

15. Widlansky M.E., Wang J., Shenouda S.M., Hagen T.M., Smith A.R., Kizhakekuttu T.J., Kluge M.A., Weihrauch D., Gutterman D.D., Vita J.A. Altered mitochondrial membrane potential, mass, and morphology in the mononuclear cells of humans with type 2 diabetes. *Transl. Res, 2010, Vol. 156, no. 1, pp. 15-25.*

Авторы:

Евсеева Г.П. *– д.м.н., руководитель группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия*

Книжникова Е.В. *– научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия*

Супрун Е.Н. *– к.м.н., старший научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; доцент кафедры госпитальной и факультетской педиатрии с курсом пропедевтики детских болезней ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», г. Хабаровск, Россия*

Супрун С.В. *– д.м.н., главный научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия*

Кудерова Н.И. *– научный сотрудник группы клинической иммунологии и эндокринологии лаборатории комплексных методов исследования бронхо-легочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия*

Authors:

Evseeva G.P., *PhD, MD (Medicine), Head, Group of Medical Environmental Problems of Maternal and Child Health, Laboratory of Integral Studies in Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

Knizhnikova E.V., *Research Associate, Group of Medical Environmental Problems of Maternal and Child Health, Laboratory of Integral Studies in Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

Suprun E.N., *PhD (Medicine), Allergologist-Immunologist, Senior Research Associate, Group of Medical Environmental Problems of Maternal and Child Health, Laboratory of Integral Studies in Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; Associate Professor, Department of Hospital and Faculty Pediatrics with a Course of Propaedeutics of Children's Diseases, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russian Federation*

Suprun S.V., *PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Group of Medical Environmental Problems of Maternal and Child Health, I.Laboratory of Integral Studies in Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

Kuderova N.I., *Research Associate, Clinical Immunology and Endocrinology Group, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

Пичугина С.В. *– научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия*

Pichugina S.V., *Research Associate, Group of Medical Environmental Problems of Maternal and Child Health, Laboratory of Integral Studies in Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

Полубарцева В.В. *– научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии; Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия*

Polubentseva V.V., *Research Associate, Group of Medical Environmental Problems of Maternal and Child Health, Laboratory of Integral Studies in Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

Евдокимова Т.С. *– научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка лаборатории комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии; Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия*

Evdokimova T.S., *Research Associate, Group of Medical Environmental Problems of Maternal and Child Health, Laboratory of Integral Studies in Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

Лебедько О.А. *– д.м.н., заведующая лабораторией комплексных методов исследования бронхолегочной и перинатальной патологии, директор Научно-исследовательского института охраны материнства и детства – Хабаровский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», г. Хабаровск, Россия*

Lebedko O.A., *PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Integral Studies in Bronchopulmonary and Perinatal Pathology Research, Director, Research Institute of Maternity and Childhood Protection, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Khabarovsk, Russian Federation*

Поступила 10.08.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 10.08.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 195-200
© 2022, СПб РО РААКИ

Краткие сообщения
Short communications

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 195-200
© 2022, SPb RAACI

КЛИНИКО-ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОБЩЕГО ВАРИАБЕЛЬНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА У ВЗРОСЛЫХ

Новикова И.А.[1], Прокопович С.С.[1], Саливончик А.П.[2], Романива О.А.[2]

[1] *УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь*
[2] *ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь*

Резюме. Исследовали особенности экспрессии дифференцировочных маркеров лимфоцитов периферической крови методом проточной цитофлуориметрии в комплексе с клиническими проявлениями у 30 взрослых пациентов (12 мужчин и 18 женщин, средний возраст 37,5±12,3 года) с установленным диагнозом «общий вариабельный иммунодефицит» (ОВИД). Обследование пациентов проводилось в период очевидного отсутствия инфекционно-воспалительных заболеваний. Выявлено, что доминирующим иммунофенотипом у взрослых пациентов с ОВИД является увеличение содержания в крови Т-цитотоксических лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$) с высокой экспрессией маркеров активации $HLA\text{-}DR^+$ и $CD38^+$ и снижение изотип-переключенных В-лимфоцитов IgD^-27^+ (практически у 100% обследованных лиц). Максимальная степень увеличения количества Т-киллеров отмечалась у пациентов с низким уровнем В-лимфоцитов ($CD19^+$ менее 6%, $p = 0,005$) и минимальной концентрацией IgG в сыворотке крови (менее 2 г/л, $p = 0,02$). Содержание изотип-переключенных В-клеток коррелировало с уровнем IgG, а также суммарной концентрацией сывороточных иммуноглобулинов A, M и G ($p = 0,02$; $p = 0,003$). У взрослых пациентов ОВИД с сочетанным клиническим фенотипом «инфекционный синдром + аутоиммунное заболевание» содержание изотип-переключенных В-лимфоцитов, IgG и суммарная концентрация Ig в крови значимо ниже ($p = 0,04$; $p = 0,03$ и $p = 0,02$), а активированных Т-киллеров с экспрессией $HLA\text{-}DR^+$ и $CD38^+$ – выше ($p_{\%} = 0,01$; $p_{абс} = 0,02$ и $p_{\%} = 0,004$; $p_{абс} = 0,001$ соответственно) по сравнению с пациентами с изолированным инфекционно-воспалительным синдромом. Также нами установлено, что среди пациентов с наименьшим количеством изотип-переключенных В-клеток IgD^-27^+ (менее 5%) и концентрацией сывороточного IgG (менее 2 г/л) частота встречаемости лимфопролиферативного синдрома выше ($p = 0,04$ и $p = 0,01$ соответственно). Таким образом, низкое содержание изотип-переключенных В-лимфоцитов памяти в периферической крови наиболее характерно для пациентов с более тяжелым клиническим фенотипом ОВИД.

Ключевые слова: лимфоциты, иммунофенотипический анализ, иммуноглобулины, общая вариабельная иммунологическая недостаточность, взрослые пациенты, фенотипы

Адрес для переписки:
Прокопович Светлана Сергеевна
УО «Гомельский государственный медицинский университет»
246000, Республика Беларусь, г. Гомель, ул. Ланге, 5.
Тел.: +375 (232) 35-98-38.
E-mail: prokopovich.s1983@gmail.com

Address for correspondence:
Prokopovich Svetlana S.
Gomel State Medical University
246000, Republic of Belarus, Gomel, Lange str., 5.
Phone: +375 (232) 35-98-38.
E-mail: prokopovich.s1983@gmail.com

Образец цитирования:
И.А. Новикова, С.С. Прокопович, А.П. Саливончик, О.А. Романива «Клинико-иммунофенотипические аспекты общего вариабельного иммунодефицита у взрослых» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 195-200.
doi: 10.15789/1563-0625-CAI-2185
© Новикова И.А. и соавт., 2022

For citation:
I.A. Novikova, S.S. Prokopovich, A.P. Salivonchik, O.A. Romaniva "Clinical and immunophenotypic aspects of common variable immunodeficiency in adults", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 195-200.
doi: 10.15789/1563-0625-CAI-2185
DOI: 10.15789/1563-0625-CAI-2185

CLINICAL AND IMMUNOPHENOTYPIC ASPECTS OF COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY IN ADULTS

Novikova I.A.[a], Prokopovich S.S.[a], Salivonchik A.P.[b], Romaniva O.A.[b]

[a] *Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus*
[b] *Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus*

Abstract. Features of expression of differentiation markers of peripheral blood lymphocytes were studied by flow cytofluorimetry in combination with clinical manifestations in 30 adult patients (12 men and 18 women, mean age 37.5±12.3 years) with the established diagnosis of common variable immunodeficiency (CVID). The examination of patients was carried out in the period of obvious absence of infectious and inflammatory diseases. It was found that the dominant immunophenotype in adult patients with CVID is an increase in the blood content of T cytotoxic lymphocytes ($CD3^+CD8^+$) with high expression of activation markers HLA-DR^+ and $CD38^+$ and a decrease in isotype-switched B lymphocytes IgD^-27^+ (in almost 100% of the examined individuals). The maximum degree of increase in the number of T killers was observed in patients with a low level of B lymphocytes ($CD19^+$ less than 6%, $p = 0.005$) and a minimum concentration of IgG in the blood serum (less than 2 g/l, $p = 0.02$). The content of isotype-switched B cells correlated with the level of IgG, as well as the total concentration of serum immunoglobulins A, M and G ($p = 0.02$; $p = 0.003$). In adult CVID patients with the combined clinical phenotype "infectious syndrome + autoimmune disease", the content of isotype-switched B lymphocytes, IgG and the total concentration of Ig in the blood is significantly lower ($p = 0.04$; $p = 0.03$ and $p = 0.02$), and activated T killers with HLA-DR^+ and $CD38^+$ expression are higher ($p_{\%} = 0.01$; $r_{abs} = 0.02$ and $p_{\%} = 0.004$; $r_{abs} = 0.001$, respectively) compared to patients with isolated infectious – inflammatory syndrome. We also found that among patients with the lowest number of isotype-switched IgD^-27^+ B cells (less than 5%) and serum IgG concentration (less than 2 g/l), the incidence of lymphoproliferative syndrome is higher ($p = 0.04$ and $p = 0.01$, respectively). Thus, the low content of isotype-switched memory B lymphocytes in peripheral blood is most characteristic of patients with a more severe clinical phenotype of CVID.

Keywords: lymphocytes, immunophenotypic analysis, immunoglobulins, common variable immunodeficiency, adult patients, phenotypes

Введение

Общий вариабельный иммунодефицит (ОВИД) представляет собой первичный гуморальный иммунодефицит, характеризующийся нарушением антиген-зависимой дифференцировки В-лимфоцитов и приводящий к недостаточной продукции иммуноглобулинов [5, 8]. В настоящее время выявлены множественные иммунологические аномалии при данном заболевании, касающиеся практически всех звеньев иммунной системы, что приводит к развитию глобальной иммунной дисрегуляции [4]. Это не только нарушение дифференцировки В-лимфоцитов, но различные количественные и функциональные дефекты Т-клеток, естественных киллеров, фагоцитов, нарушение продукции цитокинов, снижение экспрессии костимулирующих молекул (BAFFR, TACI, CD40L, ICOS и др.) [1, 2, 4]. В совокупности эти изменения могут играть немаловажную роль в патогенезе и прогрессировании ОВИД [2]. Кроме иммунологической гетерогенности для ОВИД характерна выраженная неоднородность клинических проявлений, даже у пациентов с одним и тем же генетическим вариантом заболевания [4, 7]. Клинический спектр ОВИД разнообразен и включает рецидивирующие синопульмональные инфекции, бронхоэктазы, энтеропатии, аутоиммунные и гранулематозные заболевания, неопластические процессы [6, 7, 10]. Максимальная иммунологическая и клиническая вариативность ОВИД наблюдается у взрослых, что, возможно, связано с более высокой долей неинфекционных осложнений и прогрессирующим течением заболевания [3, 4]. Данный факт затрудняет эффективную диагностику ОВИД, прогнозирование его течения и подбор индивидуализированных схем лечения.

Цель работы – установить наличие клинико-иммунологических взаимосвязей у взрослых пациентов с ОВИД.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ клинико-иммунологических особенностей 30 пациентов с установленным диагнозом ОВИД (Common Variable Immunodeficiency diagnostic criteria; ESID,

2020), из них 12 мужчин и 18 женщин, средний возраст 37,5±12,3 года. Все пациенты наблюдались в отделении иммунопатологии и аллергологии Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (г. Гомель, Республика Беларусь) с 2014 по 2020 год. Обследование проводилось в период очевидного отсутствия инфекционно-воспалительных заболеваний. Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с когортой пациентов и не имеющих клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности.

Типирование лимфоцитов периферической крови осуществлялось методом проточной цитофлуориметрии с использованием аппарата BD FACS Canto II (США) с помощью наборов моноклональных антител фирм Beckman Coulter (Франция) и Becton, Dickinson and Company (США), конъюгированных с флюорохромами. Оценивали содержание: $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD19^+$, $CD16/CD56^+$, $HLA\text{-}DR^+$, $CD38^+$, IgD^+CD27^-, IgD^+CD27^+, IgD^-CD27^+ лимфоцитов. Концентрацию иммуноглобулинов в сыворотке определяли иммунотурбидиметрически на анализаторе Architec C8000.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов программ StatSoft Statistica 13.0 (Trial-версия) и GraphPad Prism версии 9. Оценка нормальности распределения проводилась с использованием критерия Шапиро–Уилка. Результаты исследования представлялись в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха ($Q_{0.25}$-$Q_{0.75}$). Проверка достоверности различий непараметрически распределенных величин производилась с использованием критерия Манна–Уитни (U-критерий). Для проведения корреляционного анализа использовался ранговый коэффициент Спирмена. Критический уровень нулевой гипотезы принимался при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Данные иммунологического обследования пациентов с ОВИД представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, общее количество лимфоцитов в периферической крови пациентов с ОВИД не отличалось от контрольной группы. В то же время у них отмечалось более высокое содержание Т-лимфоцитов ($p_{\%} < 0,001$), прежде всего за счет $CD3^+CD8^+$ клеток ($p_{\%} < 0,001$; $p_{абс} = 0,004$), тогда как количество $CD3^+CD4^+$ клеток, напротив, уменьшалось ($p_{\%} = 0,009$; $p_{абс} = 0,006$), что приводило к снижению соотношения $CD4^+/CD8^+$ ($p < 0,001$). Следует отметить, что степень увеличения уровня Т-киллеров была максимально выраженной у пациентов с концентрацией IgG в сыворотке менее 2 г/л ($p = 0,02$, данные в таблице не приведены). Также наблюдалось значимое увеличение содержания NKT-лимфоцитов ($CD3^+CD16/CD56^+$) ($p_{\%} = 0,018$; $p_{абс} = 0,033$) и Т-клеток с маркерами ранней и поздней активации $CD3^+CD38^+$ и $CD3^+HLA\text{-}DR^+$ ($p_{\%,\ абс} < 0,001$; и $p_{\%,\ абс} < 0,001$ соответственно), причем экспрессия именно этих маркеров (CD38 и HLA-DR) повышалась в максимальной степени (более чем в 10 раз). Более углубленный анализ субпопуляционного состава активированных лимфоцитов продемонстрировал преобладающий вклад Т-цитотоксических клеток. У всех больных наблюдалось значимое увеличение содержания субпопуляций $CD3^+CD8^+CD38^+$, $CD3^+CD8^+HLA\text{-}DR^+$ ($p = 0,03$; $p = 0,04$ соответственно), тогда как среди Т-хелперов увеличивалось только количество клеток с экспрессией $HLA\text{-}DR^+$ ($p = 0,04$), но не $CD38^+$, которые, напротив, имели тенденцию к снижению. Таким образом, у обследованных нами пациентов с ОВИД активация Т-клеточного звена происходила преимущественно за счет Т-цитотоксических клеток.

Значение медианы количества В-лимфоцитов в периферической крови пациентов было сниженным относительно группы контроля ($p_{\%} = 0,01$; $p_{абс} = 0,02$), однако при индивидуальном анализе показателей отмечалась выраженная неоднородность изменений. Так, уменьшение содержания $CD19^+$ клеток ниже референтного уровня (9,1-12,4%) наблюдалось только у 13 пациентов (43%), тогда как в остальных случаях (17 человек, 57%) значение данного показателя не изменялось. В указанных подгруппах вектор изменений других иммунологических показателей был одинаковым, однако степень повышения $CD3^+$, $CD3^+CD8^+$ клеток, а также снижения NK-клеток оказалась максимально выраженной именно при низких значениях В-лимфоцитов ($p < 0,001$; $p = 0,005$ и $p = 0,04$ соответственно). Данная особенность подтверждалась наличием обратной взаимосвязи уровня В-лимфоцитов с содержанием $CD3^+$, $CD3^+CD8^+$ клеток ($r_s = -0,675$; $p < 0,001$ и $r_s = -0,636$; $p < 0,001$ соответственно) и прямой – с количеством NK-клеток ($r_s = 0,379$; $p = 0,04$). Следует отметить, что по экспрессии маркеров активации Т-клеток анализируемые подгруппы не различались, несмотря на значимое отличие по количеству Т-киллеров.

Известно, что основным механизмом патогенеза ОВИД является нарушение дифференцировки В-клеток, одним из проявлений которого служит выраженное снижение содержания изотип-переключенных В-лимфоцитов памяти (< 70% от возрастной нормы) [3, 5, 9]. В нашем исследовании уменьшение абсолютного и от-

ТАБЛИЦА 1. СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ОВИД, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)

TABLE 1. FLOW CYTOMETRY PARAMETERS IN PATIENTS WITH CVID, Me ($Q_{0,25}$-$Q_{0,75}$)

Показатель, единицы измерения Parameter, units of measurement	**Контрольная группа** Control group (n = 30)	**Пациенты с ОВИД** Patients with CVID (n = 30)
Лейкоциты, × 10^9/л Leukocytes, × 10^9/л	6,06 (4,9-7,3)	6,5 (4,4-9,1)
Лимфоциты, % **× 10^9/л** Lymphocytes, % × 10^9/л	32,5 (26,0-39,5) 1,8 (1,44-2,37)	31,0 (23,0-40,5) 1,56 (1,42-2,23)
CD3$^+$, % **× 10^9/л** CD3$^+$, % × 10^9/l	70,0 (66,7-73,1) 1,3 (0,98-1,67)	78,7 (72,6-86,6)* 1,35 (0,99-1,87)
CD3$^+$CD4$^+$, % **× 10^9/л** CD3$^+$CD4$^+$, % × 10^9/l	43,1 (37,8-47,1) 0,76 (0,62-0,91)	32,3 (28,5-42,5)* 0,58 (0,45-0,78)*
CD3$^+$CD8$^+$, % **× 10^9/л** CD3$^+$CD8$^+$, % × 10^9/l	22,6 (19,6-25,5) 0,43 (0,35-0,56)	36,8 (30,2-47,7)* 0,62 (0,43-0,88)*
ИРИ (соотношение CD4$^+$/CD8$^+$) IRI (CD4$^+$/CD8$^+$ ratio)	1,95 (1,65-2,08)	0,9 (0,6-1,6)*
CD19$^+$, % **× 10^9/л** CD19$^+$, % × 10^9/l	11,6 (9,4-14,0) 0,21 (0,16-0,28)	7,7 (4,5-12,9)* 0,12 (0,05-0,29)*
CD3$^-$CD16/CD56$^+$, % **× 10^9/л** CD3$^-$CD16/CD56$^+$, % × 10^9/l	14,0 (10,6-17,5) 0,26 (0,17-0,35)	10,7 (6,0-12,6)* 0,18 (0,10-0,29)*
CD3$^+$CD16/CD56$^+$, % **× 10^9/л** CD3$^+$CD16/CD56$^+$, % × 10^9/l	3,9 (2,6-5,1) 0,07 (0,05-0,11)	5,9 (2,8-9,3)* 0,1 (0,07-0,15)*
CD3$^+$HLA-DR$^+$, % **× 10^9/л** CD3$^+$HLA-DR$^+$, % × 10^9/l	2,5 (1,3-9,0) 0,05 (0,02-0,15)	16,2 (11,6-28,1)* 0,36 (0,13-0,52)*
CD3$^+$CD38$^+$, % **× 10^9/л** CD3$^+$CD38$^+$, % × 10^9/l	4,2 (3,0-7,3) 0,16 (0,12-0,18)	47,9 (36,5-64,8)* 0,71 (0,56-1,13)*

Примечание. * – различия значимы в сравнении с контрольной группой (p < 0,05; U-критерий Манна–Уитни).

Note. *, the differences are significant in comparison with the control group (p < 0.05; Mann–Whitney U test).

носительного количества CD19$^+$IgD$^-$27$^+$ клеток наблюдалось практически у всех больных (29 человек), однако степень изменения значительно варьировала. В подгруппе пациентов с низким количеством IgD$^-$27$^+$B-лимфоцитов (менее 5%, 17 человек) содержание непереключенных IgD$^+$27$^+$B-клеток памяти было значимо ниже (p = 0,02), а наивных B-лимфоцитов (IgD$^+$27$^-$) – выше (p = 0,004) в сравнении с пациентами с менее выраженным дефектом изотип-переключенных B-клеток (13 человек). Выявлена выраженная сопряженность между содержанием B-клеток различных стадий дифференцировки (IgD$^-$27$^+$ *vs* IgD$^+$27$^+$ r_s = 0,605; p = 0,002), и (IgD$^-$27$^+$ *vs* IgD$^+$27$^-$ r_s = -0,761; p < 0,001). Интересно также отметить, что только во второй подгруппе паци-

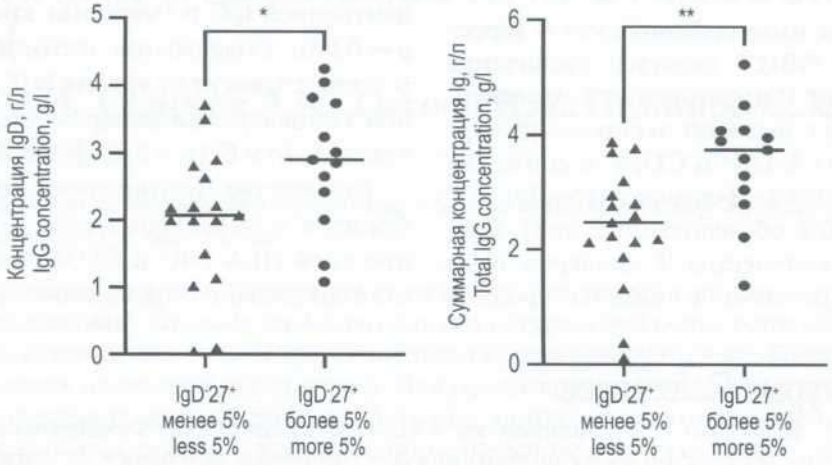


Рисунок 1. Уровень сывороточных иммуноглобулинов (Ig) в зависимости от содержания $CD19^+IgD^-27^+$ клеток в крови

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

Figure 1. IgG concentration and total serum Ig concentration as a function of $CD19^+IgD^-27^+$ cell count

Note. *, differences are significant, p < 0.05; **, differences are very significant, p < 0.01.

ентов отмечалась корреляция между содержанием $CD19^+IgD^-27^+$ и $CD3^+CD8^+HLA\text{-}DR^+$ лимфоцитов (r_s = -0,736; p = 0,002), которая теряла силу при снижении количества IgD^-27^+B-клеток менее 5%.

У пациентов с выраженным дефектом IgD^-27^+ B-клеток памяти отмечались и более низкие медианные уровни IgG, а также суммарной концентрации сывороточных иммуноглобулинов A, M и G (p = 0,02 и p = 0,003 соответственно) (рис. 1).

Полученные данные указывают на наличие как B-клеточных, так и T-клеточных нарушений при ОВИД у взрослых пациентов, и их взаимосвязь со степенью гипогаммаглобулинемии, что подтверждает иммунологическую гетерогенность синдрома.

Известно, что клинические проявления ОВИД также многообразны и включают, кроме рецидивирующих инфекционно-воспалительных заболеваний, ряд неинфекционных осложнений, обусловленных иммунорегуляторными нарушениями, включая аутоиммунные проявления, лимфопролиферацию и злокачественные новообразования [5]. Среди обследуемых нами пациентов рецидивирующие инфекции наблюдались в 100% случаев (30 человек), причем у 9 человек (30,0%) они сочетались с аутоиммунными заболеваниями (алопеция, артрит, тиреоидит, цитопения), а в 5 случаях (16,7%) – с лимфопролиферативным синдромом.

Нами выявлено, что у больных ОВИД с инфекционно-воспалительным синдромом без коморбидной патологии (7 человек) по сравнению с пациентами, имеющими сочетанный клинический фенотип «инфекционный синдром + аутоиммунное заболевание» (9 человек) содержание изотип-переключенных B-лимфоцитов в крови оказалось более высоким (7,4% (3,7-8,5) *vs* 2,6% (0,6-3,6), p = 0,04), а активированных T-киллеров с экспрессией $HLA\text{-}DR^+$ и $CD38^+$ – более низким ($p_{\%}$ = 0,01; $p_{абс}$ = 0,02 и $p_{\%}$ = 0,004; $p_{абс}$ = 0,001 соответственно). Уровень IgG и суммарная концентрация Ig у пациентов с изолированным инфекционно-воспалительным синдромом значимо выше в сравнении с таковой у пациентов с аутоиммунными заболеваниями на фоне ОВИД (p = 0,03 и p = 0,02 соответственно). Также нами установлено, что среди пациентов с наименьшим содержанием IgD^-27^+B-клеток (менее 5%) и концентрацией сывороточного IgG (менее 2 г/л) частота встречаемости лимфопролиферативного синдрома была выше (p = 0,04 и p = 0,01 соответственно).

Таким образом, низкое количество изотип-переключенных B-лимфоцитов памяти ($CD19^+IgD^-27^+$) в периферической крови наиболее характерно для пациентов с более тяжелым клиническим фенотипом ОВИД и, возможно, предвещает худший прогноз заболевания. Дальнейшие исследования по установлению взаимосвязей иммунофенотипа с клиническим фенотипом заболевания позволят оптимизировать диагностику и индивидуализировать подходы к лечению пациентов с ОВИД.

Заключение

Доминирующим иммунофенотипом у взрослых пациентов с ОВИД является увеличение содержания в крови Т-цитотоксических лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$) с высокой экспрессией маркеров активации $HLA\text{-}DR^+$ и $CD38^+$ и снижение изотип-переключенных В-лимфоцитов IgD^-27^+ (практически у 100% обследованных лиц). Степень увеличения количества Т-киллеров была максимальной у больных с низким уровнем В-лимфоцитов ($CD19^+$) и минимальной концентрацией IgG в сыворотке крови (менее 2 г/л, $p = 0,02$). Содержание изотип-переключенных В-клеток зависит от уровня IgG, а также суммарной концентрации сывороточных иммуноглобулинов A, M и G ($p = 0,02$; $p = 0,003$).

Количество изотип-переключенных В-лимфоцитов и активированных Т-киллеров с экспрессией $HLA\text{-}DR^+$ и $CD38^+$ в крови пациентов с ОВИД связано с проявлением аутоиммунности.

Список литературы / References

1. Макеева К.С., Новикова И.А., Саливончик А.П., Плотникова Н.М. Функциональный статус нейтрофилов у пациентов с дефицитом иммуноглобулина А // Проблемы здоровья и экологии, 2018. Т. 2, № 56. С. 47-51. [Makeyeva K.S., Novikova I.A., Salivonchik A.P., Plotnikova N.M. The functional status of neutrophils in patients with immunoglobulin A deficiency. *Problemy zdorovya i ekologii = Health and Ecology Issues, 2018, Vol. 2, no. 56, pp. 47-51.* (In Russ.)]

2. Aggarwal V., Banday A.Z., Jindal A.K., Das J., Rawat A. Recent advances in elucidating the genetics of common variable immunodeficiency. *Genes Dis., 2019, Vol. 6, no. 4, pp. 26-37.*

3. Ameratunga R., Storey P., Barker R., Jordan A., Koopmans W., Woon S.T. Application of diagnostic and treatment criteria for common variable immunodeficiency disorder. *Expert Rev. Clin. Immunol., 2016, Vol. 13, no. 3, pp. 257-266.*

4. Cunningham-Rundles C. Common variable immune deficiency: dissection of the variable. *Immunol. Rev., 2019, Vol. 287, no. 1, pp. 145-161.*

5. King J., Hammastrom L. Screening for primary immunodeficiency diseases: history, current and future practice. *J. Clin. Immunol., 2018, Vol. 38, no. 1, pp. 56-66.*

6. Kozlov A.V., Bykova T.A., Borovkova A.S., Averjanova M.Yu., Ovechkina V.N., Morozova E.V., Zubarovskaya L.S., Mamaev N.N., Afanasyev B.V. Common variable immunodeficiency in a child. A case report. *Cell. Ther. Transplant., 2017, Vol. 6, no. 4 (21), pp. 60-64.*

7. O'Farrill-Romanillos P.M., Herrera-Sánchez D.A., Hernández-Fernández C., López-Rocha E.G. Common immunodeficiency variable in adults. *Rev. Alerg. Mex., 2017, Vol. 64, no. 4, pp. 452-462.*

8. Resnick E.S., Moshier E.L., Cunningham-Rundles C. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood, 2012, Vol. 119, no. 7, pp. 1650-1657.*

9. Saikia B., Gupta S. Common variable immunodeficiency. *Indian J. Pediatr., 2016, Vol. 83, pp. 338-344.*

10. Tam J., Rautes J. Common variable immunodeficiency. *Am. J. Rhinol. Allergy, 2013, Vol. 27, no. 4, pp. 260-265.*

Авторы:

Новикова И.А. *– д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь*

Прокопович С.С. *– ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь*

Саливончик А.П. *– к.б.н., заведующий отделением иммунопатологии и аллергологии ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь*

Романива О.А. *– к.м.н., врач-иммунолог ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь*

Authors:

Novikova I.A., *PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergology and Immunology, Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus*

Prokopovich S.S., *Assistant Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergology and Immunology, Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus*

Salivonchik A.P., *PhD (Biology), Head, Department of Immunopathology and Allergology, Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus*

Romaniva O.A., *PhD (Medicine), Immunologist, Republican Scientific Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus*

Поступила 18.01.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 18.01.2021
Accepted 07.11.2021

Медицинская иммунология
2022, Т. 24, № 1,
стр. 201-206
© 2022, СПб РО РААКИ

Краткие сообщения
Short communications

Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya
2022, Vol. 24, № 1, pp. 201-206
© 2022, SPb RAACI

УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООСПЕННОЙ ВАКЦИНЫ

Щелкунов С.Н., Сергеев А.А., Титова К.А., Пьянков С.А., Якубицкий С.Н.

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Резюме. В настоящее время человеческая популяция практически не имеет иммунитета к ортопоксвирусным инфекциям, которые вызывают вирусы натуральной оспы, оспы обезьян, оспы коров, оспы буйволов. С каждым годом на разных континентах регистрируются все более массовые вспышки ортопоксвирусных инфекций среди людей. Для предотвращения перехода таких вспышек в распространенные эпидемии необходимо разрабатывать методы их вакцинопрофилактики. Массовое применение при этом классической живой вакцины на основе вируса осповакцины в настоящее время неприемлемо из-за ее высокой реактогенности. Поэтому необходимо создавать варианты вируса осповакцины со сниженной вирулентностью и с увеличенной иммуногенностью/протективностью. Целью данной работы было изучение протективного эффекта от летальной ортопоксвирусной инфекции, возникающего после иммунизации мышей в низких дозах вариантами вируса осповакцины с мутантным геном *A34R*, обусловливающим увеличенную продукцию внеклеточных вирионов, или с делетированным геном *A35R*, белковый продукт которого ингибирует представление антигенов главным комплексом гистосовместимости класса II. Сравнивали штамм LIVP вируса осповакцины, который используется в России в качестве противооспенной вакцины, и созданные на его основе рекомбинантные варианты LIVP-A34R*, LIVP-dA35R и LIVP-A34R*-dA35R при интраназальной или внутрикожной иммунизации мышей линии BALB/c в дозах 10^5 или 10^3 БОЕ. Через 28 сут. после введения препаратов вирусов (экспериментальные группы) или физиологического раствора (контрольные группы) у мышей проводили прижизненный забор проб крови из ретроорбитального венозного синуса и в индивидуальных сыворотках крови иммуноферментным анализом определяли уровень вирион-специфичных антител. На 30-е сут. эксперимента мышей заражали вирусом оспы коров в дозе 32 $ЛД_{50}$, что в контрольной группе приводило к полной гибели мышей на 6-10-е сут. В группах мышей, иммунизированных изучаемыми вирусами в дозе 10^5 БОЕ, все животные выжили независимо от штамма и способа иммунизации. При внутрикожной иммунизации в дозе 10^3 БОЕ в группе мышей, иммунизированных исходным вирусом LIVP, выжило 83% животных, а все мутантные штаммы вируса осповакцины обеспечили 100%-ную защиту мышей от последующей инфекции вирусом оспы коров. Интраназальная иммунизация мышей в дозе 10^3 БОЕ штаммом LIVP защищала от летальной инфекции вирусом оспы коров лишь 33% животных, в то время как мутантные штаммы LIVP-A34R* и LIVP-A34R*-dA35R обеспечили защиту 67%, а штамм LIVP-dA35R – 75% мышей. Изученные мутантные вирусы осповакцины могут рассматриваться не только как новые кандидатные вакцины против оспы и других ортопоксвирусных инфекций человека, но и как векторные платформы для создания живых поливалентных вакцин против других инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: вирус осповакцины, вирус оспы коров, мыши, иммунный ответ, антитела, протективность

Адрес для переписки:
Щелкунов Сергей Николаевич
ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора
630559, Россия, Новосибирская область, р. п. Кольцово.
Тел.: 8 (903) 939-94-80.
Факс: 8 (383) 336-74-09.
E-mail: snshchel@rambler.ru, snshchel@vector.nsc.ru

Address for correspondence:
Shchelkunov Sergei N.
State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector"
630559, Russian Federation, Novosibirsk Region, Koltsovo.
Phone: 7 (903) 939-94-80.
Fax: 7 (383) 336-74-09.
E-mail: snshchel@rambler.ru, snshchel@vector.nsc.ru

Образец цитирования:
С.Н. Щелкунов, А.А. Сергеев, К.А. Титова, С.А. Пьянков, С.Н. Якубицкий «Увеличение протективности противооспенной вакцины» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 1. С. 201-206. doi: 10.15789/1563-0625-IPO-2203

© Щелкунов С.Н. и соавт., 2022

For citation:
S.N. Shchelkunov, A.A. Sergeev, K.A. Titova, S.A. Pyankov, S.N. Yakubitskiy "Increasing protectivity of the smallpox vaccine", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 1, pp. 201-206. doi: 10.15789/1563-0625-IPO-2203

DOI: 10.15789/1563-0625-IPO-2203

IINCREASING PROTECTIVITY OF THE SMALLPOX VACCINE

Shchelkunov S.N., Sergeev A.A., Titova K.A., Pyankov S.A., Yakubitskiy S.N.

State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation

Abstract. At the present time, vast majority of human population lacks immunity against orthopoxvirus infections caused by variola (smallpox), monkeypox, cowpox, or buffalopox viruses. More and more mass outbreaks of orthopoxvirus infections are yearly registered among humans on different continents. To prevent transition of these outbreaks to widespread epidemics, we should develop appropriate immunoprophylaxis strategies. Currently, massive usage of the classic live vaccine based on vaccinia virus is not acceptable, due to its high reactogenicity. Therefore, it is necessary to develop the variants of vaccinia virus with reduced virulence and increased immunogenicity/protectivity. The aim of this work was to study protective effects against a lethal orthopoxvirus infection occuring after low-dose immunization of mice with vaccinia virus variants, i.e., carrying mutant *A34R* gene causing increased production of extracellular virions, or a *A35R* gene deletion encoding protein product inhibiting antigen presentation by the major histocompatibility complex class II. The LIVP viral strain used in Russia as a smallpox vaccine, and its recombinant variants (LIVP-A34R*, LIVP-dA35R and LIVP-A34R*-dA35R) were compared with intranasal or intradermal immunization of BALB/c mice at the doses of 10^5 or 10^3 PFU. 28 days following administration of viral preparations (experimental groups) or saline (control groups), the mice underwent intravital blood sampling from retroorbital venous sinus. The levels of virion-specific antibodies were determined in individual serum samples by enzyme immunoassay. On the day 30 of experiment, the mice were infected with cowpox virus at a dose of 32 LD_{50}, which caused total death of control mice on days 6-10. In the groups immunized with the studied viruses at a dose of 10^5 PFU, all the animals survived, regardless of strain, or immunization method. Upon intradermal immunization (10^3 PFU) of mice immunized with the original LIVP virus, 83% of the animals survived, whereas all mutant strains of the vaccinia virus provided 100% protection of the mice from subsequent cowpox virus infection. Intranasal immunization of mice at a dose of 10^3 PFU with LIVP strain protected only 33% of animals from lethal infection with cowpox virus, while the mutant strains LIVP-A34R* and LIVP-A34R*-dA35R provided 67% protection, and the LIVP-dA35R strain has resqued 75% of the mice. The studied mutant vaccinia viruses can be considered not only new candidate vaccines against smallpox and other human orthopoxvirus infections, but also as vector platforms for creating live multivalent vaccines against other infectious diseases.

Keywords: vaccinia virus, cowpox virus, mice, immune response, antibodies, protectivity

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 19-14-00006).

Введение

Благодаря использованию вируса осповакцины (vaccinia virus, VACV) в качестве живой вакцины и строгому эпидемиологическому контролю к 1980 году удалось ликвидировать в глобальном масштабе такое особо опасное инфекционное заболевание человека как натуральная оспа. После удостоверения этого исторического события Всемирная организация здравоохранения настоятельно рекомендовала всем странам прекратить противооспенную вакцинацию [5]. Это было обусловлено тем, что при массовой вакцинации VACV в небольшом проценте случаев вызывал тяжелые побочные реакции, иногда завершающиеся летальными исходами [10]. За прошедшие с тех пор 40 лет человеческая популяция практически утратила иммунитет не только к оспе, но и другим зоонозным ортопоксвирусным инфекциям, которые вызывают близкородственные вирусу натуральной оспы вирусы оспы обезьян, оспы коров, оспы буйволов. Это привело к возрастанию опасности зоонозных ортопоксвирусов для человека. С каждым годом на разных континентах регистрируются все более массовые вспышки ортопоксвирусных инфекций среди людей [2, 9]. Для предотвращения перехода таких вспышек в распространенные эпидемии необходимо разрабатывать методы их иммунопрофилактики, главным из которых является вакцинопрофилактика. Массовое применение при этом классической вакцины на основе VACV в настоящее время противопоказано вследствие ее высокой реактогенности. Поэтому необходимо создавать варианты VACV со сниженной вирулентностью (аттенуированные, ослабленные) и/или с увеличенной иммуногенностью/протективностью [6, 8]. В последнем случае можно значительно снизить иммунизирующую дозу вируса и тем самым избавиться от патогенного воздействия VACV на организм [12].

Целью данной работы было изучение протективного (защитного) эффекта от летальной ортопоксвирусной инфекции, возникающего после иммунизации мышей в низких дозах вариантами VACV с направленно измененным геном *A34R*,

обусловливающим увеличенную продукцию внеклеточных вирионов, или с делетированным геном *A35R*, контролирующим представление антигенов главным комплексом гистосовместимости класса II.

Материалы и методы

Штамм LIVP вируса осповакцины (VACV) [12] и созданные на его основе рекомбинантные варианты VACV LIVP-A34R* [11], LIVP-dA35R [14] и LIVP-A34R*-dA35R, а также штамм GRI-90 вируса оспы коров (CPXV) [1] получены из коллекции ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

В исследованиях использовали инбредных разнополых 3-5-недельных мышей линии BALB/c массой 13-16 г, полученных из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Подопытных животных содержали на стандартном рационе с достаточным количеством воды согласно ветеринарному законодательству и в соответствии с требованиями по гуманному содержанию и использованию животных в экспериментальных исследованиях. Исследования и манипуляции на животных были проведены с одобрения комитета по биоэтике ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (Протокол № ГНЦ ВБ «Вектор»/08-09.2020 от 25.09.2020 г.).

Препараты вирусов LIVP, LIVP-A34R*, LIVP-dA35R и LIVP-A34R*-dA35R или физиологический раствор вводили животным интраназально (и/н) или внутрикожно (в/к), как описано [12]. Использовали дозы заражения 10^5 или 10^3 БОЕ/30 мкл/животное. В каждой группе экспериментальных и контрольных животных было по 6 особей.

Через 28 сут. после введения препаратов VACV (экспериментальные группы) или физиологического раствора (контрольные группы) у мышей проводили прижизненный забор проб крови из ретроорбитального венозного синуса с помощью одноразовых стерильных капилляров. Из крови мышей была получена сыворотка путем осаждения форменных элементов крови центрифугированием. Индивидуальные образцы сывороток крови мышей хранили при температуре минус 20 °С.

Иммуноферментный анализ (ИФА) индивидуальных сывороток крови мышей выполняли, как описано [12]. В качестве антигена использовали очищенный препарат зрелых внутриклеточных вирионов VACV LIVP. Вычисляли средние геометрические значения логарифмов обратного титра VACV-специфических IgG по экспериментальным группам и рассчитывали доверительные интервалы для уровня 95% вероятности совпадения каждой выборки с генеральной совокупностью.

На 30-е сут. эксперимента (второй день после взятия крови) иммунизированных вирусами и контрольных животных и/н заражали вирусом оспы коров штамм GRI-90 в дозе 32 $ЛД_{50}$. За животными наблюдали в течение 14 сут. и регистрировали их гибель.

Результаты и обсуждение

Вирус VACV входит в состав рода Orthopoxvirus семейства Poxviridae, объединяющего крупнейшие ДНК-содержащие вирусы млекопитающих. Вирусный геном ортопоксвирусов в зависимости от вида имеет размер 190-220 тыс. пар нуклеотидов и кодирует около 200 белков. Основной инфекционной формой в потомстве данных вирусов является внутриклеточный зрелый вирион (intracellular mature virion, IMV), в состав которого входит не менее 85 разных вирусных белков. Небольшая часть синтезируемых в клетке вирусных частиц одевается дополнительной липопротеидной оболочкой и такие оболочечные вирионы (extracellular enveloped virion, EEV) выходят из инфицированных клеток. EEV дополнительно содержат 8 вирусных белков, ассоциированных с их внешней оболочкой [10].

Препараты вакцин на основе VACV содержат в основном IMV частицы, получаемые после разрушения инфицированных клеток. Следует отметить, что только при размножении VACV *in vivo* происходит продукция антител как к антигенам IMV, так и EEV форм. Более того, только живой вирус в организме животного индуцирует синтез протективных антител к невирионным белкам, а также стимулирует клеточный иммунный ответ [6].

Сложная организация ортопоксвирусов обусловливает то, что механизм иммунной защиты от оспы (и других ортопоксвирусных инфекций) до сих пор не полностью изучен [3, 6, 10]. Известно, что гуморальный (антительный) ответ на противооспенную вакцинацию играет решающую роль в защите от последующей вирусной инфекции [4, 6, 13].

Ортопоксвирусы в процессе коэволюции с чувствительными к ним животными выработали различные молекулярные механизмы подавления разных этапов развития врожденного и адаптивного иммунных ответов на инфекцию. Удаление или направленная модификация вирусных генов, которые подавляют иммунный ответ организма на инфекцию, в некоторых случаях может обусловливать увеличение иммуногенности VACV [2, 11].

Ранее было показано, что белок, кодируемый геном *A35R* VACV, ингибирует презентацию антигенов главным комплексом гистосовместимости класса II, тем самым снижая антительный ответ на вирусную инфекцию [7, 14]. Делеция гена *A35R* приводит к аттенуации VACV [7] и увеличению продукции вируспецифичных антител [14].

Ген *A34R* направляет синтез белка, который входит в состав липопротеидной оболочки EEV

и контролирует высвобождение этой формы вирионов из клеток и эффективное распространение их по инфицированному организму. Большинство штаммов VACV продуцируют менее 1% EEV в суммарном потомстве при размножении на культурах клеток, но введение двух точечных мутаций в гене *A34R* приводит к увеличению пропорции EEV до 30% продуцируемых вирионов и как следствие повышает иммунный ответ на инфекцию [11, 15].

Патогенность и иммуногенность VACV зависят от используемого штамма вируса, способа и дозы его введения в организм животного [4, 10]. В большинстве работ иммуногенные свойства вариантов VACV изучали при введении их мышам в дозах от 10^6 до 10^8 БОЕ [7, 11, 12, 13, 14, 15]. Снижение иммунизирующей дозы VACV приводит не только к уменьшению реактогенности вируса, но и к снижению уровня синтезируемых VACV-специфичных антител [4, 11, 12].

В данной работе нами впервые изучено на мышиной модели влияние вирусных генов *A34R* и *A35R* на свойства протективности VACV при введении вирусов в низкой иммунизирующей дозе.

Проводили сравнение клонового варианта штамма LIVP и полученных на его основе мутантных штаммов LIVP-A34R* (в ген *A34R* направленно введены две точечные мутации, приводящие к увеличению продукции EEV [11]), LIVP-dA35R (направленно делетирован ген *A35R* [14]) и LIVP-A34R*-dA35R. Мышам линии BALB/c вводили изучаемые вирусы интраназально (и/н) или внутрикожно (в/к) в дозах 10^5 или 10^3 БОЕ.

Для оценки протективности (защитного эффекта) на 30-е сут. после иммунизации мышей и/н заражали CPXV GRI-90 в дозе 32 $ЛД_{50}$. В группе положительного контроля (введен физиологический раствор) инфекция CPXV приводила к полной гибели мышей на 6-10 сут. В группах мышей, иммунизированных изучаемыми вирусами в дозе 10^5 БОЕ, все животные выжили не зависимо от штамма и способа иммунизации.

При в/к иммунизации в дозе 10^3 БОЕ все рекомбинантные штаммы VACV обеспечили 100% защиту мышей от последующей инфекции CPXV. В группе мышей, иммунизированных исходным вирусом LIVP, при этом выжило 83% животных.

И/н иммунизация мышей в дозе 10^3 БОЕ привела к формированию существенно меньшего протективного эффекта. Исходный штамм LIVP при этом обеспечил защиту лишь 33% животных от летальной инфекции CPXV, в то время как рекомбинантные штаммы VACV LIVP-A34R* и LIVP-A34R*-dA35R обеспечили защиту 67%, а штамм LIVP-dA35R – 75% мышей (рис. 1).

ИФА сывороток крови в экспериментальных группах мышей показал, что при в/к иммунизации всеми вариантами VACV индуцируется более

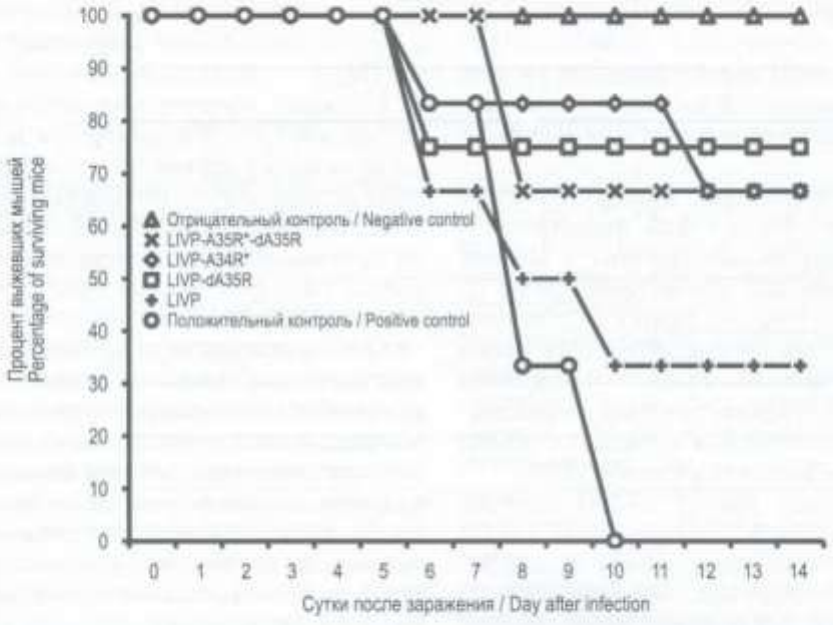


Рисунок 1. Динамика гибели мышей, иммунизированных VACV LIVP, LIVP-dA35R, LIVP-A34R*, LIVP-A34R*-dA35R в дозе 10^3 БОЕ/животное, после их интраназального заражения CPXV GRI-90 в дозе 32 $ЛД_{50}$ на 30 сут. эксперимента

Примечание. Приведены данные для групп животных, иммунизированных соответствующими вирусами, а также не иммунизированных групп и не инфицированных (Отрицательный контроль) или зараженных CPXV GRI-90 (Положительный контроль).

Figure 1. Death dynamic of mice, immunized by VACV LIVP, LIVP-dA35R, LIVP-A34R*, LIVP-A34R*-dA35R in dose 10^3 pfu/animal after intranasal infection with CPXV GRI-90 in 32 LD_{50} dose on day 30 of the experiment

Note. Data for animal groups immunized with the corresponding virus or non-immunized groups and non-infected (Negative control) or infected by CPXV GRI-90 (Positive control).

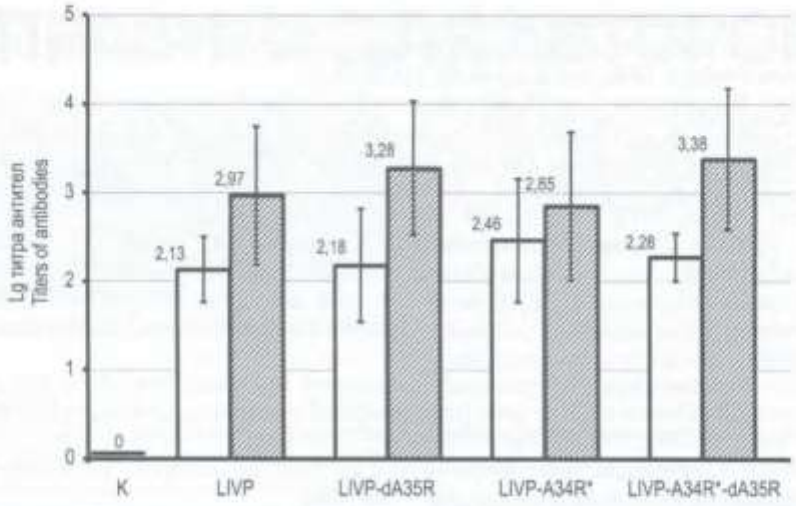


Рисунок 2. Титры VACV-специфичных антител в сыворотке крови мышей, инфицированных интраназально (белые столбцы) или внутрикожно (столбцы со штриховкой) вирусами LIVP, LIVP-dA35R, LIVP-A34R* или LIVP-A34R*-dA35R, определенные методом ИФА

Примечание. Цифрами над столбцами указаны средние геометрические значения логарифма обратного титра VACV-специфических IgG для групп из 6 животных. К – контрольная группа.

Figure 2. Titers of VACV-specific antibodies in sera of mice, infected intranasally (the white bars) and intradermally (the bars) by the viruses LIVP, LIVP-dA35R, LIVP-A34R* or LIVP-A34R*-dA35R assessed by ELISA

Note. The geometric means of log reciprocal titer of VACV-specific IgG determined for the study groups of 6 animals are mentioned by digits. C, control group.

высокий уровень антител, специфичных к антигенам IMV VACV, по сравнению с аналогичными группами животных, и/н иммунизированных (рис. 2).

Таким образом, меньший протективный эффект, выявленный при и/н введении вирусных препаратов по сравнению с в/к инъекцией, обусловлен меньшим уровнем индуцируемых VACV-специфичных антител.

Заключение

Введение точечных мутаций, приводящих к заменам Asp110 → Asn и Lys151 → Glu в белке A34, либо делеция гена *A35R* в составе генома VACV LIVP приводит к увеличению защитного эффекта вируса от последующей летальной ортопоксвирусной инфекции (рис. 1). Наиболее выраженно этот эффект наблюдался при низкой иммунизирующей дозе (10^3 БОЕ), когда штамм VACV LIVP, используемый в России для противооспенной вакцинации, не обеспечивал 100% защиты от 32 $ЛД_{50}$ CPXV GRI-90. Следует отметить, что двойная мутация A34R*-dA35R не обеспечивала кумулятивного эффекта по увеличению выработки IMV-специфичных антител и усилению протективного эффекта от последующей летальной ортопоксвирусной инфекции мышей. По-видимому, изученные мутантные вирусы обусловливают увеличение протективности не только за счет продукции антител к вирионным белкам IMV VACV, но и вследствие более эффективной индукции других механизмов развития гуморального и клеточного иммунных ответов как на вирионные, так и на невирионные вирусные белки [3, 6].

В культивируемых клетках животных изученные мутантные вирусы размножаются с такой же эффективностью, как исходный штамм LIVP [11, 14]. Возможность снижения иммунизирующей дозы этих вариантов VACV позволяет при необходимости значительно упростить производство на их основе большого количества доз живой вакцины для массовой вакцинации.

Вирусы LIVP-A34R* и LIVP-dA35R могут рассматриваться не только как новые кандидатные живые вакцины против оспы и других ортопоксвирусных инфекций человека, но и как векторные платформы для создания на их основе методами генетической инженерии поливалентных вакцин против других инфекционных заболеваний.

Список литературы / References

1. Маренникова С.С., Гашников П.В., Жукова О.А., Рябчикова Е.И., Стрельцов В.В., Рязанкина О.И., Чекунова Э.В., Янова Н.Н., Щелкунов С.Н. Биотип и генетическая характеристика изолята вируса оспы коров, вызвавшего инфекцию ребенка // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1996. № 4. С. 6-10. [Marennikova S.S., Gashnikov P.V., Zhukova O.A., Ryabchikova E.I., Streltsov V.V., Ryazankina O.I.,

Chekunova E.V., Yanova N.N., Shchelkunov S.N. Biotype and genetic characterization of the isolate of cowpox virus having caused infection in a child. *Zhurnal mikrobiologii epidemiologii i immunologii =Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 1996, no. 4, pp. 6-10.* (In Russ.)]

2. Щелкунов С.Н., Щелкунова Г.А. Нужно быть готовыми к возврату оспы // Вопросы вирусологии, 2019. Т. 64, № 5. С. 206-214. [Shchelkunov S.N., Shchelkunova G.A. We should be prepared to smallpox re-emergence. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, Russian Journal), 2019, Vol. 64, no. 5, pp. 206-214.* (In Russ.)]

3. Albarnaz J.D., Torres A.A., Smith G.L. Modulating vaccinia virus immunomodulators to improve immunological memory. *Viruses, 2018, Vol. 10, e101.* doi: 10.3390/v10030101.

4. Belyakov I.M., Earl P., Dzutsev A., Kuznetsov V.A., Lemon M., Wyatt L.S., Snyder J.T., Ahlers J.D., Franchini G., Moss B., Berzofsky J.A. Shared models of protection against poxvirus infection by attenuated and conventional smallpox vaccine viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003, Vol. 100, pp. 9458-9463.*

5. Fenner F., Henderson D.A., Arita I., Jezek Z., Ladnyi I.D. Smallpox and its eradication. Geneva: World Health Organization, 1988. 1460 p.

6. Moss B. Smallpox vaccines: targets of protective immunity. *Immunol. Rev., 2011, Vol. 239, no. 1, pp. 8-26.*

7. Rehm K.E., Roper R.L. Deletion of the gene from modified vaccinia virus Ankara increases immunogenicity and isotype switching. *Vaccine, 2011, Vol. 29, pp. 3276-3283.*

8. Sanchez-Sampedro L., Perdiguero B., Mejias-Perez E., Garcia-Arriaza J., Di Pilato M., Esteban M. The evolution of poxvirus vaccines. *Viruses, 2015, Vol. 7, pp. 1726-1803.*

9. Shchelkunov S.N. An increasing danger of zoonotic orthopoxvirus infections. *PLoS Pathog., 2013, Vol. 9, e1003756.* doi: 10.1371/journal.ppat.1003756.

10. Shchelkunov S.N., Shchelkunova G.A. Genes that control vaccinia virus immunogenicity. *Acta Naturae, 2020, Vol. 12, pp. 33-41.*

11. Shchelkunov S.N., Yakubitskiy S.N., Bauer T.V., Sergeev A.A., Kabanov A.S., Bulichev L.E., Yurganova I.A., Odnoshevskiy D.A., Kolosova I.V., Pyankov S.A., Taranov O.S. The influence of an elevated production of extracellular enveloped virions of the vaccinia virus on its properties in infected mice. *Acta Naturae, 2020, Vol. 12, pp. 120-132.*

12. Shchelkunov S.N., Yakubitskiy S.N., Sergeev A.A., Kabanov A.S., Bauer T.V., Bulichev L.E., Pyankov S.A. Effect of the route of administration of the vaccinia virus strain LIVP to mice on its virulence and immunogenicity. *Viruses, 2020, Vol. 12, 795.* doi: doi.org/10.3390/v12080795.

13. Xu R., Johnson A.J., Liggitt D., Bevan M.J. Cellular and humoral immunity against vaccinia virus infection of mice. *J. Immunol., 2004, Vol. 172, pp. 6265-6271.*

14. Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Maksyutov R.A., Shchelkunov S.N. Highly immunogenic variant of attenuated vaccinia virus. *Dokl. Biochem. Biophys., 2016, Vol. 466, pp. 35-38.*

15. Yu J., Li Y., Zhong M., Yang J., Zhou D., Zhao B., Cao Y., Yan H., Zhang E., Yang Y., Feng Z., Qi X., Yan H. Improved immune response against HIV-1 Env antigen by enhancing EEV production via K151E mutation in the A34R gene of replication-competent vaccinia virus Tiantan. *Antiviral Res., 2018, Vol. 153, pp 49-59.*

Авторы:

Щелкунов С.Н. *– д.б.н., профессор, главный научный сотрудник ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Сергеев А.А. *– к.б.н., ведущий научный сотрудник ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Титова К.А. *– младший научный сотрудник ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Пьянков С.А. *– ведущий научный сотрудник ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Якубицкий С.Н. *– младший научный сотрудник ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора, р. п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

Authors:

Shchelkunov S.N., *PhD, MD (Biology), Professor, Chief Research Associate, State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Sergeev A.A., *PhD (Biology), Leading Research Associate, State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Titova K.A., *Junior Research Associate, State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Pyankov S.A., *Leading Research Associate, State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Yakubitskiy S.N., *Junior Research Associate, State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation*

Поступила 11.02.2021
Принята к печати 07.11.2021

Received 11.02.2021
Accepted 07.11.2021

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства **(http://mimmun.ru)** в соответствии с требованиями журнала «Медицинская иммунология» и «Инструкцией по подготовке и отправке статьи», представленной на сайте.

С 2016 г. в журнале публикуются статьи на русском и на английском языках.

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., Appletion and 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. Узаконенные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL»,

а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli, Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения (с, ч, см, мл, мг, kDa и т.д.), регламентированного международными правилами.

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, то есть ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором. Весь иллюстративный материал присылается в двух экземплярах и на диске в виде отдельных файлов.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота – 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца – 82 мм, для 2 столбцов – 170 мм

Таблицы. Каждая таблица печатается на отдельном листе (в отдельном файле на диске) через 2 интервала. Нумерация таблиц дается арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и 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, нарисуночные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. На обороте каждой иллюстрации подписывается фамилия первого автора, название статьи и порядковый номер. Для публикации в журнале принимаются только оригиналы фотографий (не ксерокопии) хорошего качества, максимально приближенные к вышеуказанным размерам. Фотографии не должны иметь больших полей, т. е. фотографический материал должен занимать всю площадь фотографии. 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 «Медицинская иммунология» 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. Статья может быть отклонена, если она им не соответствует.

А. 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. Также авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Медицинская иммунология» 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.

Б. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.

В. 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 всех авторов (полностью) (на русском и английском языках);
- подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа (если в работе участвовали авторы из разных учреждений, это должно быть отмечено звездочками) (в русском и официально принятом английском вариантах);
- 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;
- 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. *Название рисунка (где название рисунка соответствует содержащемуся в файле рисунку. Порядковый номер 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, вначале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой	Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше	Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована - для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий (это возможно для таких типов публикаций, как тезисы, книги и др.) - редакция просит предоставить их перевод, используя красный цвет шрифта. **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

Текст должен быть 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.

Текст соответствует стилистическим и библиографческим требованиям.

Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать на сайте журнала (http://mimmun.ru) из рубрики **Рецензирование**, в разделе **«О Журнале»**.

**Вы можете оформить подписку на журнал «Медицинская иммунология» через отделения связи:
Каталог «Роспечать» – индекс 83030; Каталог «Пресса России» – индекс 42311.
Подписка на электронную версию журнала на сайте www.elibrary.ru**

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абакумова Т.В. 171
Антонеева И.И. 171
Антонюк М.В. 109
Ашканова Т.М. 135
Балацкая Н.В. 81, 157
Баранова Н.И. 97
Белоглазов В.А. 7
Бондаренко Е.С. 121
Бурмистрова А.Л. 41
Вавилов М.Н. 41
Виткина Т.И. 109
Гаганов Л.В. 147
Гвозденко Т.А. 109
Генинг С.О. 171
Генинг Т.П. 171
Губанов Б.Г. 89
Даренская М.А. 89
Евдокимова Т.С. 187
Евсеева Г.П. 187
Егоров В.И. 147
Златник Е.Ю. 121
Зурочка А.В. 147
Зыблев С.Л. 69
Зыблева С.В. 69
Иванова Е.В. 31
Казачинская Е.И. 19
Калинина Н.М. 181
Кармокова А.Г. 157
Каспаров Э.В. 89
Катаргина Л.А. 81
Книжникова Е.В. 187
Кнышова В.В. 109
Колесников С.Н. 89
Колесникова Л.И. 89
Корженевская Н.П. 53
Корженевский А.А. 53
Костина Е.М. 97
Кривошеина О.И. 31
Кудерова Н.И. 187
Куликова И.Г. 81, 157
Куликова О.А. 97
Курбачева О.М. 147
Лебедько О.А. 187
Левашова О.А. 97
Лысенков С.П. 135
Любимова Е.В. 147
Микрюкова Н.В. 181
Минеева Е.Е. 109
Муженя Д.В. 135
Мякошина Е.Б. 81
Нероев В.В. 157
Нероева Н.В. 157
Новгородцева Т.П. 109
Новикова И.А. 195, 121
Орлова Е.А. 97
Песков А.Б. 171
Пичугина С.В. 187
Полубарцева В.В. 187
Прокопович С.С. 195
Пьянков С.А. 201
Романива О.А. 195
Рябина М.В. 157
Ряпова Э.И. 7
Саакян С.В. 81
Савлевич Е.Л. 147
Саливончик А.П. 195
Сергеев А.А. 201
Ситковская А.О. 121
Смирнова О.В. 89
Смольков И.В. 135
Сташкевич Д.С. 41
Супрун Е.Н. 187
Супрун С.В. 187
Суслова Т.А. 41
Татаркова Е.А. 135
Татарникова Е.Б. 31
Титова К.А. 201
Тугуз А.Р. 135
Ульянова Е.П. 121
Хацац Д.З. 135
Шаньшин Д.В. 19
Шестопалов А.М. 19
Шумилов Д.С. 135
Щелкунов С.Н. 201
Щербаков Д.Н. 19
Юренко А.В. 109
Якубицкий С.Н. 201
Яцков И.А. 7

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

аллергический ринит 97, 148
антигены 54
антитела 201
атеросклероз 136
аутоиммунное воспаление 31
бронхиальная астма 148
вакцина 19
взрослые пациенты 195
вирус денге 19
вирус осповакцины 201
вирус оспы коров 201
возрастная макулярная дегенерация 158
воспаление 8, 97
«географическая атрофия» 158
гиперергический 69
гистамин 182
гломерулонефрит 54
ДАО 182
диабет 54
диаминоксидаза 182
динамика 122
доброкачественная опухоль яичников 172
иммунный ответ 201
иммуноглобулины 97, 195
иммунокомпетентные клетки крови 188
иммунотип 69
иммунофенотипический анализ 195
инфекция 31
ишемическая болезнь сердца 136
кластерный анализ 69
клинические фенотипы 110
колоректальный рак 122
коронавирус 8
лейкотриены 97
лимфоциты 195
лихорадка денге 19
локальный иммунитет 122
«макулярная атрофия» 158
мембранный потенциал митохондрий 188
механическая желтуха 90
мукозальный иммунитет 97
мультиплексный анализ 148, 158
мыши 201
натуральные киллеры 136
начальная меланома хориоидеи 82
нейтрофилы 172
нейтрофильные гранулоциты 90
непереносимость гистамина 182
общая вариабельная иммунологическая недостаточность 195
органосохранное лечение 82
ОРДС 8
патогенез 31
пиелонефрит 54
поликистоз 54
полиморфизмы генов цитокинов 136
полипозный риносинусит 148
популяционная иммуногенетика 42
прогностическая модель 82
протективность 201
рак яичников 172
распространенность 122
Региональный регистр доноров костного мозга 42
ремоделирование слизистой оболочки верхних дыхательных путей 148
ригидность мембраны 172
русская популяция 42
системный иммунитет 122
слезная жидкость 158
стволовые опухолевые клетки 122
сыворотка крови 158
толерогенный 69
трансплантация 54
трансплантация почки 69
трансформирующие факторы роста TGF-β1 148
трансформирующие факторы роста TGF-β2 82, 148
трансформирующие факторы роста TGF-β3 148
фактор роста гепатоцитов 82
фенотипы 148, 195
фиброз 188
ХНЗЛ 188
холангиокарцинома 90
хориоидальная неоваскуляризация 158
хроническая крапивница 182
хроническая обструктивная болезнь легких 110
хронический периферический увеит 31
хронический риносинусит 97
цитокины 31, 97, 136, 148, 158
цитотоксичность 136
эндотоксин 8
COVID-19 8
HLA 42
IL-1β 136
IL-17A 136
IL-18 172
IL-2 172
IL-4 136
LPS 8
MCP-1 172
MICA 42
MICB 42
RANTES 82
Т-клетки 31
Th-зависимый тип иммунного ответа 110
TIMP-1 172
TNFα 136

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ТЕЧЕНИЯ НАЧАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ ХОРИОИДЕИ ПОСЛЕ ОРГАНОСОХРАННОГО ЛЕЧЕНИЯ, ОСНОВАННАЯ НА КЛИНИКО-МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЯХ» (АВТОР: МЯКОШИНА Е.Б., КУЛИКОВА И.Г., БАЛАЦКАЯ Н.В., КАТАРГИНА Л.А., САКЯН С.В. [с. 81-88])

ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE «PREDICTIVE MODEL OF SMALL CHOROIDAL MELANOMA PROGRESSION AFTER EYE-SAVING TREATMENT BASED ON CLINICAL, MORPHOMETRIC AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS» (AUTHOR: MYAKOSHINA E.B., KULIKOVA I.G., BALATSKAYA N.V., KATARGINA L.A., SAAKYAN S.V. [pp. 81-88])

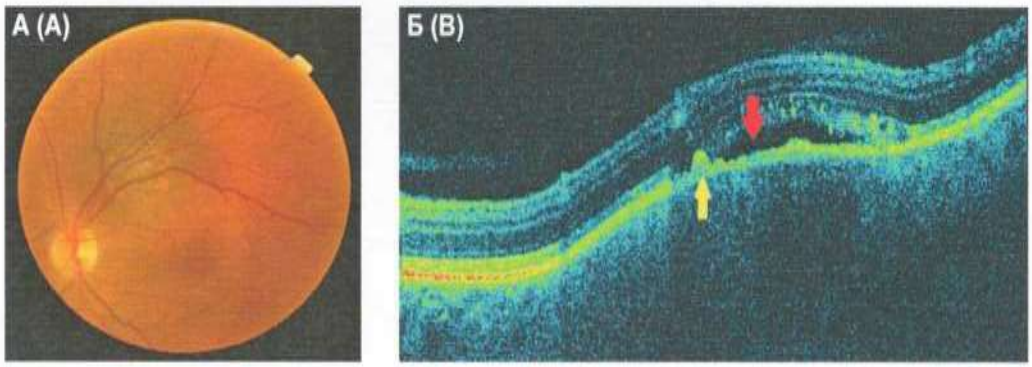


Рисунок 1. Офтальмоскопия (А) и ОКТ-скан (Б – красной стрелкой обозначена отслойка нейроэпителия, желтой стрелкой обозначена дезорганизация пигмента в ретинальном пигментном эпителии) начальной меланомы хориоидеи

Figure 1. Ophthalmoscopy (A) and OCT scan (B, red arrow indicates neuroepithelial detachment, yellow arrow indicates pigment disorganization in the retinal pigment epithelium) of small choroidal melanoma

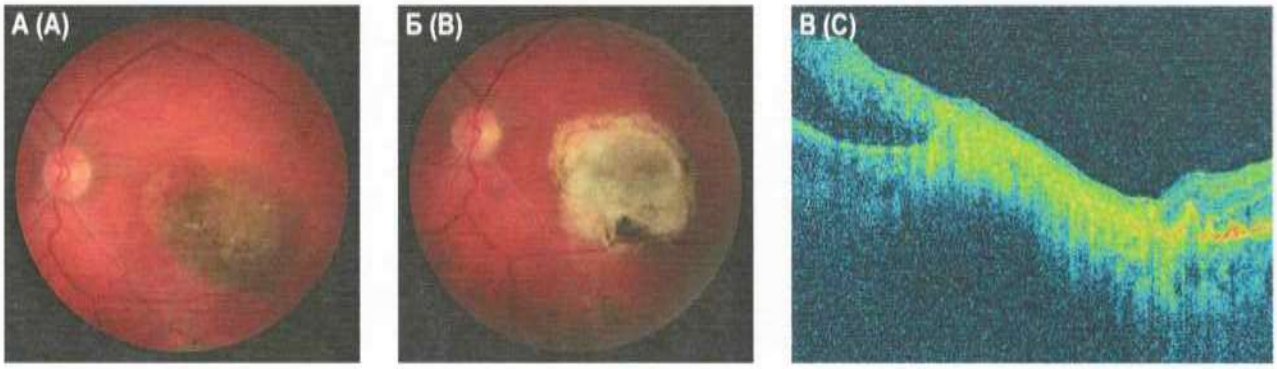


Рисунок 2. Офтальмоскопия начальной меланомы хориоидеи до лечения (А) и офтальмоскопия (Б) и ОКТ-скан (В) хориоретинального рубца через 4 месяца после транспупиллярной термотерапии (благоприятное течение меланомы хориоидеи)

Figure 2. Ophthalmoscopy of small choroidal melanoma before treatment (A) and ophthalmoscopy (B) and OCT scan (C) of the chorioretinal scar 4 months after transpupillary thermotherapy (favorable course of choroidal melanoma)

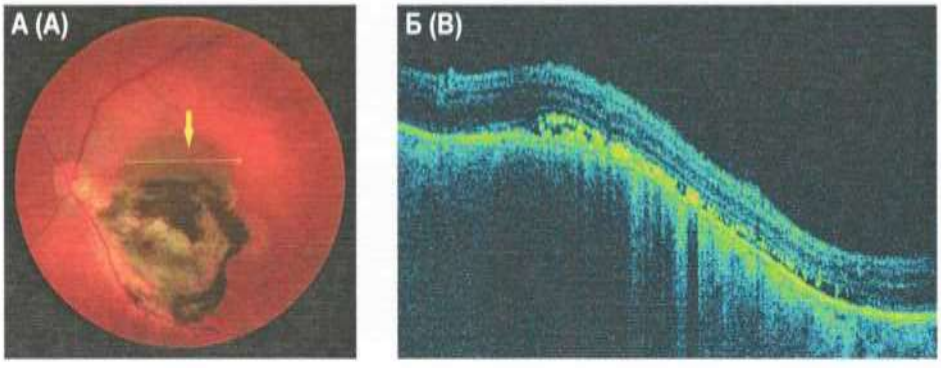


Рисунок 3. Офтальмоскопия (А – утолщенной желтой стрелкой указан продолженный рост опухоли, тонкой поперечной стрелкой указана зона ОКТ-сканирования) и ОКТ-скан (Б) продолженного роста начальной меланомы хориоидеи через 4 месяца после транспупиллярной термотерапии (неблагоприятное течение меланомы хориоидеи)

Figure 3. Ophthalmoscopy (A, thick yellow arrow indicates continued tumor growth, thin transverse arrow indicates the OCT scan area) and OCT scan (B) of continued growth of small choroidal melanoma 4 months after transpupillary thermotherapy (unfavorable course of choroidal melanoma)

ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:
РОСПЕЧАТЬ – 83030
ПРЕССА РОССИИ – 42311

