

Том 28, № 4. С. 879-1094

2025

Официальный журнал
Российского Научного Общества Иммунологов

**РОССИЙСКИЙ
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**

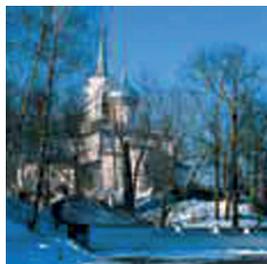


**RUSSIAN JOURNAL
OF IMMUNOLOGY**

Official Journal
of Russian Society of Immunology

Volume 28
Number 4

2025



XVI Всероссийская школа по клинической иммунологии

«ИММУНОЛОГИЯ ДЛЯ ВРАЧЕЙ»

25 – 31 января 2026 года

Пушкинские Горы, Псковская область

Организаторы:

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Российская Академия Наук

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека

Комитет по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга
Администрация Псковской области

ГНЦ – Институт иммунологии ФМБА России
Институт экспериментальной медицины
НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора
Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

Российское научное общество иммунологов
Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов
Российское цитокиновое общество
Ассоциация специалистов и организаций
лабораторной службы «Федерация Лабораторной Медицины»
Санкт-Петербургское региональное отделение Всероссийской Общественной
Организации – Ассоциации Аллергологов и Клинических Иммунологов

В программе школы:

- Лекции ведущих российских иммунологов
- Лекции зарубежных специалистов
- Семинары по практическим вопросам иммунологии

Пакет слушателя включает:

- Посещение лекций и семинаров
- Проживание
- 3-разовое питание
- Трансфер Псков – Пушкинские Горы и обратно (железнодорожный вокзал, аэропорт)

**Слушатели, зарегистрированные на сайте НМО www.sovetnmo.ru,
получат зачетные единицы**

Координатор проекта:
*Зам. председателя СПб РО РААКИ,
академик РАН Толоян Арег Артемович*
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14
НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Заявки подавать до 31 декабря 2025 года.
Секретариат: Ракитянская Наталья Владимировна
Тел./факс: (812) 644-63-12, e-mail: shkola@spb-raaki.ru
Адрес для корреспонденции:
197101, Санкт-Петербург, а/я 130, СПб РО РААКИ

РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИММУНОЛОГОВ
(РНОИ)

РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

октябрь-декабрь

2025, том 28

№. 4

Основан в 1996 году

Главный редактор

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

Заместители главного редактора

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

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

Редакционная коллегия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Полторац Александр – профессор, Школа биомедицинских наук имени Саклера, Университет Тафтса, Бостон, США

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

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

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

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

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

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

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

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

Ответственные секретари:

Ризопулу А.П., д.б.н. (Москва)

Ракитянская Н.В. (Санкт-Петербург)

E-mail: rusimmun@gmail.com

Редактор перевода:

Исаков Д.В., к.м.н. (Санкт-Петербург)

Редактор электронной версии:

Ерофеева В.С. (Санкт-Петербург)

Редакция: тел./факс (812) 233-08-58

Адрес для корреспонденции:

Редакция журнала «Российский иммунологический журнал»

197101, Санкт-Петербург, а/я 130

Электронная версия: www.rusimmun.ru

© Российский иммунологический журнал

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

Данный материал распространяется по лицензии

Creative Commons Attribution 4.0 License.

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

Шварц Герберт – Школа медицины Йонг Лу Лин Национального университета Сингапура

Редакционный совет

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Свирич Оксана Анатольевна – доктор медицинских наук, академик РАН, директор НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Издательство «Человек»

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

E-mail: mail@mirmed.ru

Тел./факс: (812) 325-25-64.

Подписано в печать 27.08.2025 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 27. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.)

Напечатано в ООО «Цифровая фабрика «Быстрый Цвет».

197022, Санкт-Петербург, наб. реки Карповки, 5, корп. 16, Литер А, пом.1-Н, 101.

Тел.: (812) 644-40-44.

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

RUSSIAN SOCIETY OF IMMUNOLOGY
(RSI)

**RUSSIAN
JOURNAL OF IMMUNOLOGY**

**ROSSIYSKIY
IMMUNOLOGICHESKIY
ZHURNAL**

October-December

2025, volume 28

No. 4

Published since 1996

Editor-in-chief

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

Deputy Editor-in-Chief

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

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

Editorial board

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

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

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

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

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

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

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

Musa R. Khatov – MD, PhD, Professor, RAS Full Member, Director, State Scientific Center "Institute of Immunology", FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Managing Editors:

Anna Rizopulu, PhD (Biology) (Moscow)

Natalia Rakitianskaia, (St. Petersburg)

E-mail: rusimmun@gmail.com

Translation editor:

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

Online version editorial manager:

Vera S. Erofeeva (St. Petersburg)

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

Address for correspondence:

Editorial Office of the "Russian Journal of Immunology"

197101, St.Petersburg, post box 130

Electronic version: www.rusimmun.ru

© Russian Journal of Immunology

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

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

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

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

Editorial Council

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Oksana A. Svitich – MD, PhD, Professor, RAS Full Member, Director, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera RAMS, Moscow, Russian Federation

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

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

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

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

Chelovek Publishing House

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

E-mail: mail@mirmed.ru

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

Passed for printing 27.08.2025. Print format 60 x 90 1/8. Offset printing.

Printed sheets 27. Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies.)

Print in LLC "Fast Color Digital Factory"

197022, Russian Federation, St. Petersburg, Emb. Karpovka River,

5/16-A, 1-H, 101

Phone: (812) 644-40-44

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

СОДЕРЖАНИЕ

Краткие сообщения

Устюжанина М.О., Коваленко Е.И.

АНАЛИЗ КЛОНАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ НК-КЛЕТОК НА ОСНОВЕ ДАННЫХ SINGLE-CELL ТРАНСКРИПТОМИКИ 887

Ковалева С.В., Поезжаев Е.А., Тетерин Ю.В., Пиктурно С.Н.

ПОЗИТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ И СУБПОПУЛЯЦИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ И CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ ПОД ВЛИЯНИЕМ АРГИНИЛ- α -АСПАРТИЛ-ЛИЗИЛ-ВАЛИЛ-ТИРОЗИЛ-АРГИНИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO* У ИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ИММУНОСТАРЕНИИ 893

Алексеева Н.А., Стрельцова М.А., Вавилова Ю.Д., Деев С.М., Коваленко Е.И.

ТРАНСДУЦИРОВАННЫЕ HER2-CAR-НК-КЛЕТКИ ПРОЯВЛЯЮТ ПОВЫШЕННУЮ ЦИТОТОКСИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРОТИВ HER2-ПОЗИТИВНЫХ ОПУХОЛЕЙ 901

Гаврилова Е.Д., Гойман Е.В., Демченко Е.Н., Вольский Н.Н.

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК В КРОВИ МЫШЕЙ ПРИ Th1- И Th2-ЗАВИСИМОМ ВАРИАНТЕ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» 907

Лебедева Т.П., Курилова Е.А., Сидорова М.В., Тучина О.П.

ВЛИЯНИЕ ОБОГАЩЕННОЙ СРЕДЫ НА ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ПАМЯТЬ И ЭКСПРЕССИЮ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ МИКРОГЛИИ У МЫШЕЙ ЛИНИИ Balb/c 913

Калиниченко Е.О., Козырева О.В., Сидоров Н.Г., Сорокина Е.В., Михайлова Н.А.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСА АНТИГЕНОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ НА АКТИВАЦИЮ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА CD54 КЛЕТКАМИ ПРОМОНОЦИТАРНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА U937 919

Пашков Е.А., Куликова Л.А., Светич О.А., Зверев В.В.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *IFN α* И *IFN β* ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ МИРНК, НАПРАВЛЕННЫХ К ГЕНУ *Nip98* ПРИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВПГ-1 *IN VITRO* 925

Шуплецова В.В., Мелашенко О.Б., Газатова Н.Д., Хазиахматова О.Г., Минина А.С., Коптева А., Кабанчук Н.А., Первенецкая Т.Н., Гончаров А.Г., Литвинова Л.С.

СОДЕРЖАНИЕ ХЕМОКИНОВ RANTES, IL-8 И MIR-1 β В ЛИЗАТАХ ТРОМБОЦИТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ДОНОРСКОЙ КРОВИ 931

Скачков И.П., Актанова А.А., Денисова В.В., Пашкина Е.А.

ИММУННЫЙ СТАТУС И ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛ HLA-E, HLA-G И HLA-DR НА КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫХ Т-ЛИМФОЦИТАХ У ПАЦИЕНТОВ СО МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ДО И ПОСЛЕ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК 939

Филиппова Ю.Ю., Русакова К.А., Бурмистрова А.Л.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОГЛИЯ-ПОДОБНЫХ КЛЕТОК ИЗ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АУТИЗМОМ 947

Закиров Р.Ш., Петричук С.В., Карасева О.В.

ОЦЕНКА ОСНОВНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ У ДЕТЕЙ 953

Иванова О.Н., Иванова И.С.

СЕМЕЙНЫЙ СЛУЧАЙ СОРН-СИНДРОМА У ДЕТЕЙ 965

Жузула А.А., Курбатова О.В., Петричук С.В., Фисенко А.П., Сновская М.А., Мовсисян Г.Б., Потапов А.С., Семикина Е.Л.

ЛАБОРАТОРНЫЕ КРИТЕРИИ ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ДИАГНОСТИКИ АУТОИММУННОГО ГЕПАТИТА И БОЛЕЗНИ ВИЛЬСОНА У ДЕТЕЙ 971

Костоломова Е.Г., Сахаров С.П., Полянских Е.Д., Лозовая П.Б.

Т-ЛИМФОЦИТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА 979

Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Сафонцева А.Д., Чапурина В.Н., Лягуша Д.Э., Барова Н.К.

РЕКОНСТРУКТИВНОЕ ИММУНОМОДУЛИРОВАНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТИМИЧЕСКОГО ГЕКСАПЕПТИДА КОЛИЧЕСТВА И ФЕНОТИПА СУБПОПУЛЯЦИЙ CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ И CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ДЕСТРУКТИВНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ АССОЦИИРОВАНО С ПОЗИТИВНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ 983

Кулакова А.С.

ЖАК/СТАТ-СИГНАЛИНГ: НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ В ДИАГНОСТИКЕ ОЖИРЕНИЯ 993

Нефедьева Ю.В., Шишкова Ю.С., Зиганшин О.Р.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ 999

Боева О.С., Борисевич В.И., Аббасова В.С., Козлов В.А., Королев М.А., Омельченко В.О., Курочкина Ю.Д., Рыбакова А.Д., Пашкина Е.А.
ПОВЫШЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВА CD5⁺ КЛЕТОК СРЕДИ ILC2 У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТОМ 1003

Александров В.А., Шилова Л.Н., Александров А.В.
СВЯЗЬ СЫВОРОТОЧНЫХ АНГИОПОЭТИН-ПОДОБНЫХ БЕЛКОВ 2-ГО, 3-ГО И 4-ГО ТИПОВ С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ОСТЕОАРТРИТА 1009

Никитин М.В., Александрова Н.В., Алёхина И.Ю., Безуглов И.Д., Александров А.В., Зборовская И.А.
ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА D НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ У ПАЦИЕНТОВ С АНКИЛОЗИРУЮЩИМ СПОНДИЛИТОМ 1015

Норка А.О., Воробьев С.В., Кузнецова Р.Н., Коробова З.Р., Тополян Арег А.
ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ СХС-ХЕМОКИНОВ В ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С УШИБОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА 1023

Афридонова З.Э., Топтыгина А.П., Семикина Е.Л.
ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ К S-БЕЛКУ SARS-CoV-2 СОХРАНЯЕТСЯ СПУСТЯ 4 ГОДА ПОСЛЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ 1033

Добрынина М.А., Зурочка В.А., Зурочка А.В.
ВЛИЯНИЕ ТЕЧЕНИЯ ОСТРОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 НА ТЕЧЕНИЕ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА 1039

Пашинина О.А., Пашкова Т.М., Карташова О.Л., Попова Л.П., Кузьмин М.Д., Гриценко В.А.
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИММУНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ЭНТЕРОКОККОВ И СТАФИЛОКОККОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ БАКТЕРИАЛЬНОМ ПРОСТАТИТЕ 1047

Азизова З.Ш., Мусаходжаева Д.А., Рузимурадов Н.Ф., Олимова Н.И.
СИСТЕМНАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ, ГОРМОНАЛЬНЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ У ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ 1055

Мусаходжаева Д.А., Рустамова Н.Б., Азизова З.Ш., Маннопжонов П.Б., Исмаилова Д.У.
ОСОБЕННОСТИ ХЕМОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ЖЕНЩИН С АДЕНОМИОЗОМ 1061

Борисевич В.И., Боева О.С., Аббасова В.С., Демина Д.В., Козлов В.А.
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА ЭКСПРЕССИЮ hLA-E ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ 1067

Пирогова А.И., Ломтатидзе Л.В., Филиппов Е.Ф.
КОМБИНИРОВАННЫЙ ИММУНОДЕФИЦИТ У ПОЖИЛЫХ ЛИЦ С ХОБЛ КАК ПРОЯВЛЕНИЕ СТАРЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ 1073

Найдёнкина С.Н., Ермакова М.К., Мотигуллин Р.Р.
АКТУАЛЬНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ О ЛИХОРАДКЕ КАК ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ ТЕМПЕРАТУРОФОБИИ 1081

Авторский указатель 1093

Предметный указатель 1094

CONTENTS

Short communications

Ustiuzhanina M.O., Kovalenko E.I.

ANALYSIS OF CLONAL NK CELL POPULATIONS USING SINGLE-CELL TRANSCRIPTOMICS DATA 887

Kovaleva S.V., Poezhaev E.A., Teterin Yu.V., Pikturko S.N.

IN VITRO POSITIVE MODIFICATION OF EFFECTOR FUNCTIONS AND SUBSETS OF CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ AND CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ NEUTROPHIL GRANULOCYTES FROM IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS WITH IMMUNOSENESCENCE INDUCED BY ARGINYL- α -ASPARTYLLYSYL-VALYL-TYROSYL-ARGININE..... 893

Alekseeva N.A., Streltsova M.A., Vavilova Yu.D., Deyev S.M., Kovalenko E.I.

HER2-CAR-NK CELLS EXHIBIT ENHANCED CYTOTOXIC ACTIVITY TOWARDS HER2-POSITIVE TUMORS 901

Gavrilova E.D., Goiman E.V., Demchenko E.N., Volskiy N.N.

CELL-FREE DNA IN BLOOD OF MICE WITH Th1- AND Th2-DEPENDENT VARIANTS OF CHRONIC GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE..... 907

Lebedeva T.P., Kurilova E.A., Sidorova M.V., Tuchina O.P.

EFFECT OF ENRICHED ENVIRONMENT ON SPATIAL MEMORY AND EXPRESSION OF MICROGLIAL ACTIVATION MARKERS IN Balb/c MICE 913

Kalinichenko E.O., Kozyreva O.V., Sidorov N.G., Sorokina E.V., Mikhailova N.A.

ASSESSING EFFECTS OF AN ANTIGEN COMPLEX FROM OPPORTUNISTIC BACTERIA ON ACTIVATION OF CD54 RECEPTOR EXPRESSION BY HUMAN PROMONOCYTTIC U937 CELL LINE 919

Pashkov E.A., Kulikova L.A., Svitich O.A., Zverev V.V.

ALTERATION OF IFN α AND IFN β GENE EXPRESSION BY siRNA TARGETING THE *Nup98* GENE DURING IN VITRO HSV-1 INFECTION 925

Shupletsova V.V., Melashchenko O.B., Gazatova N.D., Khaziakhmatova O.G., Minina A.S., Kopteva A., Kabanchuk N.A., Pervenetskaya T.N., Goncharov A.G., Litvinova L.S.

CONTENT OF RANTES, IL-8 AND MIP-1 β CHEMOKINES IN PLATELET LYSATES OBTAINED FROM DONOR BLOOD..... 931

Skachkov I.P., Aktanova A.A., Denisova V.V., Pashkina E.A.

IMMUNE STATUS AND EXPRESSION OF HLA-E, HLA-G AND HLA-DR MOLECULES ON CONVENTIONAL T LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA BEFORE AND AFTER AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION..... 939

Filippova Yu.Yu., Rusakova K.A., Burmistrova A.L.

METHODOLOGICAL ASPECTS OF EX VIVO-GENERATED MONOCYTE-DERIVED MICROGLIA-LIKE CELLS IN CHILDREN WITH AUTISM 947

Zakirov R.Sh., Petrichuk S.V., Karaseva O.V.

BASIC LYMPHOCYTE SUBSETS DURING THE POSTTRAUMATIC PERIOD IN CHILDREN..... 953

Ivanova O.N., Ivanova I.S.

A FAMILY CASE OF SOPH SYNDROME IN CHILDREN..... 965

Zhuzhula A.A., Kurbatova O.V., Petrichuk S.V., Fisenko A.P., Snovskaya M.A., Movsisyan G.B., Potapov A.S., Semikina E.L.

LABORATORY CRITERIA FOR IMPROVING THE DIAGNOSIS OF AUTOIMMUNE HEPATITIS AND WILSON'S DISEASE IN CHILDREN 971

Kostolomova E.G., Sakharov S.P., Polyanskiy E.D., Lozovaya P.B.

PERIPHERAL BLOOD T LYMPHOCYTES IN BURN INJURY IN YOUNG CHILDREN 979

Nesterova I.V., Chudilova G.A., Safontseva A.D., Chapurina V.N., Lyagusha D.E., Barova N.K.

RECONSTRUCTIVE IMMUNOMODULATION UNDER THE INFLUENCE OF THYMIC HEXAPEPTIDE OF NUMBER AND PHENOTYPE OF SUBSETS CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ AND CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN CHILDREN WITH ACUTE DESTRUCTIVE PNEUMONIA, IS ASSOCIATED WITH POSITIVE CLINICAL EFFICACY..... 983

Kulakova A.S.

JAK/STAT SIGNALING: NOVEL PROSPECTIVES IN THE OBESITY DIAGNOSTICS 993

Nefedyeva Yu.V., Shishkova Yu.S., Ziganshin O.R.

CHANGES OF PERIPHERAL BLOOD PARAMETERS IN PATIENTS WITH PSORIASIS..... 999

Boeva O.S., Borisevich V.I., Abbasova V.S., Kozlov V.A., Korolev M.A., Omelchenko V.O., Kurochkina Yu.D., Rybakova A.D., Pashkina E.A.
INCREASED RELATIVE CD5⁺ILC2 COUNTS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS 1003

Aleksandrov V.A., Shilova L.N., Aleksandrov A.V.
ASSOCIATION OF SERUM ANGIOPOIETIN-LIKE PROTEINS TYPES 2, 3 AND 4 WITH CLINICAL MANIFESTATIONS OF OSTEOARTHRITIS..... 1009

Nikitin M.V., Aleksandrova N.V., Alekhina I.Yu., Bezuglov I.D., Aleksandrov A.V., Zborovskaya I.A.
IMPACT OF VITAMIN D DEFICIENCY ON EFFICIENCY OF REHABILITATION PROGRAMS IN PATIENTS WITH ANKYLOSING SPONDYLITIS 1015

Norka A.O., Vorobyev S.V., Kuznetsova R.N., Korobova Z.R., Totolian Areg A.
EVALUATION OF CXCL12 CHEMOKINE LEVELS IN CEREBROSPINAL FLUID OF PATIENTS WITH BRAIN CONTUSIONS 1023

Afridonova Z.E., Toptygina A.P., Semikina E.L.
IMMUNOLOGICAL MEMORY TO SARS-CoV-2 S PROTEIN PERSISTS 4 YEARS AFTER THE DISEASE..... 1033

Dobrynina M.A., Zurochka V.A., Zurochka A.V.
INFLUENCE OF CLINICAL FEATURES IN ACUTE COVID-19 INFECTION ON THE COURSE OF POST-COVID SYNDROME 1039

Pashinina O.A., Pashkova T.M., Kartashova O.L., Popova L.P., Kuzmin M.D., Grijsenko V.A.
COMPARATIVE IMMUNE RESISTANCE OF ENTEROCOCCI AND STAPHYLOCOCCI ISOLATED IN CHRONIC BACTERIAL PROSTATITIS 1047

Azizova Z.Sh., Musakhodzhayeva D.A., Ruzimurodov N.F., Olimova N.I.
SYSTEMIC RELATIONSHIPS OF INFLAMMATORY, HORMONAL, AND METABOLIC MARKERS IN WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME 1055

Musakhodzhayeva D.A., Rustamova N.B., Azizova Z.Sh., Mannopzhonov P.B., Ismailova D.U.
CHARACTERISTICS OF THE CHEMOKINE PROFILE IN WOMEN WITH ADENOMYOSIS 1061

Borisevich V.I., Boeva O.S., Abbasova V.S., Demina D.V., Kozlov V.A.
EVALUATION OF THE IMPACT OF GENETICALLY ENGINEERED BIOLOGICAL THERAPY ON HLA-E EXPRESSION IN BRONCHIAL ASTHMA AND ATOPIC DERMATITIS 1067

Pirogova A.A., Lomtadze L.V., Filippov E.F.
COMBINED IMMUNODEFICIENCY IN ELDERLY PERSONS WITH COPD AS A MANIFESTATION OF IMMUNE AGING..... 1073

Naydenkina S.N., Ermakova M.K., Motigullin R.R.
CURRENT VIEWS OF MEDICAL PROFESSIONALS ON FEVER MAY CAUSE A FEVER PHOBIA..... 1081

Author index 1093

Subject index 1094

АНАЛИЗ КЛОНАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ НК-КЛЕТОК НА ОСНОВЕ ДАННЫХ SINGLE-CELL ТРАНСКРИПТОМИКИ

Устюжанина М.О.^{1,2,3}, Коваленко Е.И.¹

¹ ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
Российской академии наук, Москва, Россия

² АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий», Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Естественные киллеры (НК-клетки) являются ключевым компонентом противовирусного иммунитета, демонстрируя исключительную адаптивность при таких инфекциях, как цитомегаловирус человека (hCMV) и SARS-CoV-2. Современные методы single-cell транскриптомики выявили существование клональных популяций НК-клеток с уникальными функциональными профилями, что стирает традиционные границы между врожденным и адаптивным иммунитетом. Однако функциональная гетерогенность и иммунологическая значимость этих клонов остаются недостаточно изученными. Данное исследование направлено на анализ клональной гетерогенности НК-клеток с использованием опубликованных данных scRNA-seq от hCMV-серопозитивных, серонегативных доноров и пациентов с COVID-19, с акцентом на кластер-специфические паттерны экспрессии генов. В работе применялся вычислительный pipeline на основе Seurat для интеграции и кластеризации данных высокого разрешения от hCMV-серопозитивных ($n = 5$) и серонегативных ($n = 2$) доноров, а также пациентов с COVID-19 ($n = 2$). Данные анализировали в Seurat 5 (R) после контроля качества, нормализации (SCTransform), интеграции (коррекция batch-эффектов) и кластеризации (UMAP). Проводили анализ дифференциальной экспрессии генов (критерии: тест Вилкоксона, $\log_2FC > 0,25$, $p\text{-adj} < 0,05$) с последующей аннотацией. У hCMV-серопозитивных доноров выявлено 12 транскрипционно различных кластеров НК-клеток с *KLRC2* (NKG2C)-зависимой организацией, где отдельные клоны демонстрировали либо повышенный цитотоксический потенциал (активация *GZMB/GZMA*), либо уникальные профили ингибиторных рецепторов (вариабельная экспрессия KIR). В серонегативной группе обнаружена более простая клональная структура (9 кластеров) с уменьшенным разнообразием KIR, но сохранением характерных эффекторных генетических сигнатур. У пациентов с COVID-19 выявлены различные клональные паттерны: у одного наблюдалась сниженная вариабельность *KLRC2* при выраженной экспрессии *KLRC1* (NKG2A), тогда как у другого отмечалась гетерогенность KIR без вариаций *KLRC2*. Наше исследование демонстрирует существование различных

Адрес для переписки:

Устюжанина Мария Олеговна
ФГБУН «Институт биоорганической химии имени
академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
Российской академии наук
117997, Россия, Москва, ГСП-7,
ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
Тел.: 8 (495) 330-40-11.
E-mail: mashaust1397@gmail.com

Address for correspondence:

Mariya O. Ustiuzhanina
Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences
16/10 Miklouho-Maclay St, GSP-7
Moscow
117997 Russian Federation
Phone: +7 (495) 330-40-11.
E-mail: mashaust1397@gmail.com

Образец цитирования:

М.О. Устюжанина, Е.И. Коваленко «Анализ
клональных популяций НК-клеток на основе данных
single-cell транскриптомики» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 887-892.
doi: 10.46235/1028-7221-17245-AOC

© Устюжанина М.О., Коваленко Е.И., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.O. Ustiuzhanina, E.I. Kovalenko “Analysis of clonal NK cell
populations using single-cell transcriptomics data”, Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 887-892.
doi: 10.46235/1028-7221-17245-AOC

© Ustiuzhanina M.O., Kovalenko E.I., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17245-AOC

клональных популяций НК-клеток при hCMV-инфекции и COVID-19, характеризующихся дивергентной экспрессией активирующих и ингибиторных рецепторов. Полученные данные раскрывают инфекционно-специфическую динамику клональных популяций НК-клеток, подчеркивая их адаптивный потенциал через дифференциальную экспрессию рецепторов в противовирусных ответах.

Ключевые слова: НК-клетки, scRNAseq, hCMV, COVID-19, NKG2, KIR

ANALYSIS OF CLONAL NK CELL POPULATIONS USING SINGLE-CELL TRANSCRIPTOMICS DATA

Ustiuzhanina M.O.^{a, b, c}, Kovalenko E.I.^a

^a Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

^b Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russian Federation

^c Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Natural killer (NK) cells represent a critical component of antiviral immunity, demonstrating remarkable adaptability during infections such as human cytomegalovirus (hCMV) and SARS-CoV-2. Recent advances in single-cell transcriptomics have revealed the clonally expanding NK cell populations with distinct functional profiles, blurring the traditional boundaries between innate and adaptive immunity. However, the functional heterogeneity and immunological significance of these clones remain incompletely understood. Our aim was to dissect clonal NK cell heterogeneity using published scRNA-seq datasets from hCMV-seropositive, seronegative, and COVID-19 patients, focusing on cluster-specific gene expression patterns. Our computational pipeline employed Seurat-based integration and high-resolution clustering of datasets from hCMV-seropositive ($n = 5$) and seronegative ($n = 2$) donors, along with COVID-19 patients ($n = 2$). We analyzed datasets using Seurat 5 in R. Quality-controlled data were normalized (SCTransform), integrated (batch-corrected), and clustered (UMAP). Differential gene expression (Wilcoxon test, $\log_2FC > 0.25$, $p\text{-adj} < 0.05$) and annotation were performed. In hCMV-seropositive individuals, we identified 12 transcriptionally distinct NK cell clusters exhibiting *KLRC2* (NKG2C)-dependent organization, with specific clones showing either enhanced cytotoxic potential (marked by *GZMB/GZMA* upregulation), or unique inhibitory receptor profiles (variable KIR expression patterns). The hCMV-seronegative cohort displayed a simpler clonal structure with 9 clusters showing reduced KIR diversity but maintained distinct effector gene signatures. Analysis of COVID-19 patients revealed divergent clonal patterns: one patient showed reduced *KLRC2* variability with prominent *KLRC1* (NKG2A) expression, while another exhibited KIR heterogeneity without *KLRC2* variation. Our analysis reveals distinct clonal NK cell populations in hCMV and COVID-19 contexts, characterized by divergent expression of activating and inhibitory receptors. These findings demonstrate infection-specific dynamics of clonal NK cell populations, highlighting their adaptive potential through differential receptor expression in antiviral responses.

Keywords: NK cells, scRNAseq, hCMV, COVID-19, NKG2, KIR

The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 24-75-10136.

Introduction

Natural killer (NK) cells play a critical role in antiviral immune responses, including those against human cytomegalovirus (hCMV) [3, 7] infection and severe acute respiratory syndrome (COVID-19) [5, 8, 9, 10]. In recent years, single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) has revealed the heterogeneity of NK

cells, including the existence of clonally expanded populations with unique transcriptional profiles [6].

During CMV infection in both mice and humans, memory NK cell populations emerge through clonal expansion. In mice, the clonal nature of memory NK cells was confirmed using retroviral barcoding with fluorescent labeling to track individual Ly49H⁺NK cells. After transfer into immunodeficient recipients followed by mCMV infection, these labeled Ly49H⁺NK cells underwent extensive proliferation, with some clones exceeding 10,000 cells [2].

In humans, clonal expansion of adaptive NKG2C⁺NK cells were indicated by a distinct pattern of activating KIR receptors associated with self-antigen recognition [1]. Further insights were obtained using mitochondrial DNA mutation tracking, a method previously employed for clonal lineage analysis [4]. Notably, T. R ckert et al. demonstrated that many large clusters identified by scATAC-Seq represent clonal NK cells [6]. These findings highlight the ability of NK cells to form clonal populations, aligning them more closely with adaptive immune cells and underscoring their role in long-term immune defense.

However, the detailed characterization of these clones, including their functional properties and role in immune responses, remains poorly understood. In this study, we analyzed clonal NK cell populations using published scRNA-seq datasets. We identified and compared NK cell clusters in hCMV-seropositive and seronegative donors, as well as in COVID-19 patients. Key differentially expressed genes associated with NK cell function were also determined.

Materials and methods

Data sources

The analysis was performed using publicly available single-cell RNA sequencing datasets obtained from the Gene Expression Omnibus database under accession numbers GSE197037 and GSE184329.

Initial data processing

Initial data processing involved standard quality control measures to filter out low-quality cells, including those with abnormally high mitochondrial gene content or an insufficient number of detected genes. The data were then normalized using the SCTransform method implemented in Seurat 5. To account for technical variation between different samples and donors, we performed dataset integration function in Seurat 5, which effectively corrects for batch effects while preserving biologically relevant variation.

Computational analysis

For dimensionality reduction and visualization, we applied the UMAP algorithm with clustering resolutions set to 1.5 for hCMV datasets and 1.0 for COVID-19 datasets to optimally identify distinct cell populations. Differential gene expression analysis was conducted using the Wilcoxon rank-sum test with Benjamini-Hochberg multiple testing correction, applying thresholds of absolute log₂ fold change greater than 0.25 and adjusted p-values below 0.05 for statistical significance. Identified genes were subsequently annotated using Gene Ontology.

Software implementation

All analyses were conducted using R version 4.4.0, primarily utilizing the Seurat 5 package for single-cell data processing and analysis. Data visualization was achieved through ggplot2, while data manipulation and organization were performed using dplyr.

Results and discussion

Analysis of clonal NK cells in hCMV-seropositive and seronegative donors

The initial phase of our investigation focused on characterizing clonal NK cell populations using publicly available single-cell transcriptomics (scRNA-seq) data. We processed with the data from T. R ckert et al. [6] that included NK cell profiles from five hCMV-seropositive and two hCMV-seronegative donors. The original study had examined balanced mixtures of NKG2C⁺ and NKG2C⁻NK cell subpopulations (CD3⁺CD14⁻CD19⁻CD7⁺) at a 1:1 ratio from each donor.

While following the general analytical approach of the original study, we introduced modifications including enhanced UMAP resolution parameters to improve detection of clonal structures. This refined analysis identified 12 distinct NK cell clusters in hCMV-seropositive donors (Figure 1A, B), which were consistently present across all individuals but showed variable proportional representation. The hCMV-seronegative cohort exhibited 9 clusters with similar inter-individual variability (Figure 1C, D).

Focusing on clonal NK cell characterization, we particularly examined functionally relevant genes. In seropositive donors, UMAP separation was primarily driven by *KLRC2* expression (encoding NKG2C) (Figure 1E). However, the 12 clusters demonstrated additional transcriptional differences. For instance, while both Cluster 2 and Cluster 0 showed low *KLRC2* expression, Cluster 2 displayed elevated CD38 and CD160 levels, compared to Cluster 0. The upregulation of those genes highlights the higher activation stage of those NK cells. Additionally, Cluster 2 has shown the downregulation of some inhibitory KIRs (*KIR2DL3* and *KIR3DL1*) (Figure 1E). That may suggest that such clusters of NK cells expressing different KIRs receptors may belongs to originally different clonal NK cells.

Among *KLRC2*-high clusters, Cluster 3 exhibited markedly increased expression of cytotoxic effector genes molecules *GZMB* and *GZMA* along with *KLRG1* compared to Cluster 1 (Figure 1E). Thus, NK cells from Cluster 3 are probably more cytotoxically active.

Similar gene expression patterns were observed in seronegative donors (Figure 1F). While hCMV-seropositive donors showed *KLRC2*-driven clustering, seronegative donors lacked this pattern and had reduced KIR expression (Figure 1F). However, all clusters retained distinct NK cell-associated gene signatures. (Figure 1F). Nevertheless, each cluster displayed a unique combination of NK cell-associated genes.

COVID-19 patient NK cell clonal analysis

We subsequently analyzed scRNA-seq data from M. Witkowski et al. [11] on NK cell in COVID-19

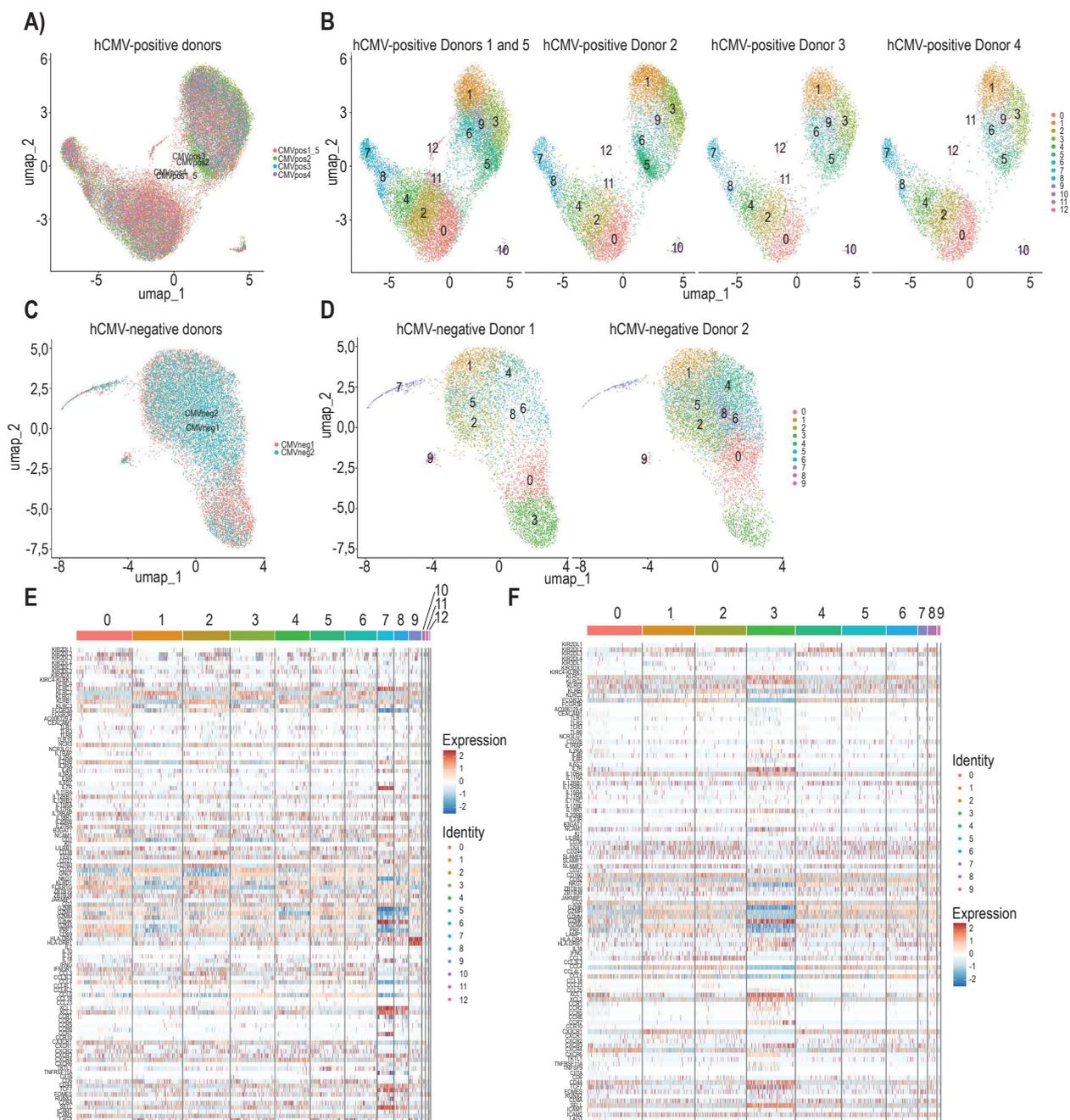


Figure 1. Single-cell RNA sequencing analysis of 5 hCMV-seropositive and 2 hCMV-seronegative donors from [6]

Note. A, UMAP projection of NK cells from 5 hCMV-seropositive donors showing donor-specific groupings. B, UMAP projection of NK cells from 2 hCMV-seronegative donors displaying clusters for each donor in the integrated dataset. C, UMAP projection of NK cells from 2 hCMV-seronegative donors illustrating donor groupings. D, UMAP projection of NK cells from 5 hCMV-seropositive donors showing clusters for each donor in the integrated dataset. Heatmaps depict normalized expression values of NK cell-associated genes that were differentially expressed in at least one cluster for (E) 5 hCMV-seropositive donors and (F) 2 hCMV-seronegative donors.

patients, selecting two patients with the highest cell yields. After removing cells with elevated mitochondrial gene expression and erythrocyte contaminants, high-resolution UMAP projection revealed 13 clusters in the data from first donor and 11 from the second (Figure 2A, B).

We performed comparable differential expression analysis of NK cell-associated genes across these identified clusters (Figure 2C, D). For Patient 1, there was less variability in *KLRC2* gene expression compared to hCMV-seropositive donors, while the expression of *KLRC1* (encoding the inhibitory

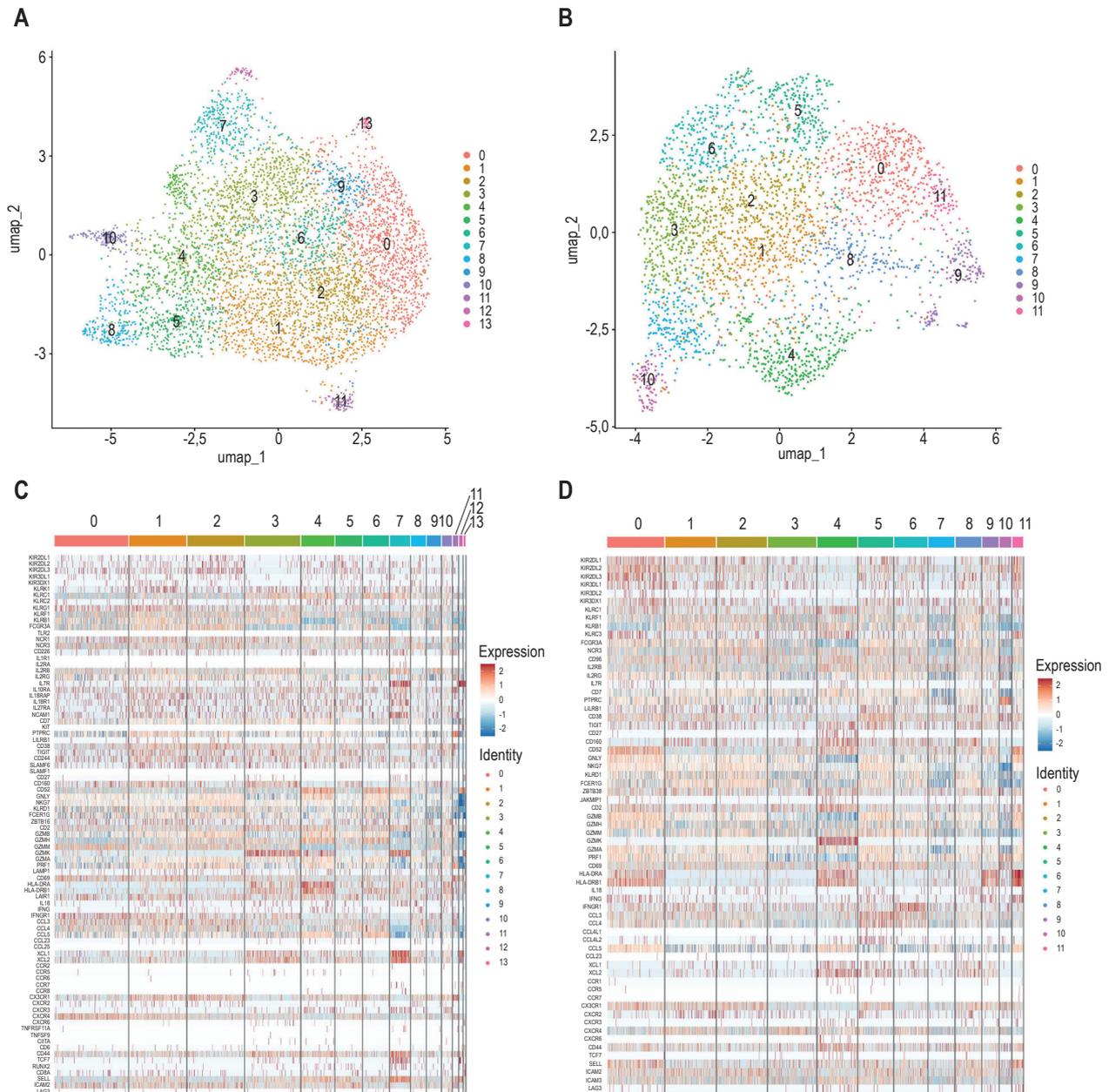


Figure 2. Single-cell RNA sequencing analysis of NK cells from two patients from [11]

Note. UMAP projections showing NK cell clusters for (A) patient1 and (B) patient 2. Heatmaps display normalized expression values of NK cell-associated genes differentially expressed in at least one cluster for (C) patient 1 and (D) patient 2.

NKG2A receptor) was more pronounced (Figure 2C). Additionally, fewer KIRs were variable compared to hCMV-seropositive donors (Figure 2C). Moreover, Patient 2 did not show any variability in *KLRC1* expression, while exhibiting high expression of KIRs, which varied among the clusters (Figure 2D).

Conclusion

Thus, our study revealed the infection-specific dynamics of clonal NK cell populations, highlighting their adaptive potential through differential receptor expression in antiviral responses.

References

1. Béziat V., Liu L.L., Malmberg J.A., Ivarsson M.A., Sohlberg E., Björklund A.T., Retière C., Sverremark-Ekström E., Traherne J., Ljungman P., Schaffer M., Price D.A., Trowsdale J., Michaëlsson J., Ljunggren H.G., Malmberg KJ. NK cell responses to cytomegalovirus infection lead to stable imprints in the human KIR repertoire and involve activating KIRs. *Blood*, 2013, Vol. 121, no. 14, pp. 2678-2688.

2. Grassmann S., Pachmayr L.O., Leube J., Mihatsch L., Andrae I., Flommersfeld S., Oduro J., Cicin-Sain L., Schiemann M., Flossdorf M., Buchholz V.R. Distinct surface expression of activating receptor Ly49H drives differential expansion of NK cell clones upon murine cytomegalovirus infection. *Immunity*, 2019, Vol. 50, no. 6, pp. 1391-1400.e4.
3. Gumá M., Budt M., Sáez A., Brckalo T., Hengel H., Angulo A., López-Botet M. Expansion of CD94/NKG2C⁺ NK cells in response to human cytomegalovirus-infected fibroblasts. *Blood*, 2006, Vol. 107, no. 9, pp. 3624-3631.
4. Ludwig L.S., Lareau C.A., Ulirsch J.C., Christian E., Muus C., Li L.H., Pelka K., Ge W., Oren Y., Brack A., Law T., Rodman C., Chen J.H., Boland G.M., Hacohen N., Rozenblatt-Rosen O., Aryee M.J., Buenrostro J.D., Regev A., Sankaran V.G. Lineage tracing in humans enabled by mitochondrial mutations and single-cell genomics. *Cell*, 2019, Vol. 176, no. 6, pp. 1325-1339.e22.
5. Maucourant C., Filipovic I., Ponzetta A., Aleman S., Cornillet M., Hertwig L., Strunz B., Lentini A., Reinius B., Brownlie D., Cuapio A., Ask E.H., Hull R.M., Haroun-Izquierdo A., Schaffer M., Klingström J., Folkesson E., Buggert M., Sandberg J.K., Eriksson L.I., Rooyackers O., Ljunggren H.G., Malmberg K.J., Michaëlsson J., Marquardt N., Hammer Q., Strålin K., Björkström N.K. Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. *Sci. Immunol.*, 2020, Vol. 5, no. 50, eabd6832. doi: 10.1126/sciimmunol.abd6832.
6. Rückert T., Lareau C.A., Mashreghi M.F., Ludwig L.S., Romagnani C. Clonal expansion and epigenetic inheritance of long-lasting NK cell memory. *Nat. Immunol.*, 2022, Vol. 23, no. 11, pp. 1551-1563.
7. Ustiuzhanina M.O., Streltsova M.A., Timofeev N.D., Kryukov M.A., Chudakov D.M., Kovalenko E.I. Autologous T-cell-free antigen presentation system unveils hCMV-specific NK cell response. *Cells*, 2024, Vol. 13, no. 6, 530. doi: 10.3390/cells13060530.
8. Ustiuzhanina M.O., Vavilova J.D., Boyko A.A., Streltsova M.A., Kust S.A., Kanevskiy L.M., Sapozhnikov A.M., Iskhakov R.N., Gubernatorova E.O., Drutskaya M.S., Bychinin M.V., Zhukova O.A., Novikova O.N., Sotnikova A.G., Yusubalieva G.M., Baklaushev V.P., Kovalenko E.I. Coordinated Loss and Acquisition of NK cell surface markers accompanied by generalized cytokine dysregulation in COVID-19. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 3, 1996. doi: 10.3390/ijms24031996.
9. Ustiuzhanina M.O., Boyko A.A., Vavilova J.D., Siniavin A.E., Streltsova M.A., Astrakhantseva I.V., Drutskaya M.S., Chudakov D.M., Kovalenko E.I. The Antigen-Specific Response of NK Cells to SARS-CoV-2 Correlates With KIR2DS4 Expression. *J. Med. Virol.*, 2024, Vol. 96, no. 11, e70057. doi: 10.1002/jmv.70057.
10. Varchetta S., Mele D., Oliviero B., Mantovani S., Ludovisi S., Cerino A., Bruno R., Castelli A., Mosconi M., Vecchia M., Roda S., Sachs M., Klersy C., Mondelli M.U. Unique immunological profile in patients with COVID-19. *Cell. Mol. Immunol.* 2021, Vol. 18, no. 3, pp. 604-612.
11. Witkowski M., Tizian C., Ferreira-Gomes M., Niemeyer D., Jones T.C., Heinrich F., Frischbutter S., Angermair S., Hohnstein T., Mattiola I., Nawrath P., Mc Ewen S., Zocche S., Viviano E., Heinz G.A., Maurer M., Kölsch U., Chua R.L., Aschman T., Meisel C., Radke J., Sawitzki B., Roehmel J., Allers K., Moos V., Schneider T., Hanitsch L., Mall M.A., Conrad C., Radbruch H., Duerr C.U., Trapani J.A., Marcenaro E., Kallinich T., Corman V.M., Kurth F., Sander L.E., Drosten C., Treskatsch S., Durek P., Kruglov A., Radbruch A., Mashreghi M.F., Diefenbach A. Untimely TGFβ responses in COVID-19 limit antiviral functions of NK cells. *Nature*, 2021, Vol. 600, no. 7888, pp. 295-301.

Авторы:

Устюжанина М.О. — аспирант кафедры клеточной и молекулярной биологии Центр наук о жизни АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; младший научный сотрудник отдела геномики адаптивного иммунитета лаборатории методов иммуносеквенирования ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук; младший научный сотрудник лаборатории биомаркеров института трансляционной медицины ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Коваленко Е.И. — к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии лаборатории клеточных взаимодействий ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Authors:

Ustiuzhanina M.O., Postgraduate Student, Department of Cellular and Molecular Biology, Center of Life Sciences, Skolkovo Institute of Science and Technology; Junior Researcher, Department of Genomics of Adaptive Immunity, Laboratory of Immunosequencing Methods, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences; Junior Researcher, Laboratory of Biomarkers, Institute of Translational Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Kovalenko E.I., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Immunology, Laboratory of Cell Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

ПОЗИТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЭФФЕКТОРНЫХ ФУНКЦИЙ И СУБПОПУЛЯЦИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ И CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ ПОД ВЛИЯНИЕМ АРГИНИЛ- α -АСПАРТИЛ-ЛИЗИЛ-ВАЛИЛ- ТИРОЗИЛ-АРГИНИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO* У ИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ИММУНОСТАРЕНИИ

Ковалева С.В., Поезжаев Е.А., Тетерин Ю.В., Пиктурно С.Н.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Краснодар, Россия

Резюме. Увеличение доли лиц пожилого и старческого возраста в человеческой популяции обуславливает актуальность проблемы возраст-ассоциированных заболеваний, в возникновении которых важнейшую роль играет иммуностарение. Нейтрофильные гранулоциты (НГ) в значительной мере подвержены данному процессу, что требует изучения изменений их функционирования при иммуностарении и разработки методов экспериментальной коррекции дисфункций НГ. Цель – уточнить характер дисфункций НГ при иммуностарении и оценить эффект влияния синтетического тимического гексапептида (ГП) на эффекторные функции и субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ у лиц пожилого и старческого возраста. Исследованы 15 иммунокомпromетированных пациентов 60-78 лет с ХОБЛ с затяжными и частыми обострениями (группа исследования 1, ГИ1) и 30 условно здоровых добровольцев 60-74 лет (группа сравнения, ГС): субпопуляции НГ(%), экспрессирующие рецепторы CD64, CD32, CD16, CD11b, плотность экспрессии данных рецепторов (MFI), фагоцитарная и микробицидная функции НГ в интактной периферической крови (ГИ1) и после инкубации с ГП (10⁻⁶ г/л) в течение 60 минут при Т 37 °С (ГИ1а). Выявлено увеличение содержания субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и уменьшение содержания субпопуляции CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ в ГИ1 по отношению к ГС, повышение плотности экспрессии CD16

Адрес для переписки:

Ковалева Светлана Валентиновна
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения РФ
350063, Россия, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4.
Тел.: 8 (918) 989-11-76.
E-mail: 3483335@mail.ru

Address for correspondence:

Svetlana V. Kovaleva
Kuban State Medical University
4 Mitrofan Sedin St
Krasnodar
350063 Russian Federation
Phone: +7 (918) 989-11-76.
E-mail: 3483335@mail.ru

Образец цитирования:

С.В. Ковалева, Е.А. Поезжаев, Ю.В. Тетерин,
С.Н. Пиктурно «Позитивная модификация
эффекторных функций и субпопуляций нейтрофильных
гранулоцитов CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺
и CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ под влиянием
аргинил- α -аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина
в эксперименте *in vitro* у иммунокомпromетированных
пациентов при иммуностарении» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 893-900.
doi: 10.46235/1028-7221-17265-IVP

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

For citation:

S.V. Kovaleva, E.A. Poeszhaev, Yu.V. Teterin, S.N. Pikturno
“*In vitro* positive modification of effector functions and
subsets of CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ and CD64⁻
CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ neutrophil granulocytes from
immunocompromised patients with immunosenescence induced
by arginyl- α -aspartyl-lysyl-valyl-tyrosyl-arginine”, *Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal*, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 893-900.
doi: 10.46235/1028-7221-17265-IVP

© Kovaleva S.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-17265-IVP

и снижение плотности экспрессии CD11b на НГ обеих субпопуляций. Кроме того, определяется нарушение фагоцитарной и NADPH-оксидазной активности НГ в ГИ1. Под влиянием ГП отмечаются высокая величина эффекта по снижению содержания CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и повышению содержания CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ, повышению MFI CD11b на НГ обеих субпопуляций, перерывающей активности, стимулированной NADPH-оксидазной активности; средняя величина эффекта – снижение MFI CD16 и повышение активно фагоцитирующих НГ; низкая величина эффекта в отношении параметров, характеризующих процессы поглощения и спонтанной NADPH-оксидазной активности НГ. Показана позитивная модификация функционирования НГ под влиянием ГП в эксперименте *in vitro* у иммунокомпрометированных пациентов при иммуностарении.

Ключевые слова: иммуностарение, хроническая обструктивная болезнь легких, иммунокомпрометированность, нейтрофильные гранулоциты, иммунокоррекция, гексапептид

IN VITRO POSITIVE MODIFICATION OF EFFECTOR FUNCTIONS AND SUBSETS OF CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ AND CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ NEUTROPHIL GRANULOCYTES FROM IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS WITH IMMUNOSENESCENCE INDUCED BY ARGINYL- α -ASPARTYL-LYSYL-VALYL-TYROSYL-ARGININE

Kovaleva S.V., Poezzhaev E.A., Teterin Yu.V., Pikturino S.N.

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Abstract. The increasing proportion of elderly and senile individuals in human population causes a problem of age-associated diseases, with immunosenescence playing a key role. Neutrophil granulocytes (NG) are largely susceptible to this process, which requires studying changes in their functioning during immunosenescence and developing methods for experimental correction of NG dysfunctions. Our objective was to clarify the nature of NG dysfunctions during immunosenescence, and to evaluate the effect of synthetic thymic hexapeptide (HP) on the effector functions and CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ and CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ subsets of NG in elderly and senile individuals. The study involved 15 immunocompromised patients aged 60–78 years with chronic obstructive lung disease (COPD), with prolonged and frequent exacerbations (study group 1, SG1), and 30 conditionally healthy volunteers aged 60–74 years (comparison group, CG). We have evaluated the NG subsets (%), i.e., cell subpopulations with CD64, CD32, CD16, CD11b receptors, expression density of these receptors (MFI), phagocytic and microbicidal functions of NG in intact peripheral blood (SG1) and after incubation with tested hexapeptide (10⁻⁶ g/L) for 60 minutes at 37 °C (SG1a). We have revealed an increased contents of CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG subset and a reduced content of the CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG subset in SG1 patients in comparison to comparison group, an increased density of CD16 expression along with decreased density of CD11b expression on NG of both subsets. Moreover, an impairment in phagocytic and NADPH-oxidase activity of NG was determined in SG1. Under the influence of the hexapeptide, we have noted a pronounced effect, i.e., a decreased content of CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG and increased number of CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG, higher MFI of CD11b on NG of both subsets, digestive functions, stimulated NADPH oxidase activity. The average effect was determined as a decreased MFI of CD16, and an increase in actively phagocytosing NG. Low-level effect was registered by the absorption processes, and spontaneous NADPH-oxidase activity of NG. Positive modification of NG functioning under the influence of hexapeptide was shown *in vitro* upon incubation of NG from immunocompromised patients with immunosenescence.

Keywords: immunosenescence, chronic obstructive pulmonary disease, immunocompromise, neutrophilic granulocytes, immunocorrection, hexapeptide

Введение

Неуклонное увеличение доли лиц пожилого и старческого возраста в человеческой популяции делает все более актуальной проблему профилактики, диагностики и лечения возраст-ассоциированных заболеваний и гериатрических синдромов, обуславливающих снижение качества жизни, способности к самообслуживанию и сокращение продолжительности жизни [7]. Известно, что одним из главных факторов, приводящих к старению и определяющих его характер, является возрастное изменение функционирования клеток и органов иммунной системы – иммуностарение. При этом оно может быть успешным (физиологическим) и характеризоваться высокой степенью адаптации иммунной системы к возраст-ассоциированным изменениям и патологическим, приводящим к возникновению вторичного иммунодефицита, который обуславливает развитие и утяжеляет течение возраст-ассоциированных заболеваний [3]. Одними из эффекторных клеток врожденного иммунитета являются нейтрофильные гранулоциты (НГ), претерпевающие значительные изменения в процессе старения. Так, известно, что с возрастом нарушаются эффекторные функции НГ [9]. Однако сведения о характере наблюдаемых изменений остаются противоречивыми и не позволяют судить о вариантах их дисфункций при иммуностарении. Кроме того, достаточно слабо изучен характер возможных фенотипических изменений НГ, ассоциированных с пожилым и старческим возрастом, что затрудняет поиск возможных точек приложения для фармакологического воздействия, направленного на коррекцию дисфункций НГ при иммуностарении. Именно поэтому является актуальным уточнение вариантов изменений функционирования НГ, связанных с иммуностарением, выявление потенциальных мишеней для иммунотерапевтического воздействия и исследование возможностей коррекции возникших дисфункций НГ в системе *in vitro*, что послужит экспериментальной моделью и обоснованием для последующих клинических исследований терапевтической эффективности иммунотропных лекарственных препаратов при иммуностарении.

В свете изложенного представляется перспективным ремоделирование дисфункций НГ при иммуностарении синтетическим тимическим гексапептидом аргинил- α -аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинином (ГП), представляющим собой структурный аналог активного центра тимопоэтина. ГП оказывает плейотропное действие на различные клетки иммунной системы [1]. Подобно тимопоэтину, ГП взаимо-

действует с HLA-DR и никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами (nAChRs) нейронального типа на поверхности НГ, что модулирует их функциональную активность [10]. Кроме того, ГП обладает антиоксидантным эффектом [2], что является несомненным преимуществом для его применения у лиц пожилого и старческого возраста, так как известно, что одним из механизмов старения является оксидативный стресс [6].

Цель исследования – уточнить характер дисфункций НГ при иммуностарении и оценить эффект влияния синтетического тимического гексапептида на эффекторные функции и субпопуляции НГ CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ и CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ у лиц пожилого и старческого возраста.

Материалы и методы

В исследование были включены 15 иммунокомпрометированных пациентов в возрасте 60–78 лет с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) с затяжными и частыми обострениями – 2–3 раза в год (группа исследования 1, ГИ1), а также 30 условно здоровых добровольцев в возрасте 60–74 лет (группа сравнения, ГС). Проведено комплексное тестирование системы НГ периферической крови каждого исследуемого. Определялось процентное содержание субпопуляций НГ, одновременно экспрессирующих рецепторы CD64, CD32, CD16, CD11b, отвечающие за реализацию адгезии, фагоцитоза, дегрануляции: CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺, CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺. Плотность экспрессии изучаемых рецепторов оценивалась по значению среднего индекса флуоресценции (Mean fluorescence index, MFI).

Исследование фагоцитарной активности НГ включало в себя оценку процентного количества активно фагоцитирующих НГ (%ФАН), поглощательной способности НГ (фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ)), переваривающей способности НГ (процент переваривания (% П), индекс переваривания (ИП)).

NADPH-оксидазная активность НГ оценивалась путем подсчета клеток с восстановленным формазаном на 100 НГ в спонтанном и стимулированном (индукция лабораторным штаммом № 209 *S. aureus*) NBT-тесте (%ФПКсп, %ФПКст) и расчета коэффициента мобилизации (КМ), определяемого как отношение %ФПКст к %ФПКсп. Изучаемые параметры функционирования НГ в ГИ определялись в интактной крови – ГИ1, а также после инкубации в течение 60 минут при температуре 37 °С с ГП (10⁻⁶ г/л) – ГИ1а.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2016 и свободной программной среды вычислений R (v. 4.2.2). Количественные показатели проверялись на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка. Так как исследуемые данные не были нормально распределены, они представлены в виде медианы с верхним и нижним квартилями ($Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$), а для сравнения количественных показателей в исследуемых выборочных совокупностях были использованы методы непараметрической статистики: U-критерий Манна–Уитни для сравнения независимых выборок и W-критерий Вилкоксона для сравнения зависимых выборок. Для корректировки значения p с учетом множественных сравнений был применен контроль частоты ложных обнаружений по процедуре Бенджамини–Иекутиели. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Кроме того, была оценена величина эффекта с помощью вычисления коэффициента ранговой бисериальной корреляции для связанных выборок. При его значении, равном 0, констатировалось отсутствие эффекта, при значениях 0,1–0,3 величина эффекта оценивалась как низкая, 0,31–0,5 – как средняя, более 0,5 – как высокая.

Результаты и обсуждение

В результате изучения экспрессии рецепторов CD64, CD32, CD16, CD11b на НГ были выявлены две субпопуляции НГ: CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ и CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ (рис. 1). Содержание субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ – мажорной, так как количество именно этой субпопуляции преобладает в ГС (94,34 (89,61–95,95)%), в ГИ1 составляет 81 (62,81–88,75)%, что статистически значимо ниже ($p = 0,0059$), чем в ГС. Содержание субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ – минорной, присутствующей в минимальных количествах в ГС (1,15 (0,65–3,1)%), в ГИ1 было статистически значимо выше, чем в ГС – 10 (5,8–31,3)% ($p = 0,0012$). Данные изменения соотношения субпопуляций НГ указывают на активацию НГ в условиях бактериальной инфекции. При этом характерна более высокая плотность экспрессии CD16 как в мажорной субпопуляции НГ (74,1 (58,25–79,25) против 33,6 (9,97–45,4) в ГС, $p = 0,006$), так и в минорной субпопуляции НГ (91,6 (68,25–98,45) против 28,4 (13,7–65,44) в ГС, $p = 0,0048$). С одной стороны, это свидетельствует о повышенной цитотоксической активности НГ [4], что может служить компенсаторным изменением в ответ на сниженную фагоцитарную

функцию, а с другой стороны, плотность экспрессии CD16 положительно коррелирует со степенью зрелости НГ, и ее повышение в совокупности со снижением плотности экспрессии CD62L указывает на старение НГ [8].

Кроме того, в ГИ1 отмечается более низкая плотность экспрессии CD11b в обеих субпопуляциях НГ: в мажорной субпопуляции – 12,6 (10,8–14,78) против 32,3 (23,55–38,85) в ГС ($p = 0,0019$), в минорной субпопуляции – 15,3 (13,15–16,55) против 31,1 (23,95–42,1) в ГС ($p = 0,0004$), что свидетельствует о нарушении способности НГ к хемотаксису, миграции, адгезии, а при совместной работе с другими рецепторами к фагоцитозу и антителозависимой клеточной цитотоксичности, что в совокупности приводит к дисрегуляции функциональной активности НГ [5].

Показатели фагоцитарной активности НГ пациентов ГИ1 также демонстрируют значительные изменения по сравнению с ГС (рис. 2). Так, выявлено статистически значимое снижение %ФАН (49 (38–58) %, $p = 0,006$), ФЧ (3,19 (2,28–3,43), $p = 0,0025$), ФИ (1,26 (0,96–2,05), $p = 0,0002$), %П (34 (24,59–44,67) %, $p = 0,0029$) и ИП (0,45 (0,4–0,6), $p = 0,0009$) у пациентов ГИ1 относительно ГС (65 (62–79,5) %; 6,3 (4,5–6,7); 4,026 (3,538–4,241); 58 (51,5–63) %; 2,28 (2,02–2,45) соответственно), что свидетельствует о нарушении как поглотительной, так и переваривающей способности НГ в ГИ1.

При этом показатели NADPH-оксидазной активности НГ в ГИ1 соответствуют уровню, отмечаемому в ГС. Так, %ФПКсп в ГИ1 (3 (1–8) %) по сравнению с ГС (3 (2–3,25) %) статистически значимо не отличался ($p = 1,00$), в отношении %ФПКст была отмечена статистически незначимая ($p = 0,397$) тенденция к повышению в ГИ1 (10 (4–42) %) по сравнению с ГС (5 (2,75–6) %), коэффициент мобилизации в ГИ1 (2,94 (1,25–4,33)) также статистически значимо не отличался ($p = 0,5516$) от показателя ГС (1,55 (1,3–1,925)), что, учитывая наличие признаков бактериальной инфекции, говорит о неадекватном ответе микробицидных систем НГ и нарушении продукции активных форм кислорода, отсутствии резервного мобилизационного потенциала.

После инкубации с ГП процентное содержание мажорной субпопуляции НГ в ГИ1а повысилось ($p = 0,0492$, $r_{\text{тб}} = 0,73$ (95% ДИ: 0,42–1,00)) и составило 93,56 (81,19–95,00) %, статистически значимо не отличаясь от показателя ГС ($p = 0,756$). Процентное содержание минорной субпопуляции НГ после инкубации снизилось с высокой величиной эффекта ($r_{\text{тб}} = 0,63$ (95% ДИ:

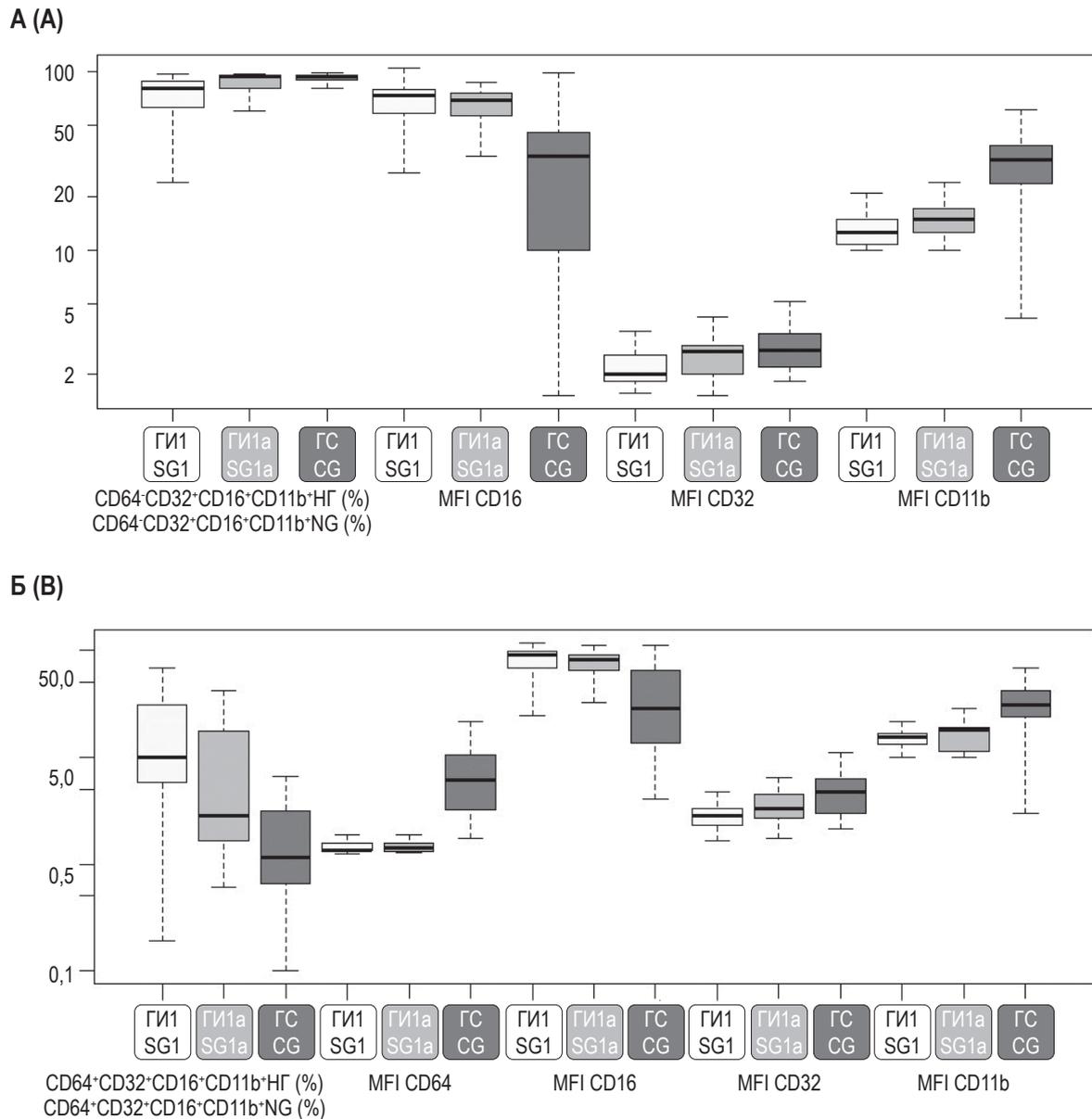


Рисунок 1. Процентное содержание и фенотипические характеристики CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ (А) и CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ (Б)

Figure 1. Percentage and phenotypic characteristics of CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG (A) and CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG (B)

0,26-1,00), $p = 0,1198$) и соответствовало уровню ГС ($p = 0,066$), что указывает на позитивный эффект в виде изменения соотношения субпопуляций НГ под действием ГП в сторону преобладания мажорной субпопуляции НГ, как и в ГС.

Кроме того, в GI1a отмечалась высокая величина эффекта – повышение плотности экспрессии CD11b на НГ субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ (14,78 (12,62-17,16), $p = 0,2273$, $r_{\text{тб}} = 0,6$ (95% ДИ: 0,21-1,00)) и субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ (18,1

(11,49-19,11), $p = 0,3408$, $r_{\text{тб}} = 0,56$ (95% ДИ: 0,15-1,00)), которое, однако, не достигло уровней ГС.

Также выявлено статистически незначимое снижение MFI CD16 в GI1a со средней величиной эффекта как на НГ субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ (69,50 (56,50-75,95), $p = 0,7841$, $r_{\text{тб}} = 0,33$ (95% ДИ: -0,14-1,00)), так и на НГ субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ (82,80 (65,75-90,55), $p = 0,614$, $r_{\text{тб}} = 0,38$ (95% ДИ: -0,08-1,00)).

Важно отметить, что инкубация с ГП способствовала частичному восстановлению фаго-

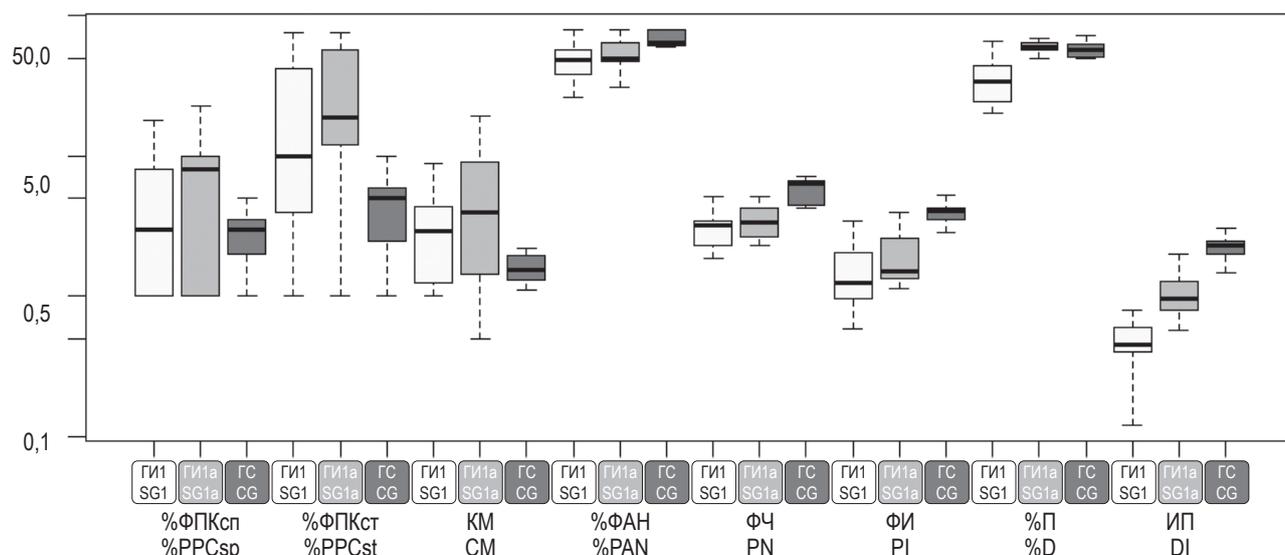


Рисунок 2. Показатели фагоцитарной и микробицидной эффекторных функций НГ в ГИ1, ГИ1а и ГС

Figure 2. Indicators of phagocytic and microbicidal effector functions of NG in SG1, SG1a and CG

цитарной функции НГ, о чем свидетельствует статистически значимое выраженное повышение переваривающей способности НГ: %П (60 (56,95-64,24) %, $p = 0,0049$, $r_{\text{тб}} = 0,96$ (95% ДИ: 0,88-1,00)) и ИП (0,96 (0,8-1,29), $p = 0,004$, $r_{\text{тб}} = 0,98$ (95% ДИ: 0,94-1,00)). При этом повышение %ФАН (50 (47-65) %, $p = 0,6366$, $r_{\text{тб}} = 0,4$ (95% ДИ: -0,1-1,00)) имело среднюю степень выраженности эффекта, а повышение ФЧ (3,39 (2,65-4,26), $p = 1,00$, $r_{\text{тб}} = 0,25$ (95% ДИ: 0,25-1,00)) и ФИ (1,51 (1,35-2,59), $p = 1,00$, $r_{\text{тб}} = 0,25$ (95% ДИ: -0,25-1,00)) имело низкую величину и не являлось статистически значимым, что может быть обусловлено сохраняющимся нарушением процессов захвата бактериального антигена у пациентов ГИ1а.

Инкубация с ГП не привела к существенным изменениям NADPH-оксидазной активности НГ в спонтанном NBT-тесте, на что указывает отсутствие статистически значимых различий между %ФПКсп в ГИ1 до (3 (1-8) %) и после инкубации (8 (1-10) %), $p = 1,00$, $r_{\text{тб}} = 0,22$ (95% ДИ: 0,28-1,00)). Однако под влиянием ГП NADPH-оксидазная активность НГ в ответ на стимуляцию улучшилась, о чем говорит высокая величина повышения %ФПКст в ГИ1а (19 (12-58) %, $p = 0,4817$, $r_{\text{тб}} = 0,5$ (95% ДИ: 0,03-1,00)) и наметилась тенденция к восстановлению резервного микробицидного потенциала.

Заключение

Таким образом, у иммунокомпрометированных пациентов пожилого и старческого

возраста с ХОБЛ выявлено изменение соотношения субпопуляций НГ, выражающееся в увеличении доли минорной субпопуляции $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+$ НГ, свидетельствующей о наличии бактериальной инфекции и неблагоприятном течении ХОБЛ с частым рецидивированием и затяжным течением вследствие отсутствия своевременного клиренса бактериальных антигенов и поддержания воспалительного процесса. Фенотипические изменения субпопуляций НГ $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+$ и $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+$ ассоциированы с повышением плотности экспрессии CD16 – рецептора, увеличение экспрессии которого может свидетельствовать об активации клеток и в то же время быть признаком зрелости НГ, а также снижением плотности экспрессии CD11b. Перераспределение экспрессии поверхностных мембранных рецепторов на НГ существенно влияет на функциональный эффекторный потенциал НГ, снижая фагоцитарную и микробицидную функции у пациентов с ХОБЛ. При оценке величины эффекта влияния ГП в системе *in vitro* на НГ отмечалась высокая величина эффекта – повышение содержания мажорной субпопуляции НГ и снижение содержания минорной субпопуляции НГ, повышение плотности экспрессии CD11b на НГ обеих субпопуляций, повышение переваривающей активности НГ (%П, ИП), повышение NADPH-оксидазной активности НГ в ответ на стимуляцию, средняя величина эффекта – снижение плотности экспрессии CD16 и повышение количества активно фагоцитирующих НГ, низкая величина эффекта выявля-

на в отношении параметров, характеризующих процессы захвата при фагоцитарной реакции, а также спонтанной NADPH-оксидазной активности НГ. Исследованиями продемонстрирована позитивная модификация функционирования НГ под влиянием ГП в эксперименте *in vitro*, сопровождающаяся восстановлением соотношения субпопуляций CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺НГ и ремоделирова-

нием их фенотипа на фоне улучшения эффекторных функций НГ, что позиционирует возможность использования ГП для направленной коррекции дисфункций НГ при иммуностарении и дальнейшие перспективы для проведения клинических исследований по применению препарата ГП у иммунокомпрометированных пациентов пожилого и старческого возраста.

Список литературы / References

1. Ковалева С.В., Чапурина В.Н., Ломтатидзе Л.В., Лягуша Д.Э., Тетерин Ю.В., Барова Н.К., Мелконян К.И. Синтетический тимический гексапептид в коррекции нарушений антибактериальной иммунной защиты и нормализации профиля провоспалительных цитокинов у иммунокомпрометированных детей с местным неотграниченным острым перитонитом // *Инфекция и иммунитет*, 2024. Т. 14, № 3. С. 615-622. [Kovaleva S.V., Chapurina V.N., Lomtadidze L.V., Lyagusha D.E., Teterin Yu.V., Barova N.K., Melkonyan K.I. Synthetic thymic hexapeptide in the correction of alterations of antibacterial immune defense and normalization of the profile of proinflammatory cytokines in immunocompromized children with local unlimited acute peritonitis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2024, Vol. 14, no. 3, pp. 615-622. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-STH-16743.
2. Маркова Т.П., Чувиров Д.Г. Имунофан в комплексном лечении детей с повторными респираторными заболеваниями и микоплазменной инфекцией // *Эффективная фармакотерапия*, 2022. Т. 18, № 12. С. 12-18. [Markova T.P., Chuvirov D.G. Immunofan in the complex treatment of children with recurrent respiratory diseases and mycoplasma infection. *Effektivnaya farmakoterapiya = Effective Pharmacotherapy*, 2022, Vol. 18, no. 12, pp. 12-18. (In Russ.)]
3. Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Поезжаев Е.А., Пирогова А.И., Чапурина В.Н., Ломтатидзе Л.В., Тетерин Ю.В., Пиктурно С.Н., Сафонцева А.Д. Клеточные и гуморальные механизмы иммунного старения // *Цитокины и воспаление*, 2024. Т. 21, № 2. С. 82-91. [Nesterova I.V., Kovaleva S.V., Chudilova G.A., Poeszhaev E.A., Pirogova A.I., Chapurina V.N., Lomtadidze L.V., Teterin Yu.V., Pikturno S.N., Safontseva A.D. Cellular and humoral mechanisms of immune aging. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2024, Vol. 21, no. 2, pp. 82-91. (In Russ.)]
4. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2 // *Инфекция и иммунитет*, 2018. Т. 8, № 1. С. 7-18. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevsky A.A., Nguyen T.Z.L. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 2. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, Vol. 8, no. 1, pp. 7-18. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
5. Чудилова Г.А., Нестерова И.В., Павленко В.Н., Тетерин Ю.В., Барова Н.К., Тараканов В.А. Вариации фенотипа субпопуляций CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ и CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ нейтрофильных гранулоцитов, ассоциированные с нарушениями фагоцитарной и микробицидной активности при различных формах перитонита у детей // *Аллергология и иммунология*, 2021. Т. 22, № 1. С. 28-35. [Chudilova G.A., Nesterova I.V., Pavlenko V.N., Teterin Yu.V., Barova N.K., Tarakanov V.A. Variations in the phenotype of subpopulations CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ and CD64⁻CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ neutrophilic granulocytes associated with disorders of phagocytic and microbicidal activity at various forms of peritonitis in children. *Allergologiya i immunologiya = Allergology and Immunology*, 2021, Vol. 22, no. 1, pp. 28-35. (In Russ.)]
6. Aging Biomarker Consortium; Bao H., Cao J., Chen M., Chen M., Chen W., Chen X., Chen Y., Chen Y., Chen Y., Chen Z., Chhetri J.K., Ding Y., Feng J., Guo J., Guo M., He C., Jia Y., Jiang H., Jing Y., Li D., Li J., Li J., Liang Q., Liang R., Liu F., Liu X., Liu Z., Luo O.J., Lv J., Ma J., Mao K., Nie J., Qiao X., Sun X., Tang X., Wang J., Wang Q., Wang S., Wang X., Wang Y., Wang Y., Wu R., Xia K., Xiao F.H., Xu L., Xu Y., Yan H., Yang L., Yang R., Yang Y., Ying Y., Zhang L., Zhang W., Zhang W., Zhang X., Zhang Z., Zhou M., Zhou R., Zhu Q., Zhu Z., Cao F., Cao Z., Chan P., Chen C., Chen G., Chen H.Z., Chen J., Ci W., Ding B.S., Ding Q., Gao F., Han J.J., Huang K., Ju Z., Kong Q.P., Li J., Li J., Li X., Liu B., Liu F., Liu L., Liu Q., Liu Q., Liu X., Liu Y., Luo X., Ma S., Ma X., Mao Z., Nie J., Peng Y., Qu J., Ren J., Ren R., Song M., Songyang Z., Sun Y.E., Sun Y., Tian M., Wang S., Wang S., Wang X., Wang X., Wang Y.J., Wang Y., Wong C.C.L., Xiang A.P., Xiao Y., Xie Z., Xu D., Ye J., Yue R., Zhang C., Zhang H., Zhang L.,

Zhang W., Zhang Y., Zhang Y.W., Zhang Z., Zhao T., Zhao Y., Zhu D., Zou W., Pei G., Liu G.H. Biomarkers of aging. *Sci. China Life Sci.*, 2023, Vol. 66, no. 5, pp. 893-1066.

7. Barbé-Tuana F., Funchal G., Schmitz C.R.R., Maurmann R.M., Bauer M.E. The interplay between immunosenescence and age-related diseases. *Semin. Immunopathol.*, 2020, Vol. 42, no. 5, pp. 545-557.

8. Fraser J.A., Kemp S., Young L., Ross M., Prach M., Hutchison G.R., Malone E. Silver nanoparticles promote the emergence of heterogeneous human neutrophil sub-populations. *Sci. Rep.*, 2018, Vol. 8, no. 1, 7506. doi: 10.1038/s41598-018-25854-2.

9. Liu Y., Xiang C., Que Z., Li C., Wang W., Yin L., Chu C., Zhou Y. Neutrophil heterogeneity and aging: implications for COVID-19 and wound healing. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1201651. doi: 10.3389/fimmu.2023.1201651.

10. Serov D., Tikhonova I., Safronova V., Astashev M. Calcium activity in response to nAChR ligands in murine bone marrow granulocytes with different Gr-1 expression. *Cell Biol. Int.*, 2021, Vol. 45, no. 7, pp. 1533-1545.

Авторы:

Ковалева С.В. — д.м.н., старший научный сотрудник отдела клинико-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Поезжаев Е.А. — аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Тетерин Ю.В. — ассистент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Пиктурно С.Н. — ассистент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Authors:

Kovaleva S.V., PhD, MD (Medicine), Senior Researcher of the Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Poezhaev E.A., Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Teterin Yu.V., Assistant Professor, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Pikturno S.N., Assistant Professor, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

ТРАНСДУЦИРОВАННЫЕ HER2-CAR-NK-КЛЕТКИ ПРОЯВЛЯЮТ ПОВЫШЕННУЮ ЦИТОТОКСИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРОТИВ HER2-ПОЗИТИВНЫХ ОПУХОЛЕЙ

**Алексеева Н.А., Стрельцова М.А., Вавилова Ю.Д., Деев С.М.,
Коваленко Е.И.**

*ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
Российской академии наук, Москва, Россия*

Резюме. Таргетное воздействие адоптивными иммунными клетками – один из современных и активно развивающихся подходов к терапии солидных опухолей. Экспрессия рецептора эпидермального фактора роста HER2 свойственна для 20% опухолей молочной железы и сопряжена с негативным исходом заболевания. В связи с этим актуальной является задача по получению HER2-специфических клеточных эффекторов, несущих химерный рецептор CAR. NK-клетки, или натуральные киллеры, являются перспективной основой для создания противораковых эффекторов. Они обладают широким арсеналом активирующих рецепторов, способных распознавать опухоль-ассоциированные маркеры, а также, в отличие от Т-клеток, не инициируют реакцию «трансплантат против хозяина». Целью данного исследования являлось получение CAR-NK-клеточных эффекторов, способных таргетно элиминировать HER2-позитивные опухолевые мишени. NK-клетки для последующих экспериментов были получены методом негативной магнитной сепарации из периферических мононуклеаров, выделенных из крови добровольцев посредством центрифугирования в градиенте плотности. Модификация NK-клеток, активированных IL-2 и фидерными клетками K562-mbII21, проводилась методом ретровирусной трансдукции. Для накопления ретровирусных частиц, несущих конструкцию HER2-CAR, были использованы предварительно трансфицированные клетки Phoenix Amphi. В качестве антигенраспознающего домена была использована молекула DARPIn 9-29-HER2, обладающая аффинностью к дистальному I домену HER2. Доля трансдуцированных NK-клеток оценивалась по экспрессии репортерного белка GFP, выход рецептора HER2-CAR на поверхность клеточной мембраны детектировался по экспрессии внеклеточного домена с-Мус. Функциональная активность полученных HER2-CAR-NK-клеток оценивалась методом проточной цитометрии по уровню дегрануляции и продукции IFN γ в присутствии HER2-позитивных мишеней BT-474. Чтобы оценить литическую активность HER2-CAR-NK-клеток, методом клеточной сортировки были получены культуры HER2-CAR экспрессирующих GFP⁺NK-клеток и немодифицированных GFP-NK-клеток. Лизис мишеней BT-474 оценивали по высвобождению кальцеина при инкубации с HER2-CAR и GFP-эффекторами.

Адрес для переписки:

*Алексеева Надежда Алексеевна
ФГБУН «Институт биоорганической химии
имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
Российской академии наук
117997, Россия, Москва, ГСП-7,
ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
Тел.: 8 (916) 396-57-39.
E-mail: nadalex@inbox.ru*

Address for correspondence:

*Nadezhda A. Alekseeva
Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Science
16/10 Miklouho-Maclay St, GSP-7
Moscow
117997 Russian Federation
Phone: +7 (916) 396-57-39.
E-mail: nadalex@inbox.ru*

Образец цитирования:

*Н.А. Алексеева, М.А. Стрельцова, Ю.Д. Вавилова,
С.М. Деев, Е.И. Коваленко «Трансдуцированные
HER2-CAR-NK-клетки проявляют повышенную
цитотоксическую активность против HER2-
позитивных опухолей» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 901-906.
doi: 10.46235/1028-7221-17243-HCN*

*© Алексеева Н.А. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*N.A. Alekseeva, M.A. Streltsova, Yu.D. Vavilova, S.M. Deyev,
E.I. Kovalenko “HER2-CAR-NK cells exhibit enhanced
cytotoxic activity towards HER2-positive tumors”, Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 901-906.
doi: 10.46235/1028-7221-17243-HCN*

*© Alekseeva N.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License*

DOI: 10.46235/1028-7221-17243-HCN

Все модифицированные GFP⁺NK-клетки были способны экспрессировать рецептор HER2-CAR на поверхности клеточной мембраны. HER2-CAR-NK-клетки отличались более высоким уровнем дегрануляции и продукции IFN γ по сравнению с GFP⁻ нетрансдуцированными NK-клетками. Также несущие рецептор HER2-CAR NK-клетки обладали более высокой литической активностью в отношении BT-474. Таким образом, посредством генетической модификации на основе первичных NK-клеток нами были получены высокоэффективные агенты HER2-CAR-NK, способные таргетно распознавать HER2-позитивные опухолевые клетки и реализовывать в их присутствии цитотоксический и цитокинпродуцирующий потенциал. Расширение арсенала клеточных эффекторов, направленных на лечение HER2-позитивных опухолей молочной железы, позволит в перспективе увеличить потенциал персонифицированной терапии опухолей.

Ключевые слова: NK-клетки, химерный антигенный рецептор, CAR, HER2, DARPIn, солидные опухоли

HER2-CAR-NK CELLS EXHIBIT ENHANCED CYTOTOXIC ACTIVITY TOWARDS HER2-POSITIVE TUMORS

Alekseeva N.A., Streltsova M.A., Vavilova Yu.D., Deyev S.M., Kovalenko E.I.

Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Abstract. Targeting of adoptive immune cells is among modern approaches to therapy of solid tumors. Expression of an epidermal growth factor receptor HER2 is a common finding (20% of breast tumors) and is associated with a negative outcome. In this regard, obtaining HER2-specific effector cells carrying a chimeric CAR receptor is a relevant task. NK cells have a wide spectrum of activating receptors capable of recognizing tumor-associated markers and do not initiate a graft-versus-host reaction. The goal of this study was to obtain effector CAR-NK cells capable of eliminating the HER2-positive tumor targets. The NK cells were obtained by negative magnetic separation from peripheral mononuclear cells isolated from volunteers' blood using density gradient centrifugation. Activated NK cells were modified by retroviral transduction. Preliminarily transfected Phoenix Amphi cells were used to accumulate retroviral particles carrying HER2-CAR construct. The DARPIn 9-29-HER2 molecule with affinity for the HER2 distal domain I was used as the antigen-recognizing domain. The proportion of transduced NK cells was measured by means of GFP reporter protein expression. The surface emergence of HER2-CAR receptors was detected by expression of the c-Myc extracellular domain. All modified GFP⁺NK cells were capable of expressing HER2-CAR receptors on the cell membrane. Functional activity of HER2-CAR NK cells was measured using flow cytometry, by degranulation intensity and IFN γ production in the presence of HER2-positive target cells BT-474. To assess lytic activity of HER2-CAR NK cells, the cultures of HER2-CAR-expressing GFP⁺NK cells and unmodified GFP⁻NK cells were obtained by cell sorting. Lysis of BT-474 targets was measured by calcein release upon incubation with HER2-CAR and GFP⁻ effectors. HER2-CAR NK cells were characterized by higher levels of degranulation and IFN γ production compared to GFP⁻NK cells. Moreover, HER2-CAR-NK cells had higher lytic activity towards BT-474. Thus, by means of genetic modification based on primary NK cells, we obtained highly effective HER2-CAR-NK agents capable of HER2-positive target recognition and possessing cytotoxic and cytokine-producing potential in presence of tumor cells. Expanding the variety of cellular effectors aimed at treating HER2-positive breast tumors will increase the potential of personalized tumor therapy in the future.

Keywords: NK cells, chimeric antigen receptor, CAR, HER2, DARPIn, solid tumors

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-75-00160).

Введение

Среди злокачественных опухолей рак молочной железы занимает второе место по встречаемости среди всей популяции людей в целом и первое место среди женщин. Около 20% опухолей молочной железы характеризуются высоким

уровнем экспрессии рецептора эпидермального фактора роста HER2 (Her-2/neu, ERBB2), наличие которого сопряжено с краткими ремиссиями и высоким риском летального исхода [1]. Одним из подходов к таргетной терапии опухолей является адоптивная терапия CAR-лимфоцитами, несущими химерные рецепторы CAR, специфически распознающие опухолевые антигены. Препараты на основе HER2-специфичных CAR-T-клеток, нацеленных на клетки рака молочной

железы, находятся на стадии клинических испытаний [2]. Однако NK-клетки, в отличие от Т-клеток, не индуцируют реакцию трансплантат против хозяина [3, 4]. На основе клеточной линии лимфомы NK-92 получены эффекторы HER2-CAR-NK92, способные элиминировать HER2-позитивные опухолевые клетки [5]. NK-92 требуют предварительного облучения перед применением в клинике и характеризуются высоким уровнем экспрессии ингибирующего рецептора NKG2A, что может приводить к сниженной цитотоксической активности в отношении HLA-E-экспрессирующих мишеней. NK-клетки периферической крови, в свою очередь, включают пул зрелых высокотоксичных клеток и не требуют предварительного облучения [6, 7]. Эти свойства делают NK-клетки периферической крови перспективной основой для создания HER2-специфичных CAR-эффекторов для персонализированной терапии рака молочной железы. Нами были получены HER2-CAR-NK-клетки на основе предварительно активированных *in vitro* NK-клеток периферической крови. В качестве антиген-распознающего домена рецептора CAR была использована антителоподобная молекула DARPIn 9-29-HER2, обладающая высокой аффинностью к дистальному I домену HER2, стабильной структурой и меньшими размерами по сравнению с scFv-доменами полно-размерных антител [8, 9]. Мы также показали, что

полученные HER2-CAR-NK-клетки отличаются высокой цитотоксической активностью и высокой продукцией IFN γ в отношении HER2-позитивной линии рака молочной железы BT-474, по сравнению с немодифицированными NK-клетками.

Материалы и методы

NK-клетки были изолированы методом негативной магнитной сепарации (Miltenyi Biotec, Германия) из PBMC, предварительно полученных посредством центрифугирования в градиенте плотности. NK-клетки культивировались в среде из 50% NK MACS Medium (Miltenyi Biotec, Германия) и полной среды DMEM (НПП «Пан-Эко», Россия) (с 10%-ной фетальной бычьей сывороткой, 2 мМ L-глутамина и антибиотиками-антимикотиками (1/100)), и активировались облученными (100 Гр) фидерными клетками K562-mbIL21 и 100 Ед/мЛ IL-2 (Hoffmann La Roche, Швейцария) в течение 3-5 дней при 5% CO $_2$, 37 °С. Клеточные линии Phoenix Amphi и BT-474 культивировались в полной среде DMEM, 5% CO $_2$, 37 °С. Вектор GFP-9-29-HER2-CAR (далее – HER2-CAR) состоит из: DARPIn 9-29 – модуля распознавания антигена; EF1a – конститутивного человеческого промотора hEF1a; c-тус – внеклеточного фрагмента для детекции CAR; IgG1 – модуля-пространства из человеческого IgG1; CD28-CD3 cyto – сигнального реги-

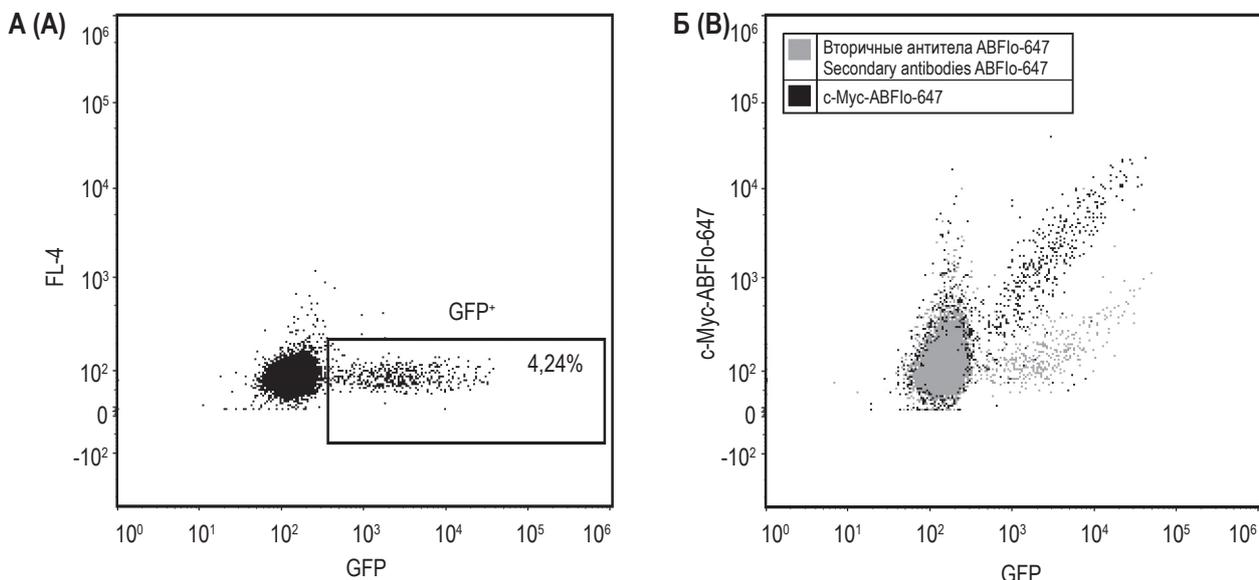


Рисунок 1. Получение HER2-CAR-NK-клеток

Примечание. А – доля трансдуцированных GFP⁺NK-клеток, несущих конструкцию HER2-CAR. Б – демонстрация выхода рецептора HER2-CAR на поверхность клеточной мембраны трансдуцированных GFP⁺NK-клеток по уровню экспрессии внеклеточного домена HER2-CAR (с-Мус).

Figure 1. Obtaining of HER2-CAR-NK cells

Note. A, the proportion of transduced GFP⁺NK cells carrying the HER2-CAR construct. B, demonstration of the release of the HER2-CAR receptor onto the surface of the cell membrane of transduced GFP⁺NK cells by the expression level of HER2-CAR extracellular domain (c-Myc).

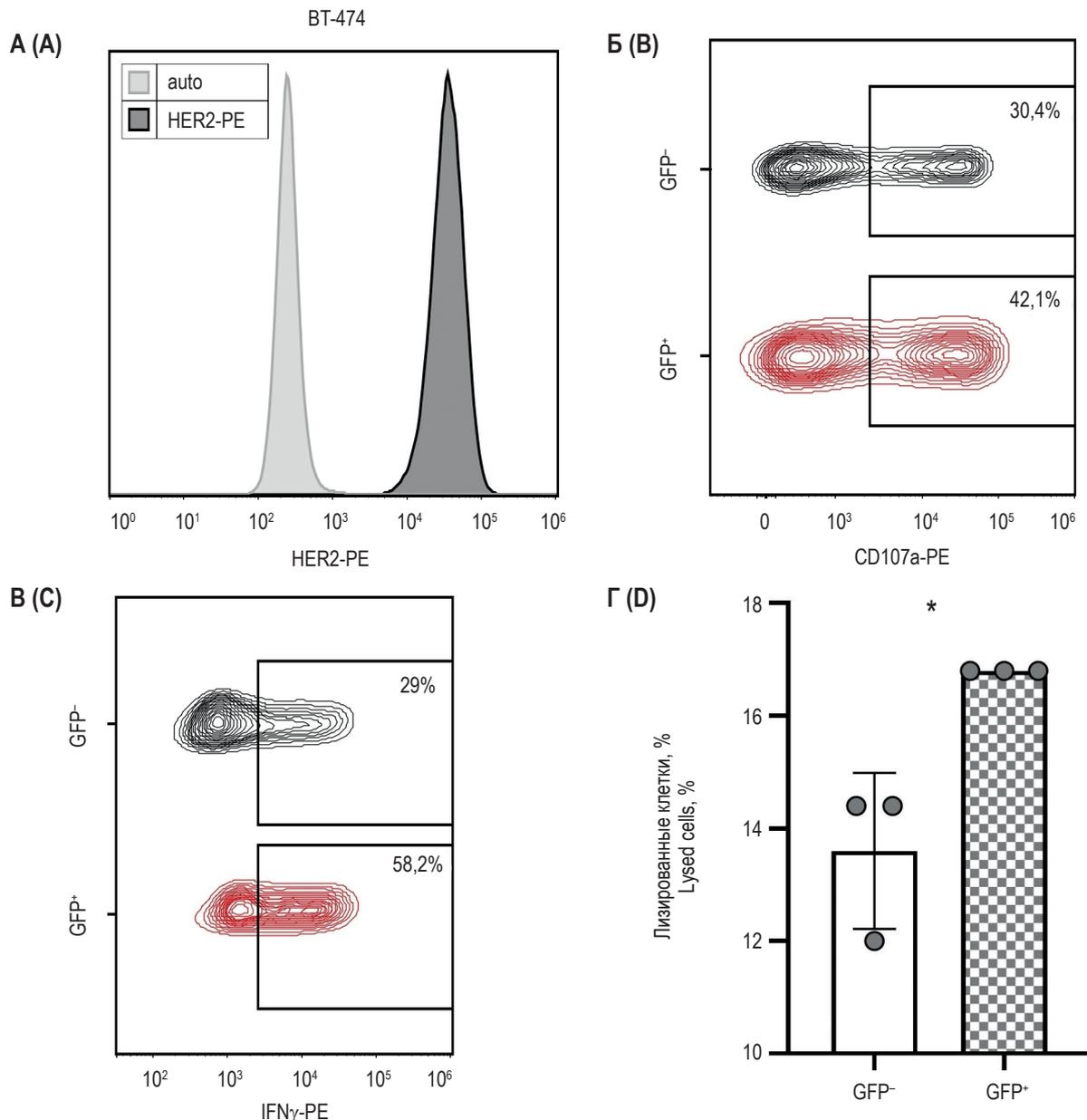


Рисунок 2. Функциональная активность HER2-CAR-NK-клеток при инкубации с HER2⁺ мишенями BT-474

Примечание. А – уровень экспрессии HER2 на поверхности клеток-мишеней BT-474. Б – доля дегранулировавших CD107a⁺, HER2-CAR-NK-клеток (GFP⁺) и GFP⁻ NK-клеток при инкубации с HER2⁺ мишенями BT-474. В – доля HER2-CAR-NK-клеток (GFP⁺) и GFP⁻ NK-клеток, продуцирующих IFN γ при инкубации с BT-474. Г – доля лизированных BT-474 при инкубации с HER2-CAR-NK-клетками (GFP⁺) и GFP⁻ NK-клетками. Данные представлены в виде среднее \pm SD, статистический анализ данных проведен посредством t-теста Стьюдента, * – $p < 0,05$.

Figure 2. Functional activity of HER2-CAR-NK cells upon incubation with HER2⁺BT-474 targets

Note. A, the level of HER2 expression on the surface of BT-474 target cells. B, the proportion of degranulated CD107a⁺, HER2-CAR-NK cells (GFP⁺) and GFP⁻ NK cells upon incubation with HER2⁺BT-474 targets. C, the proportion of HER2-CAR-NK cells (GFP⁺) and GFP⁻ NK cells producing IFN γ upon incubation with BT-474. D, the proportion of lysed BT-474 upon incubation with HER2-CAR-NK cells (GFP⁺) and GFP⁻ NK cells. Data are presented as mean \pm SD, statistical analysis of data was performed using Student's t-test; *, $p < 0.05$.

она; GFP – репортерного белка. Ретровирусный вектор GFP-9-29-HER2-CAR был псевдотипирован плазмидой с гликопротеином оболочки RD-114. Плазмиды были сотрансфицированы в соотношении 2:1. Трансфекция линии Phoenix Ampro (любезно предоставлена д.б.н., профессо-

ром Александром Филатовым (Институт Иммунологии, Россия), проводилась в чашках Петри, обработанных поли-L-лизин (0,5 мг/мл), с использованием набора для трансфекции на основе кальций-фосфата в среде DMEM с 3% FBS. Супернатанты с ретровирусными векторами соби-

рались через 48 часов и концентрировались ультрацентрифугированием. Трансдукция NK-клеток проводилась в планшетах, обработанных раствором ретронектина с концентрацией 20 нг/мл (Clontech/Takara, США). Эффективность трансдукции оценивалась по флуоресценции GFP и экспрессии поверхностного с-мус с помощью проточной цитометрии через 3-5 дней после трансдукции. Дегрануляция и продукция IFN γ NK-клетками оценивалась с помощью проточной цитометрии (LongCyte, Challenbio). NK-клетки инкубировались с BT-474 в полной среде DMEM, с добавлением антител anti-CD107a-PE (Miltenyi Biotec, Германия) и брэфелдином А (10 мкг/мл, Invitrogen, США) Е:Т = 1:1, t = 2,5 ч, 37 °С, 5% CO $_2$. Уровень внутриклеточной продукции оценивался посредством внутриклеточного окрашивания антителами IFN γ -PE (Miltenyi Biotec, Германия) NK-клеток после инкубации с BT-474 в течение 4 часов, Е:Т = 1:1. HER2-CAR-NK-клетки были отсортированы с использованием клеточного сортировщика FACSVantage DiVa (Becton Dickinson, США) для получения фракций GFP $^-$ и GFP $^+$. Литическая активность HER-CAR-NK-клеток и GFP-NK-клеток оценивалась по высвобождению кальцеина (lexs = 490 нм и λ_{em} = 510-570 нм, спектрофлуориметр Glomax Multi (Promega, США)) в супернатант клетками BT-474, которые были предварительно маркированы Calcein-AM (2,5 мкМ) (Biozol, Германия). Е:Т = 1:1, t = 4 часа, 37 °С, 5% CO $_2$. Отрицательный контроль (neg) – интактные клетки BT-474, положительный (pos) – клетки BT-474, лизированные 1% Triton X-100 (Am-O694-0.1, США). Долю лизированных клеток определяли по формуле: % = 100 × (MFI – MFI $_{neg}$) / (MFI $_{pos}$ – MFI).

Результаты и обсуждение

NK-клетки периферической крови, предварительно активированные *in vitro*, были трансдуцированы ретровирусным вектором, содержащим конструкцию HER2-CAR. Доля трансдуцированных клеток в культуре была оценена по экспрессии репортерной молекулы GFP, включенной в генетическую конструкцию HER2-CAR (рис. 1А). Также по экспрессии внеклеточного домена HER2-CAR с-Мус был подтвержден вы-

ход рецепторов CAR на поверхность во всех трансдуцированных GFP $^+$ NK-клетках (рис. 1Б).

Функциональная активность полученных HER2-CAR-NK-клеток была исследована в отношении HER2-экспрессирующей линии рака молочной железы BT-474. Посредством проточной цитометрии был оценен уровень экспрессии HER2 на поверхности клеток-мишеней BT-474 – клетки обладали высоким уровнем экспрессии таргетной молекулы (рис. 2А). При коинкубации с BT-474 во фракции HER2-CAR-NK-клеток (GFP $^+$) наблюдалась большая доля дегранулирующих клеток CD107a $^+$ по сравнению с немодифицированными GFP-NK-клетками (рис. 2Б). Также HER2-CAR-NK-клетки отличались более выраженной продукцией IFN γ по сравнению с GFP-NK-клетками (рис. 2В). Посредством кальцеинового теста была детектирована повышенная литическая активность модифицированных HER2-CAR-NK-клеток (рис. 2Г). В то же время, немодифицированные GFP-NK-клетки также были способны лизировать опухолевые мишени, дегранулировать и продуцировать IFN γ в их присутствии (рис. 2Б, В, Г). Помимо взаимодействия CAR и таргетной молекулы HER2 множество осей рецептор-лиганд принимают участие в противоопухолевой реакции NK-клеток, что обеспечивает сохранение противоопухолевого потенциала NK-клеток против гетерогенных опухолей или при потере экспрессии HER2. Так, например, известно, что в элиминации BT-474 принимают участие высокодифференцированные CX3CR1 $^+$ NK-клетки, а менее дифференцированные NKG2D $^+$ NK-клетки вносят менее выраженный вклад [10]. Также BT-474 несут две аллели HLA-C1, что делает их более восприимчивыми к NK-клеткам, не экспрессирующим ингибирующие рецепторы KIR2DL2/3, которые присутствуют в пуле NK-клеток периферической крови большинства индивидов [11].

Заключение

Таким образом, на основе активированных первичных NK-клеток, обладающих натуральной противоопухолевой активностью, были получены HER2-направленные CAR-NK-клетки.

Список литературы / References

1. Ahmed N., Brawley V., Hegde M., Bielamowicz K., Kalra M., Landi D., Robertson C., Gray T.L., Diouf O., Wakefield A., Ghazi A., Gerken C., Yi Z., Ashoori A., Wu M.F., Liu H., Rooney C., Dotti G., Gee A., Su J., Kew Y., Baskin D., Zhang Y.J., New P., Grilley B., Stojakovic M., Hicks J., Powell S.Z., Brenner M., Heslop H.E., Grossman R., Wels W.S., Gottschalk S. HER2-specific chimeric antigen receptor-modified virus-specific T cells for progressive glioblastoma: A phase 1 dose-escalation trial. *JAMA Oncol.*, 2017, Vol. 3, no. 8, pp. 1094-1101.

2. Alekseeva N.A., Boyko A.A., Shevchenko M.A., Grechikhina M.V., Streltsova M.A., Alekseeva L.G., Sapozhnikov A.M., Deyev S.M., Kovalenko E.I. Three-dimensional model analysis revealed differential cytotoxic effects of the NK-92 cell line and primary nk cells on breast and ovarian carcinoma cell lines mediated by variations in receptor–ligand interactions and soluble factor profiles. *Biomedicines*, 2024, Vol. 12, no. 10, 2398. doi: 10.3390/biomedicines12102398.
3. Borst L., van der Burg S.H., van Hall T. The NKG2A-HLA-E axis as a novel checkpoint in the tumor microenvironment. *Clin. Cancer Res.*, 2020, Vol. 26, no. 21, pp. 5549-5556.
4. Eitler J., Rackwitz W., Wotschel N., Gudipati V., Murali Shankar N., Sidorenkova A., Huppa J.B., Ortiz-Montero P., Opitz C., Künzel S.R., Michen S., Temme A., Loureiro L.R., Feldmann A., Bachmann M., Boissel L., Klingemann H., Wels W.S., Tonn T. CAR-mediated targeting of NK cells overcomes tumor immune escape caused by ICAM-1 downregulation. *J. Immunother. Cancer*, 2024, Vol. 12, no. 2, e008155. doi: 10.1136/jitc-2023-008155.
5. Haroun-Izquierdo A., Vincenti M., Netskar H., Van Ooijen H., Zhang B., Bendzick L., Kanaya M., Momayyezi P., Li S., Wiiger M.T., Hoel H.J., Krokeide S.Z., Kremer V., Tjonnfjord G., Berggren S., Wikström K., Blomberg P., Alici E., Felices M., Önfelt B., Höglund P., Valamehr B., Ljunggren H.G., Björklund A., Hammer Q., Kveberg L., Cichocki F., Miller J.S., Malmberg K.J., Sohlberg E. Adaptive single-KIR⁺NKG2C⁺ NK cells expanded from select superdonors show potent missing-self reactivity and efficiently control HLA-mismatched acute myeloid leukemia. *J. Immunother. Cancer*, 2022, Vol. 10, no. 1, e005577. doi: 10.1136/jitc-2022-005577.
6. Mehta R.S., Rezvani K. Chimeric antigen receptor expressing natural killer cells for the immunotherapy of cancer. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 283. doi: 10.3389/fimmu.2018.00283.
7. Sapino A., Goia M., Recupero D., Marchiò C. Current challenges for HER2 testing in diagnostic pathology: State of the art and controversial issues. *Front. Oncol.*, 2013, Vol. 3, 129. doi: 10.3389/fonc.2013.00129.
8. Schönfeld K., Sahm C., Zhang C., Naundorf S., Brendel C., Odendahl M., Nowakowska P., Bönig H., Köhl U., Kloess S., Köhler S., Holtgreve-Grez H., Jauch A., Schmidt M., Schubert R., Kühlcke K., Seifried E., Klingemann H.G., Rieger M.A., Tonn T., Grez M., Wels W.S. Selective inhibition of tumor growth by clonal NK cells expressing an ErbB2/HER2-specific chimeric antigen receptor. *Mol. Ther.*, 2015, Vol. 23, no. 2, pp. 330-338.
9. Shilova O.N., Deyev S.M. DARPins: Promising scaffolds for theranostics. *Acta Naturae*, 2019, Vol. 11, no. 4, pp. 42-53.
10. Sivori S., Vacca P., Del Zotto G., Munari E., Mingari M.C., Moretta L. Human NK cells: surface receptors, inhibitory checkpoints, and translational applications. *Cell. Mol. Immunol.*, 2019, Vol. 16, no. 5, pp. 430-441.
11. Stepanov A.V., Kalinin R.S., Shipunova V.O., Zhang D., Xie J., Rubtsov Y.P., Ukrainskaya V.M., Schulga A., Konovalova E.V., Volkov D.V., Yaroshevich I.A., Moysenovich A.M., Belogurov A.A. Jr, Zhang H., Telegin G.B., Chernov A.S., Maschan M.A., Terekhov S.S., Wu P., Deyev S.M., Lerner R.A., Gabibov A.G., Altman S. Switchable targeting of solid tumors by BsCAR T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2022, Vol. 119, no. 46, e2210562119. doi: 10.1073/pnas.2210562119.

Авторы:

Алексеева Н.А. — аспирант, младший научный сотрудник отдела иммунологии, лаборатория клеточных взаимодействий ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Стрельцова М.А. — к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии, лаборатория клеточных взаимодействий ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Вавилова Ю.Д. — к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии, лаборатория клеточных взаимодействий ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Деев С.М. — д.б.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник отдела иммунологии, лаборатория молекулярной иммунологии ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Коваленко Е.И. — к.б.н., старший научный сотрудник отдела иммунологии, лаборатория клеточных взаимодействий ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Authors:

Alekseeva N.A., Postgraduate Student, Junior Researcher, Department of Immunology, Laboratory of Cellular Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation

Streltsova M.A., PhD (Biology), Researcher, Department of Immunology, Laboratory of Cellular Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Vavilova Yu.D., PhD (Biology), Researcher, Department of Immunology, Laboratory of Cellular Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Deyev S.M., PhD, MD (Biology), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Chief Researcher, Department of Immunology, Laboratory of Molecular Immunology, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Kovalenko E.I., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Immunology, Laboratory of Cellular Interactions, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Поступила 28.04.2025
Принята к печати 15.05.2025

Received 28.04.2025
Accepted 15.05.2025

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК В КРОВИ МЫШЕЙ ПРИ Th1- И Th2-ЗАВИСИМОМ ВАРИАНТЕ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА»

Гаврилова Е.Д., Гойман Е.В., Демченко Е.Н., Вольский Н.Н.

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия*

Резюме. Согласно общепринятым сегодня представлениям, уровни внеклеточной ДНК у пациентов с различными патологиями значительно отличаются в зависимости от выраженности у них системного воспаления. Одним из факторов, непосредственно связанных с механизмами развития воспалительного процесса, является преобладание Th1- или Th2-зависимых иммунных реакций при развитии заболевания. Целью данной работы являлось изучение влияния Th1/Th2-баланса на уровень внеклеточной ДНК в крови экспериментальных животных в модельной системе развития хронической реакции «трансплантат против хозяина». Хроническая РТПХ индуцировалась переносом лимфоидных клеток от мышей линии DBA мышам-гибридам первого поколения (C57Bl/6xDBA/2)F1. У одной части подопытных животных преобладание Th1-зависимого варианта приводило к возникновению выраженного иммунодефицитного состояния, в то время как у другой части мышей проявляется Th2-зависимый вариант этого иммунопатологического процесса с формированием в конечном итоге иммунокомплексного гломерулонефрита. Внеклеточная ДНК измерялась в разных временных точках развития хронической реакции «трансплантат против хозяина». Показано, что в группе мышей при индукции хРТПХ уже на ранних сроках наблюдается увеличение уровня вкДНК в плазме крови, при этом концентрация вкДНК, связанная с мембраной клетки, остается неизменной. К моменту формирования клинических исходов хРТПХ, в случае Th1-зависимого варианта концентрации вкДНК не отличаются от соответствующих значений в группе животных с сингенным переносом. Полученные данные свидетельствуют о том, что доминирование активности Th1-лимфоцитов не приводит к повышению уровня вкДНК в крови. У другой группы животных, с преобладанием иммунопатологического процесса, проходящего по Th2-зависимому пути, обнаруживается значительное повышение уровня вкДНК в крови обусловленное, по-видимому, развитием иммунокомплексного гломерулонефрита. Таким образом, предшествовавшее преобладание активности Th2-лимфоцитов не предотвращает возникновения нефрита, сопровождающегося увеличением уровня вкДНК.

Ключевые слова: внеклеточная ДНК, экспериментальная модель, хроническая реакция «трансплантат против хозяина», системная красная волчанка, Th1/Th2-баланс, воспаление

Адрес для переписки:

Гаврилова Елена Давидовна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 222-04-38.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: edav.gavr@mail.ru

Address for correspondence:

Elena D. Gavrilova
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14 Yadrintsevskaia St
Novosibirsk
630099 Russian Federation
Phone: +7 (383) 222-04-38.
Fax: +7 (383) 222-70-28.
E-mail: edav.gavr@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Д. Гаврилова, Е.В. Гойман, Е.Н. Демченко,
Н.Н. Вольский «Внеклеточная ДНК в крови мышей при
Th1- и Th2-зависимом варианте развития хронической
реакции «трансплантат против хозяина»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 907-912.
doi: 10.46235/1028-7221-17248-CFD

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

For citation:

E.D. Gavrilova, E.V. Goiman, E.N. Demchenko, N.N. Volskiy
“Cell-free DNA in blood of mice with Th1- and Th2-dependent
variants of chronic graft-versus-host disease”, *Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2025,
Vol. 28, no. 4, pp. 907-912.
doi: 10.46235/1028-7221-17248-CFD

© Gavrilova E.D. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-17248-CFD

CELL-FREE DNA IN BLOOD OF MICE WITH Th1- AND Th2-DEPENDENT VARIANTS OF CHRONIC GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE

Gavrilova E.D., Goiman E.V., Demchenko E.N., Volskiy N.N.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. According to current concepts, the levels of extracellular DNA (cfDNA) in patients with various disorders may significantly depend on the severity of their systemic inflammation. Predominance of Th1- or Th2-dependent immune responses during the disease development is directly related to the mechanisms of emerging inflammatory process. The aim of this work was to study the effect of Th1/Th2 balance on the cfDNA levels in blood of experimental animals using an animal model chronic graft-versus-host disease (cGVHD). This condition was induced by transferring lymphoid cells from DBA mice to the first-generation hybrid mice (C57Bl/6xDBA/2)F1. In a subgroup of animals, the predominance of Th1-dependent variant led to a pronounced immunodeficiency state. In other subgroup, this immunological disorder manifested as a Th2-dependent variant, ultimately resulting in the formation of immune complex glomerulonephritis. Cell-free DNA (cfDNA) was measured at different time points during the development of cGVHD. We have shown that in a subgroup of mice, an increased level of plasma cfDNA was observed as soon as at early stages upon induction of cGVHD, whereas the contents of cell membrane-associated cfDNA remained unchanged. By the time of registering clinical outcomes of cGVHD, in the case of the Th1-dependent variant, the concentrations of cfDNA do not differ from appropriate values in the animals subjected to syngeneic transplant. The data obtained suggest that the dominance of Th1 lymphocyte activity does not lead to increased cfDNA level in murine blood. In another group of animals, with a predominance of the immunopathology developing *via* Th2-dependent pathway, a significantly increased level of cfDNA in blood is found, apparently, due to development of immune complex-associated glomerulonephritis. Thus, the preceding dominance of Th2 lymphocyte activity does not prevent the occurrence of nephritis, accompanied by increased cfDNA levels.

Keywords: extracellular DNA, experimental model, chronic graft-versus-host disease, systemic lupus erythematosus, Th1/Th2 balance, inflammation

Научное исследование проведено с использованием денежных средств государственного задания (регистрационная карта № 124112700049-9).

Введение

Ранее нами было обнаружено, что концентрация внеклеточной ДНК (вкДНК) в плазме крови больных с бронхиальной астмой (БА) снижена по сравнению с ее содержанием в крови условно здоровых доноров [3], в отличие от повышения ее уровня, показанного при других патологических состояниях [1, 2]. В этом отношении пациенты с БА радикально отличаются от параллельно обследованной нами группы больных, страдающих ревматоидным артритом (РА), у которых данный показатель существенно повышен по сравнению со здоровыми лицами, и его повышение тесно связано со степенью выраженности патологического процесса у индивидуальных больных. Поскольку, согласно общепринятым сегодня представлениям, патогенез РА в значительной

степени определяется Th1-зависимыми иммунными реакциями, а в развитии клинической картины БА основную роль играют Th2-зависимые иммунные процессы, естественно предположить, что наблюдаемое у пациентов с РА увеличение концентрации вкДНК в плазме крови может быть связано с преобладанием при этом заболевании эффектов, вызываемых активностью хелперов первого типа. С другой стороны, исследованные группы пациентов с БА и РА резко отличаются по степени выраженности у них системного воспаления. Если при РА содержание в крови С-реактивного белка (СРБ) — базового показателя активности воспалительных процессов — составляло в среднем 17,5 мг/мл (в норме до 5 мг/мл), то при БА лишь у отдельных больных концентрация СРБ выходила за границы нормы, а в среднем составляла 2,5 мг/мл. Таким образом, отличия в уровнях вкДНК у больных БА и РА могут также объясняться воздействием на величину этого параметра неких факторов, непосредственно связанных с механизмами развития

воспалительных процессов. В пользу этого предположения говорит и тот факт, что у больных РА содержание вкДНК в плазме крови положительно коррелирует с показателями воспалительной активности [4], причем эта связь подтверждается и данными других авторов [5].

В настоящее время конкретные патофизиологические механизмы, обуславливающие изменения концентрации вкДНК в крови при различных заболеваниях, еще не выяснены, и выбор между указанными причинами ее оппозитных значений при БА и РА может быть лишь предположительным. **Целью данной работы** являлось изучение возможного влияния Th1/Th2-баланса на уровень внеклеточной ДНК в крови экспериментальных животных в модельной системе развития хронической реакции «трансплантат против хозяина» (хРТПХ).

Как давно было установлено в нашей лаборатории, хРТПХ, индуцированная переносом лимфоидных клеток от мышей линии DBA мышам-гибридам первого поколения (C57Bl/6xDBA/2) F1, развивается у части подопытных животных по Th1-зависимому варианту, приводящему к возникновению выраженного иммунодефицитного состояния, в то время как у другой части участвующих в эксперименте мышей проявляется Th2-зависимый вариант этого иммунопатологического процесса с формированием в конечном итоге иммунокомплексного гломерулонефрита [6, 7]. Поскольку итог развития хРТПХ в данной модели у индивидуальных подопытных мышей легко установить по наличию (или отсутствию) у них симптомов нефрита, она представляет собой надежную тест-систему, позволяющую изучать влияние разнообразных факторов на Th1/Th2-соотношение в организме и разделять экспериментальных животных на группы с преобладанием активности Т-хелперов первого и второго типа. В данной работе она была использована для определения концентрации вкДНК в крови мышей при развитии у них вышеуказанных оппозитных вариантов хРТПХ.

Материалы и методы

В работе использовали самок мышей-гибридов (C57Bl/6xDBA/2)F1 и самок мышей линий DBA/2, возрастом 6-8 недель, полученных из SPF-вивария ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск). Исследование одобрено этическим комитетом НИИФКИ (протокол № 92 от 10.11.2015).

Для индукции хронической РТПХ мышам-гибридам (C57Bl/6xDBA/2)F1 вводили клетки селезенки линии DBA/2 по $60-70 \times 10^6$ клеток в 0,5 мл среды путем внутривенной инъекции в хвостовую

вену дважды с интервалом в 6 дней. В качестве контролей использованы интактные мыши-гибриды того же пола и возраста и мыши-гибриды с сингенным переносом [C57Bl/6xDBA/2)F1 → C57Bl/6xDBA/2)F1]. Внеклеточная ДНК измерялась в динамике развития хРТПХ. Выделение и количественное определение ДНК из плазмы крови и фракции, связанной с мембранами клеток крови, производилось с помощью набора diaGene (ООО «Диаэм», Россия), в соответствии с протоколом производителя. Определение вкДНК проводили с помощью флюоресцентного красителя Quant-iT™ PicoGreen (Invitrogen, США). Статистическую обработку результатов проводили методами непараметрической статистики с использованием критерия Манна–Уитни с использованием программного обеспечения STATISTICA 7.0 (StatSoft, США).

Результаты и обсуждение

Данные, полученные при измерении вкДНК в динамике развития хРТПХ на ее ранних этапах, определяющих разделение экспериментальных животных на две оппозитные группы, в зависимости от преобладания у них активности Th1- и Th2-лимфоцитов, представлены в таблице 1.

Как видно из сравнения с интактным контролем и с группой мышей, которым были перенесены сингенные лимфоциты, в начальном периоде индукции хРТПХ развитие иммунопатологического процесса сопровождается некоторым увеличением уровней вкДНК в крови. При этом речь идет лишь о средней концентрации вкДНК в плазме, в то время как величина той фракции вкДНК, которая прочно связана с мембранами клеток, заметно не изменяется. Однако уже к концу первого месяца после переноса донорских клеток, вызывающих развитие хРТПХ, измеряемые уровни вкДНК в крови значительно отличаются от их величин в контрольных группах.

Такое поведение исследуемых параметров легко объяснить тем, что, как установлено для использованной нами полуаллогенной системы [8], в первую неделю после переноса донорских клеток Th1- и Th2-зависимые иммунные реакции развиваются параллельно и приводят к выраженному росту уровней цитокинов, продуцируемых как Th1-, так и Th2-лимфоцитами. В дальнейшем происходит разделение животных на два оппозитных варианта развития хРТПХ, но внешние признаки такого расхождения внутри группы подопытных животных появляются лишь через три месяца после индукции хРТПХ. Результаты исследования уровней вкДНК в крови после фор-

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ФРАКЦИИ, СВЯЗАННОЙ С МЕМБРАНАМИ КЛЕТОК КРОВИ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКА ПОСЛЕ ИНДУКЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА», $M \pm m$

TABLE 1. THE CONCENTRATION OF EXTRACELLULAR DNA IN BLOOD PLASMA AND FRACTION OF MEMBRANE-BOUND BLOOD CELLS DEPENDING ON THE PERIOD AFTER INDUCTION OF CHRONIC GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE, $M \pm m$

Экспериментальные группы Experimental groups	Срок после начала эксперимента Time after the start of the experiment		
	5 дней 5 days	13 дней 13 days	27 дней 27 days
Интактные мыши Intact mice	25±1 / 31±6	52±8 / 36±4	32±4 / 25±2
Сингенный перенос Syngeneic transfer	36±5 / 29±5	34±3 / 25±1	36±2 / 32±1
Хроническая РТПХ Chronic GVHD	50±8* / 29±3	54±10 / 25±1	49±9 / 26±3

Примечание. Уровни внеклеточной ДНК в крови животных представлены в виде: вкДНК в плазме крови (нг/мл) / вкДНК, связанная с мембранами клеток (нг/мл); n = 5; * – достоверное отличие от интактного контроля (p < 0,05).

Note. The levels of extracellular DNA in the blood of animals are presented as: cfDNA in blood plasma (ng/mL) / cfDNA bound to cell membranes (ng/mL); n = 5; *, significant difference from intact control (p < 0.05).

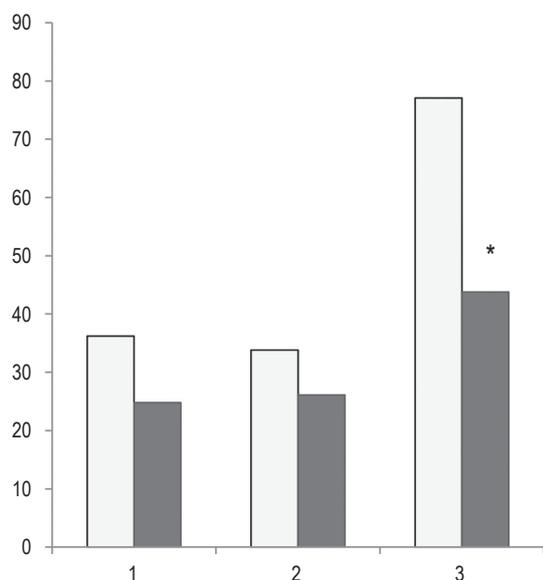


Рисунок 1. Концентрация внеклеточной ДНК в крови мышей через три месяца после индукции хронической РТПХ в сравнении с сингенным контролем

Примечание. По оси ординат: концентрация вкДНК, нг/мл; по оси абсцисс: 1-я группа – сингенный перенос (n = 9), 2-я группа – lupus⁻ (n = 8), 3-я группа – lupus⁺ (n = 7). Светлый столбец – плазма, темный столбец – фракция, связанная с мембранами клеток крови. * – достоверное отличие от групп мышей с сингенным переносом (p < 0,01).

Figure 1. Concentration of extracellular DNA in the blood of mice three months after induction of chronic GVHD in comparison with syngeneic control

Note. Ordinate axis: concentration of cfDNA, ng/mL; abscissa axis: 1st group, syngeneic transfer (n = 9); 2nd group, lupus⁻ (n = 8); 3rd group, lupus⁺ (n = 7). Light column, plasma; dark column, fraction bound to blood cell membranes. *, statistically significant differences from groups of mice with syngeneic transfer p < 0.01.

мирования различных вариантов хРТПХ даны на рисунке 1.

Показано, что разделение мышей с хРТПХ на Th1-зависимый (lupus⁻) и Th2-зависимый (lupus⁺) варианты существенно влияет на поведение интересующего нас параметра. В группе мышей с иммунодефицитом, который является исходом развития хРТПХ по Th1-зависимому варианту, уровни вкДНК практически не отличаются от соответствующих значений в контрольной группе животных с сингенным переносом (рис. 1). В то же время у тех мышей, у которых развитие иммунопатологического процесса пошло по Th2-зависимому пути с поликлональной активацией В-лимфоцитов, продуцирующих большое количество аутоантител, и через три месяца привело к формированию иммунокомплексного нефрита, обнаруживается значимое повышение уровня вкДНК в крови.

Интересно, что подобная связь уровня вкДНК в крови с воспалительным процессом в почках была обнаружена у больных системной красной волчанкой (СКВ), то есть при заболевании, экспериментальной моделью которого считается развитие хРТПХ в использованной нами полуаллогенной системе. Было показано [9], что уровень вкДНК в плазме крови существенно повышен лишь в группе тех пациентов с СКВ, у которых развитие болезни привело к возникновению волчаночного иммунокомплексного нефрита, при этом он повышается в фазы обострения заболевания и снижается в фазы ремиссии, параллельно уменьшению активности воспалительного процесса.

Полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что само по себе доминирование активности Th1-лимфоцитов и сдвиг баланса хелперной активности в эту сторону, характерные для группы мышей с развившимся иммунодефицитом (lupus⁻), не ведут к повышению уровней вкДНК в крови. А такое повышение мы видим при развитии активного воспалительного процесса в группе мышей с нефритом (lupus⁺). При этом предшествовавшее преобладание в этой группе активности Th2-лимфоцитов, приведшее в конечном итоге к развитию воспаления в почках, не предотвращает того увеличения уровня вкДНК, которым сопровождается возникновение нефрита.

Заключение

Таким образом, результаты проведенных экспериментов склоняют к выводу о том, что наблюдаемые при иммунопатологических процессах изменения уровней вкДНК в крови не связаны непосредственно с состоянием баланса хелперов в организме и что Th1-лимфоциты способны, по видимому, воздействовать на метаболизм вкДНК лишь благодаря своему влиянию на развитие воспалительных реакций. В то же время следует отметить, что окончательное разрешение вопроса о влиянии Th1/Th2-баланса на концентрацию вкДНК в крови требует расшифровки конкретных патофизиологических механизмов, определяющих величину этого показателя.

Список литературы / References

1. Гаврилова Е.Д., Демченко Е.Н., Гойман Е.В., Чумасова О.А., Вольский Н.Н., Сизиков А.Э., Козлов В.А. Внеклеточная ДНК в плазме крови и активность нейтрофильных лейкоцитов у пациентов с ревматоидным артритом // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 2. С. 147-154. [Gavrilova E.D., Demchenko E.N., Goiman E.V., Chumasova O.A., Volsky N.N., Sizikov A.E., Kozlov V.A. Extracellular DNA in blood plasma and neutrophil leukocyte activity in patients with rheumatoid arthritis. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 2. pp. 147-154. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1110-PED.
2. Гаврилова Е.Д., Гойман Е.В., Демченко Е.Н., Демина Д.В., Вольский Н.Н., Козлов В.А. Особенности изменения уровня внеклеточной ДНК, показателей нетоза и воспаления в периферической крови у пациентов с бронхиальной астмой // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 4. С. 533-540. [Gavrilova E.D., Goiman E.V., Demchenko E.N., Demina D.V., Volskiy N.N., Kozlov V.A. Characteristic changes of extracellular DNA levels, indices of netosis and inflammation in peripheral blood in patients with asthma. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no 4, pp. 533-540. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-13925-CCO.
3. Козлов В.А., Кудяева О.Т., Колесникова О.П., Сафронова И.В., Лактионов П.П., Рыкова Е.Ю., Обухова Л.А. Th1- и Th2-зависимые варианты хронической реакции трансплантат против хозяина // Иммунология, 2002. Т. 23, № 3. С. 143-146. [Kozlov V.A., Kudaeva O.T., Kolesnikova O.P., Saphronova I.V., Laktionov P.P., Rykova E.Yu., Obukhova L.A. Th1- and Th2-dependent variants of chronic graft-versus-host reaction. *Immunologiya = Immunologiya*, 2002, Vol. 23, no. 3, pp. 143-146. (In Russ.)]
4. Козлов В.А. Свободная внеклеточная ДНК в норме и при патологии // Медицинская иммунология, 2013. Т. 15, № 5. С. 399-412. [Kozlov V.A. Free extracellular DNA in normal state and under pathological conditions. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2013, Vol. 15, no. 5, pp. 399-412. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2013-5-399-412.
5. Grabuschnig S., Bronkhorst A.J., Holdenrieder S., Rodriguez I.R., Schliep K.P., Schwendenwein D., Ungerer V., Sensen C.W. Putative origins of cell-free DNA in humans: A review of active and passive nucleic acid release mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 21, 8062. doi: 10.3390/ijms21218062.
6. Kudaeva O.T., Kolesnikova O.P., Goiman E.V., Tkachev V.O., Volsky N.N., Perminova O.M., Gavrilova E.D., Kozlov V.A. The experimental model of the autoimmune glomerulonephritis induced by the chronic graft versus host reaction. In: Prabhakar S.S. (ed.). An update on glomerulopathies. Etiology and pathogenesis. Rijeka: In Tech; 2011, pp. 49-86.
7. Rykova E., Sizikov A., Roggenbuck D., Antonenko O., Bryzgalov L., Morozkin E., Skvortsova K., Vlassov V., Laktionov P., Kozlov V. Circulating DNA in rheumatoid arthritis: pathological changes and association with clinically used serological markers. *Arthritis Res. Ther.*, 2017, Vol. 19, no. 1, pp. 85-94.
8. Rus V., Svetic A., Nguyen P., Gause W.C., Via C.S. Kinetics of Th1 and Th2 cytokine production during the early course of acute and chronic murine graft-versus-host disease. Regulatory role of donor CD8+ T cells. *J. Immunol.*, 1995, Vol. 155, no. 5, pp. 2396-2406.

9. Zhang S., Lu X., Shu X., Tian X., Yang H., Yang W., Zhang Y., Wang G. Elevated plasma cfDNA may be associated with active lupus nephritis and partially attributed to abnormal regulation of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with systemic lupus erythematosus. *Intern. Med.*, 2014, Vol. 53, no. 24, pp. 2763-2771.

Авторы:

Гаврилова Е.Д. — к.б.н., заведующая лабораторией экспериментальной иммуноterapiи ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Гойман Е.В. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммуноterapiи ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Демченко Е.Н. — к.х.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммуноterapiи ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Вольский Н.Н. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммуноterapiи ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Gavrilova E.D., PhD (Biology), Head, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Goiman E.V., PhD (Medicine), Researcher, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Demchenko E.N., PhD (Chemistry), Researcher, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Volskiy N.N., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 29.04.2025
Отправлена на доработку 30.04.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 29.04.2025
Revision received 30.04.2025
Accepted 22.06.2025

ВЛИЯНИЕ ОБОГАЩЕННОЙ СРЕДЫ НА ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ПАМЯТЬ И ЭКСПРЕССИЮ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ МИКРОГЛИИ У МЫШЕЙ ЛИНИИ Balb/c

Лебедева Т.П., Курилова Е.А., Сидорова М.В., Тучина О.П.

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Резюме. Обогащение среды обитания лабораторных животных стимулирует процессы нейрональной пластичности, в том числе способствует повышению уровня нейрогенеза в гиппокампе и более эффективному пространственному ориентированию. Кроме того, обогащенная среда оказывает иммуномодулирующий эффект как на периферические иммунные клетки, так и на резидентные макрофаги мозга – микроглию. Так как иммунные клетки и выделяемые ими молекулы модулируют процессы нейрональной пластичности, актуальным является исследование влияния обогащенной среды на уровень нейрогенеза у грызунов с разным иммунным статусом. По сравнению с C57Bl/6 мыши линии Balb/c характеризуются преобладанием гуморального (Th2), а не клеточного (Th1) типов иммунного ответа, что связано с различиями в участке H2 главного локуса гена гистосовместимости, а также более высоким уровнем тревожности, выявляемом при поведенческом фенотипировании. Целью нашего исследования было оценить влияние ОС на пространственную память, уровень нейрогенеза, а также признаки активации резидентных макрофагов (микроглии) в гиппокампе мышей линии Balb/c. Исследование проводили на 4-месячных самках мышей линии Balb/c. Для оценки пространственной памяти и обучаемости животных использовали лабиринт Барнс, для оценки уровней экспрессии проводили ПЦР с использованием генспецифичных праймеров для BDNF, CD68, DCX, FGF2, IBA1, IL-1 β , IL-10, SOX2, TMEM119, TNF α , в качестве референсного гена использовали GAPDH. Полученные данные позволяют предположить, что содержание мышей линии Balb/c в условиях ОС способствует повышению уровня нейрогенеза в гиппокампе и более эффективному пространственному ориентированию. Анализ экспрессии нейротрофических факторов, а также цитокинов и маркеров активации резидентных макрофагов мозга (микроглии) показал увеличение экспрессии FGF2, TNF α , Iba1 и TMEM119, в то время как уровни экспрессии BDNF, IL-1 β , IL-10 и CD68 не изменились. Таким образом, у мышей линии Balb/c в условиях ОС не наблюдается повышения экспрессии BDNF и IL-10, что характерно для мышей C57Bl/6, однако это не препятствует пролиферации и дифференциации нейронов в зубчатой извилине, а также успешному пространственному ориентированию в лабиринте Барнс. Микроглиальные клетки у мышей линии Balb/c в условиях ОС, вероятно, поляризованы по типу M0/M2.

Ключевые слова: гиппокамп, пространственная память, нейрогенез, микроглия, цитокины, нейровоспаление

Адрес для переписки:

Тучина Оксана Павловна
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет
имени Иммануила Канта»
236006, Россия, г. Калининград,
ул. Университетская, 2.
Тел.: 8 (905) 247-50-63.
E-mail: otuchina@kantiana.ru

Address for correspondence:

Oksana P. Tuchina
Immanuel Kant Baltic Federal University
2 Universitetskaya St
Kaliningrad
236006 Russian Federation
Phone: +7 (905) 247-50-63.
E-mail: otuchina@kantiana.ru

Образец цитирования:

Т.П. Лебедева, Е.А. Курилова, М.В. Сидорова,
О.П. Тучина «Влияние обогащенной среды на
пространственную память и экспрессию маркеров
активации микроглии у мышей линии Balb/c»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 913-918.
doi: 10.46235/1028-7221-17250-EOE

© Лебедева Т.П. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

T.P. Lebedeva, E.A. Kurilova, M.V. Sidorova, O.P. Tuchina
“Effect of enriched environment on spatial memory and
expression of microglial activation markers in Balb/c mice”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 913-918.
doi: 10.46235/1028-7221-17250-EOE

© Lebedeva T.P. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17250-EOE

EFFECT OF ENRICHED ENVIRONMENT ON SPATIAL MEMORY AND EXPRESSION OF MICROGLIAL ACTIVATION MARKERS IN Balb/c MICE

Lebedeva T.P., Kurilova E.A., Sidorova M.V., Tuchina O.P.

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract. Enriched habitat of laboratory animals causes stimulation of neuronal plasticity including increased level of hippocampal neurogenesis and more efficient spatial orientation. In addition, the enriched environment has an immunomodulatory effect on both peripheral immune cells and microglia, i.e., resident brain macrophages. Since immune cells and their secreted products modulate the processes of neuronal plasticity, studying the effects of enriched environment is relevant on the level of neurogenesis in rodents with different immune status. Compared with C57Bl/6, Balb/c mice are characterized by predominance of humoral (Th2) rather than cellular (Th1) types of immunity which is associated with differences in the H2 region of the major histocompatibility (MHCII) gene locus, as well as a higher level of anxiety revealed by behavioral phenotyping. The aim of our study was to evaluate the effect of enriched environment on spatial memory, levels of neurogenesis, and activation features of resident macrophages (microglia) in hippocampus of Balb/c mice. The study was performed on 4-month-old female Balb/c mice. To assess the spatial memory and learning ability, the Barnes labyrinth was used. Gene expression levels were assessed by means of gene-specific PCR using primers for BDNF, CD68, DCX, FGF2, IBA1, IL-1 β , IL-10, SOX2, TMEM119, TNF α ; GAPDH was used as a reference gene. The obtained data suggest that keeping Balb/c mice under the enriched conditions promotes increased levels of hippocampal neurogenesis, along with more efficient spatial orientation. Expression of genes encoding neurotrophic factors, as well as cytokines and markers of microglia activation proved to be increased for FGF2, TNF α , Iba1 and TMEM119, whereas expression of BDNF, IL-1 β , IL-10 and CD68 genes did not change. Hence, expression of BDNF and IL-10 genes in Balb/c mice from enriched environment was not increased, being typical for C57BL/6 mice. However, it does not prevent the proliferation and differentiation of neurons in gyrus dentatus and successful spatial orientation in Barnes labyrinth. Microglial cells in Balb/c mice under enriched conditions are probably polarized according to the M0/M2 type.

Keywords: hippocampus, spatial memory, neurogenesis, microglia, cytokines, neuroinflammation

Введение

Обогащение среды обитания лабораторных животных благоприятно сказывается на процессах нейрональной пластичности, в том числе способствует повышению уровня нейрогенеза в гиппокампе и более эффективному пространственному ориентированию. Известно, что обогащенная среда (ОС) также оказывает иммуномодулирующий эффект: периферические макрофаги, выделенные из мышей, проживавших в ОС, демонстрируют более высокую фагоцитарную активность *ex vivo* по сравнению с макрофагами мышей, которых содержали в стандартных условиях вивария [5]; в гиппокампе крыс из ОС значительно увеличивается уровень экспрессии IL-10 и его рецептора IL-10Ra по сравнению с животными, которых содержали в стандартных условиях [13]. Так как иммунные клетки и выделяемые ими молекулы модулируют процессы нейрональной пластичности, актуальным является исследование влияния ОС на уровень нейрогенеза у грызунов с разным иммунным ста-

тусом. Большинство исследований влияния ОС на процессы нейрональной пластичности проводят на крысах или мышах линии C57Bl/6. По сравнению с C57Bl/6, мыши линии Balb/c характеризуются преобладанием гуморального (Th2), а не клеточного (Th1) типов иммунного ответа, что связано с различиями в участке H2 главного локуса гена гистосовместимости MHCII (H2d у Balb/c и H2b у C57Bl/6), а также более высоким уровнем тревожности, выявляемом при поведенческом фенотипировании.

Целью нашего исследования было оценить влияние ОС на пространственную память, уровень нейрогенеза, а также признаки активации резидентных макрофагов (микроглии) в гиппокампе мышей линии Balb/c.

Материалы и методы

Исследование проводили на 4-месячных самках мышей линии Balb/c. В возрасте 2 месяцев животных разделили на две группы по условиям проживания: мышей из контрольной группы со-

держали в стандартных клетках (28 × 40 × 18 см, по 2 мыши на клетку), а мышей из экспериментальной группы помещали в условия обогащенной среды (49 × 34 × 52 см, 5 мышей на клетку) с беговым колесом и игрушками, которые меняли каждые 3 дня. Животных содержали в виварии с циклом освещенности 12/12, при 23±2 °С с едой и водой *ad libitum*. Все манипуляции с животными были одобрены Независимым этическим комитетом Центра клинических исследований БФУ им. И. Канта, Калининград, протокол 27/2021.

Для оценки пространственной памяти и обучаемости животных использовали лабиринт К. Барнс. Установка представляет собой круглую платформу диаметром 90 см, по краям которой циркулярно расположены 20 сквозных отверстий диаметром 5 см каждое. Во время фазы привыкания и фазы тренировок одно из отверстий ведет в безопасное убежище для животных. Для ориентирования при поиске убежища по краям лабиринта располагаются четыре черно-белые визуальные подсказки. Тест включает в себя три этапа: фазу привыкания, фазу тренировок и пробную фазу. В фазу привыкания животное помещают в убежище и на платформу лабиринта для знакомства с установкой и избежания возникновения в дальнейшем неохотных реакций при проведении поведенческого фенотипирования. Фаза тренировок включает в себя 3 ежедневных тренировки на протяжении 5 дней. Во время этой фазы фиксировали время, за которое каждое животное находило убежище. Если время поиска убежища превышало 3 минуты, мышью направляли к отверстию с ним. Перерыв между тренировками у каждого животного составляет 30 минут. Во время пробной фазы убежище убирают и фиксируют время, проведенное в целевом секторе (по две лунки справа и слева от отверстия, в котором раньше находилось убежище). Первая пробная сессия проводилась через 24 часа после последней тренировки, вторая сессия – через 96 часов. Записи движения животных проводили с помощью цифровой видеокамеры (GoPro Hero 9 Black) и далее анализировали с использованием программного обеспечения BehaviorCloud (Калифорния, США).

На следующий день после проведения всех поведенческих тестов проводили транскардиальную перфузию. Животных подвергали глубокой анестезии изофлураном (Aesica Queenborough, Квинборо, Великобритания), помещали на лоток и выполняли разрез грудной клетки и диафрагмы, затем подводили перфузионную иглу к левому желудочку, а правое предсердие надрезали для оттока крови. Через перфузионную иглу, подключенную к насосу, подавали 0,9%-ный раствор NaCl комнатной температуры в течение несколь-

ких минут. После перфузии проводили декаптацию и извлечение гиппокампа. Далее образцы гиппокампа помещали в раствор Extract RNA (ЗАО «Евроген», Россия) для выделения суммарной РНК с помощью протокола от производителя. Концентрацию РНК измеряли флуориметром Qubit 2.0 (Invitrogen, США). Суммарную РНК в количестве 1 мкг использовали для получения кДНК с помощью набора MMLV RT kit (ЗАО «Евроген», Россия). ПЦР проводили с использованием генспецифичных праймеров для BDNF, CD68, DCX, FGF2, IBA1, IL-1 β , IL-10, SOX2, TMEM119, TNF α , в качестве референсного гена брали GAPDH. Анализ данных проводили с использованием метода $\Delta\Delta C_t$. Последовательности праймеров использовали следующие: BDNF (accatgggattacacttg; agctgagcgtgtgtgacagt), CD68 (ggcgggtggaataacaatgtgtcc; agcaggtaagggtgaacagctg); DCX (cagcatctccaccaacc; aagtcattcatccgtgacc); FGF2 (ccaagcagaagagaggagtg; cagcgtccatcttccctcatag); GAPDH (catcactgccaccagaagact; atgccagtgagcttcccgttcag); IBA1 (aagggaatgagtggaaag; cagacgctgggtgtcttagg); IL-1 β (aaagctctccacctcaatgg; tgtcgtgtgcttgggtctcc); IL-10 (gcccttgctatggtgtcc; tctccctggttctcttccc); SOX2 (tgcagtacaactccatgacc; cggacttgaccacagagc); TMEM119 (actaccatctcctgtccctga; tagcagccagaatgtcagctg); TNF α (tcagtgcttccaccaagg; gcagtgaccatctaactcg).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения PRISM GraphPad™ (GraphPad Software, США). Нормальность выборки проверяли с помощью теста Шапиро–Уилка. Так как данные не принадлежат нормальному распределению, использовали непараметрический тест Манна–Уитни. Различия между исследуемыми группами считались статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$. Результаты представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего.

Результаты и обсуждение

По результатам поведенческого фенотипирования мышей в лабиринте К. Барнс животные из ОС затрачивали меньше времени на поиск убежища с самого начала тренировок (рис. 1А), что указывает на более эффективную обработку новой информации и ускоренное формирование пространственной памяти. К концу тренировок обе группы животных сравнялись в результатах. Пробная фаза 1 лабиринта Барнс служит для оценки кратковременной памяти, пробная фаза 2 – долговременной. Статистически значимых различий при сравнении времени, проведенного в целевом секторе в конце тренировок, обнаружено не было ни в одну из пробных фаз. Интересно, что мыши Balb/c отличаются высоким уровнем тревожности, однако это не мешает животным

успешно ориентироваться в лабиринте Барнс и запоминать местоположение убежища.

Пространственное ориентирование в значительной степени зависит от работы гиппокампа, в том числе от эффективного разделения паттернов нейрональной активности. Образование новых нейронов в зубчатой извилине способствует разделению паттернов [6]. По результатам ПЦР в реальном времени у мышей, содержащихся в условиях ОС, статистически значимо увеличился уровень экспрессии маркера стволовых клеток SOX2 и маркера незрелых нейронов DCX в гиппокампе (рис. 1Г, Д), что свидетельствует об

активации процессов нейрогенеза и дифференциации нейронов. При этом уровень экспрессии нейротрофического фактора мозга BDNF не изменился, а экспрессия фактора роста фибробластов-2 (FGF2) значимо увеличилась по сравнению с контрольной группой (рис. 1Е, Ж). FGF2 способствует пролиферации и дифференциации нейрональных предшественников в гиппокампе, и в случае ишемического повреждения вследствие окклюзии церебральной артерии FGF2 является необходимым и достаточным фактором для активации процессов нейрогенеза [14]. Источником FGF2 в мозге предположительно

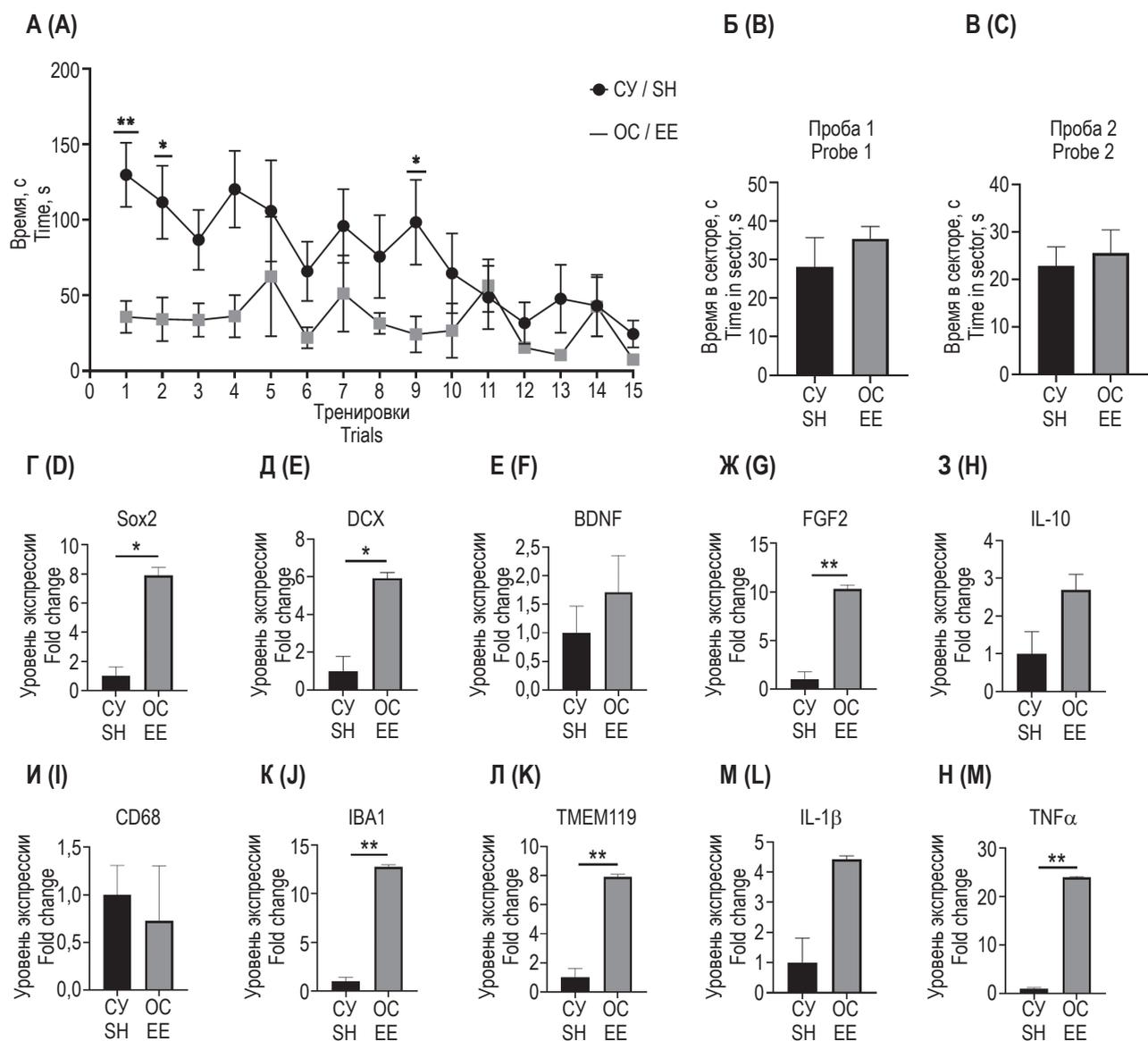


Рисунок 1. Влияние обогащенной среды на пространственную память (А-В), уровень нейрогенеза (Г, Д), экспрессию трофических факторов (Е, Ж), интерлейкинов и маркеров активации микроглии (З-Н) в гиппокампе мышей линии Balb/c

Figure 1. Effect of an enriched environment on spatial memory (A-C), the level of neurogenesis (D, E), expression of trophic factors (F, G), interleukins and microglial activation markers (H-M) in the hippocampus of Balb/c mice

являются астроциты, а резидентные макрофаги (микроглия) экспрессирует рецепторы к полипептидам семейства FGF – FGFR1, FGFR2, FGFR3. Сигнализация FGF2-FGFR1 регулирует активацию микроглии и развитие воспаления, взаимодействуя с поверхностным нейрональным гликопротеином CD200, рецептор к которому в головном мозге экспрессируют только микроглиальные клетки. Сигнализация CD200 – CD200R способствует поддержанию нейропротекторного фенотипа микроглии (M2) и ингибирует развитие воспалительных реакций [10, 11]. FGFR1 также взаимодействует с серотониновыми рецепторами 5HT1A/B, образуя гетерокомплексы [4], которые представляют большой интерес в качестве молекулярных мишеней для лечения депрессивных расстройств. Микроглиальные клетки экспрессируют рецепторы к серотонину [9], в частности сигнализация через 5HT2B предположительно способствует M2-поляризации микроглии [9, 12]. Таким образом, увеличение экспрессии FGF2 в гиппокампе мышей, содержащихся в условиях ОС, стимулирует нейрогенез и поддерживает нейропротекторный фенотип резидентных макрофагов мозга.

Уровень экспрессии провоспалительного цитокина IL-1 β и противовоспалительного IL-10 в гиппокампе после содержания мышей в ОС значительно не изменились, в то время как экспрессия TNF α существенно выросла (рис. 13-Н). При анализе экспрессии цитокинов мы рассматриваем в качестве их источников только клетки мозга (преимущественно микроглию), так как всем животным перед забором материала была проведена транскардиальная перфузия стерильным физиологическим раствором. TNF α – провоспалительный цитокин, выделяемый макрофагами M1 в период развития воспалительной реакции, например, в ответ на стимуляцию бактериальным липополисахаридом или IFN γ [1, 2, 3]. Несмотря на известный нейротоксический эффект TNF α , конкретная роль цитокина зависит от его концентрации, стадии дифференциации клетки, а также от сигнализации через TNFR1/TNFR2-

рецепторы, так как активация TNFR2 предположительно может оказывать нейропротекторный эффект [7]. Так как в условиях увеличения экспрессии TNF в гиппокампе мы также наблюдаем активацию процессов нейрогенеза и дифференциации нейронов, можно предположить, что цитокин не оказывает цитотоксического эффекта на нервные стволовые клетки в условиях ОС. Уровень экспрессии микроглиальных маркеров Iba1 и TMEM119 значительно увеличился у мышей в ОС по сравнению с животными, содержащимися в стандартных условиях. В мозге TMEM119 локализован исключительно в микроглие, и снижение его экспрессии наблюдается в реактивных, поляризованных M1 микроглиальных клетках [8]. Несмотря на увеличение экспрессии Iba1, что характерно для M1 фенотипа, уровень экспрессии одного из маркеров активации – CD68 существенно не изменился у мышей в ОС, это позволяет предположить, что микроглиальные клетки поляризованы по типу M0/M2, несмотря на увеличение экспрессии Iba1 и TNF α .

Заключение

Полученные данные позволяют предположить, что содержание мышей линии Balb/c в условиях ОС способствует повышению уровня нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа и более эффективному пространственному ориентированию. Анализ экспрессии нейротрофических факторов, а также цитокинов и маркеров активации резидентных макрофагов мозга (микроглии) показал увеличение экспрессии FGF2, TNF α , Iba1 и TMEM119, в то время как уровни экспрессии BDNF, IL-1 β , IL-10 и CD68 не изменились. Таким образом, у мышей линии Balb/c в условиях ОС не наблюдается повышения экспрессии BDNF и IL-10, что характерно для мышей C57Bl/6, однако это не препятствует пролиферации и дифференциации нейронов в зубчатой извилине, а также успешному пространственному ориентированию в лабиринте К. Барнс. Микроглиальные клетки у мышей линии Balb/c в условиях ОС, вероятно, поляризованы по типу M0/M2.

Список литературы / References

1. Патлай Н.И., Сотников Е.Б., Тучина О.П. Роль микроглиальных цитокинов в модуляции нейрогенеза во взрослом мозге // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 2020. № 5. С. 15-23. [Patlay N.I., Sotnikov E.B., Tuchina O.P. The role of microglial cytokines in the modulation of neurogenesis in the adult brain. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy = International Journal of Applied and Basic Research*, 2020, no. 5, pp. 15-23. (In Russ.)]
2. Патлай Н.И., Сотников Е.Б., Курилова Е.А., Тучина О.П. Ранние изменения реактивного профиля глиальных клеток гиппокампа мыши в ответ на липополисахарид // Современные проблемы науки и образования, 2020. № 6. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://science-education.ru/article/view?id=30310>. [Patlay N.N., Sotnikov E.B., Kurilova E.A., Tuchina O.P. Early changes in the reactive profile of mouse hippocampal glial cells in response to lipopolysaccharide. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern*

Problems of Science and Education, 2020, no. 6. [Electronic resource]. Available at: <https://science-education.ru/article/view?id=30310>. (In Russ.)]

3. Сотников Е.Б., Патлай Н.И., Николаева А.Ю., Тучина О.П. Экспрессия глиальных маркеров, цитокинов и маркеров нейрогенеза в гиппокампе мыши при старении и в ответ на липополисахарид // Молекулярная медицина, 2021. Т. 19, № 3 С. 38-43. [Sotnikov E.B., Patlay N.I., Nikolaeva A.Y., Tuchina O.P. Expression of glial markers, cytokines and markers of neurogenesis in the mouse hippocampus during aging and in response to lipopolysaccharide. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine*, 2021, Vol. 19, pp. 38-43. (In Russ.)]

4. Ambrogini P., Lattanzi D., Pagliarini M., Di Palma M., Sartini S., Cuppini R., Fuxe K., Borroto-Escuela D.O. 5HT1AR-FGFR1 heteroreceptor complexes differently modulate GIRK currents in the dorsal hippocampus and the dorsal raphe serotonin nucleus of control rats and of a genetic rat model of depression. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, Vol. 24, no. 8, 7467. doi: 10.3390/ijms24087467.

5. Brod S., Gobbetti T., Gittens B., Ono M., Perretti M., D'Acquisto F. The impact of environmental enrichment on the murine inflammatory immune response. *JCI Insight*, 2017, Vol. 2, no. 7, e90723. doi: 10.1172/jci.insight.90723.

6. Chang W.-L., Hen R. Adult Neurogenesis, Context Encoding, and Pattern Separation: A Pathway for Treating Overgeneralization. *Adv. Neurobiol.*, 2024, Vol. 38, pp. 163-193.

7. Chen Z., Palmer T.D. Differential roles of TNFR1 and TNFR2 signaling in adult hippocampal neurogenesis. *Brain Behav. Immun.*, 2013, Vol. 30, pp. 45-53.

8. Mercurio D., Fumagalli S., Schafer M.K.-H., Pedragosa J., Ngassam L.D.C., Wilhelmi V., Winterberg S., Planas A.M., Weihe E., De Simoni M.G. Protein Expression of the Microglial Marker Tmem119 Decreases in Association With Morphological Changes and Location in a Mouse Model of Traumatic Brain Injury. *Front. Cell. Neurosci.*, 2022, Vol. 16, 820127. doi: 10.3389/fncel.2022.820127.

9. Pocock J.M., Kettenmann H. Neurotransmitter receptors on microglia. *Trends Neurosci.*, 2007, Vol. 30, no. 10, pp. 527-535.

10. Sun J., Lei D. CD200-CD200R Pathway: A regulator of microglial polarization in postoperative cognitive dysfunction. *J. Inflamm. Res.* 2024, Vol. 17, pp. 8421-8427.

11. Szepesi Z., Manouchehrian O., Bachiller S., Deierborg T. Bidirectional microglia-neuron communication in health and disease. *Front. Cell. Neurosci.*, 2018, Vol. 12, 323. doi: 10.3389/fncel.2018.00323.

12. Turkin A., Tuchina O., Klempin F. Microglia function on precursor cells in the adult hippocampus and their responsiveness to serotonin signaling. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2021, Vol. 9, 665739. doi: 10.3389/fcell.2021.665739.

13. Vinogradova A., Sysova M., Smirnova P., Sidorova M., Turkin A., Kurilova E., Tuchina O. Enriched environment induces sex-specific changes in the adult neurogenesis, cytokine and miRNA expression in rat hippocampus. *Biomedicines*, 2023, Vol. 11, no. 5, 1341. doi: 10.3390/biomedicines11051341.

14. Yoshimura S., Takagi Y., Harada J., Teramoto T., Thomas S.S., Waeber C., Bakowska J.C., Breakefield X.O., Moskowitz M.A. FGF-2 regulation of neurogenesis in adult hippocampus after brain injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, Vol. 98, no. 10, pp. 5874-5879.

Авторы:

Лебедева Т.П. — магистрант Высшей школы живых систем ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Курилова Е.А. — аспирант Высшей школы живых систем ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Сидорова М.В. — старший преподаватель Высшей школы живых систем ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Тучина О.П. — к.б.н., доцент Высшей школы живых систем ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Authors:

Lebedeva T.P., Master's Student, Higher School for Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Kurilova E.A., Postgraduate Student, Higher School for Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Sidorova M.V., Senior Lecturer, Higher School for Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Tuchina O.P., PhD (Biology), Associate Professor, Higher School for Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Поступила 29.04.2025

Отправлена на доработку 06.05.2025

Принята к печати 22.06.2025

Received 29.04.2025

Revision received 06.05.2025

Accepted 22.06.2025

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСА АНТИГЕНОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ НА АКТИВАЦИЮ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА CD54 КЛЕТКАМИ ПРОМОНОЦИТАРНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА U937

Калиниченко Е.О., Козырева О.В., Сидоров Н.Г., Сорокина Е.В.,
Михайлова Н.А.

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

Резюме. Условно-патогенные бактерии играют важную роль в развитии респираторных инфекций, характеризующихся высокой заболеваемостью и смертностью. Перспективным направлением является применение препаратов на основе условно-патогенных бактерий, стимулирующих иммунитет. Важной задачей при их создании становится определение методов оценки и маркеров, отражающих усиление иммунного ответа. Известно, что для таких целей представляет интерес стимуляция миелоидных клеток. В качестве модели для анализа функциональной активности моноцитов и макрофагов широко применяется клеточная линия U937, происходящая из клеток гистиоцитарной лимфомы человека и обладающая характеристиками, близкими к промоноцитам. Рецептор молекулы CD54 (ICAM-1) представляет собой поверхностный гликопротеин, выполняющий функции адгезионного рецептора и играющий важную роль в обеспечении направленной миграции лейкоцитов из кровотока в воспаленные ткани. В условиях воспалительной стимуляции экспрессия ICAM-1 значительно возрастает на поверхности иммунных клеток, что позволяет рассматривать его как маркер активации компонентов врожденного иммунитета, включая клетки линии U937. В исследовании изучена активация экспрессии рецептора CD54 (ICAM-1) клетками человеческой промоноцитарной линии U937 под воздействием двух вариантов комплекса антигенов условно-патогенных бактерий: с добавлением иммуностимулирующего сополимера и без него. В состав комплекса антигенов входили антигены из 4 видов условно-патогенных бактерий: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*. В качестве дополнительного иммуностимулирующего агента использовали сополимер 2-метил-5-винилпиридина и N-винилпирролидона гидрохлорида. Для оценки экспрессии CD54 (ICAM-1) на клетках U937 использовали метод проточной цитометрии. Клетки стимулировали пептидогликаном *S. aureus* (положительный контроль) и исследуемыми вариантами комплекса антигенов условно-патогенных бактерий. Активность клеток оценивали с помощью коэффициента активации, отражающего увеличение экспрессии CD54. Значение коэффициента активации положитель-

Адрес для переписки:

Сидоров Никита Геннадьевич
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.
Тел./факс: 8 (495) 917-49-00.
E-mail: deel@yandex.ru

Address for correspondence:

Nikita G. Sidorov
I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera
5a Malyy Kazenny Lane
Moscow
105064 Russian Federation
Phone/fax: +7 (495) 917-49-00.
E-mail: deel@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.О. Калиниченко, О.В. Козырева, Н.Г. Сидоров,
Е.В. Сорокина, Н.А. Михайлова «Оценка влияния
комплекса антигенов условно-патогенных бактерий
на активацию экспрессии рецептора CD54 клетками
промоноцитарной линии человека U937» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 919-924.
doi: 10.46235/1028-7221-17236-AEO

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

For citation:

E.O. Kalinichenko, O.V. Kozyreva, N.G. Sidorov,
E.V. Sorokina, N.A. Mikhailova "Assessing effects of an
antigen complex from opportunistic bacteria on activation
of CD54 receptor expression by human promonocytic U937
cell line", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 919-924.
doi: 10.46235/1028-7221-17236-AEO

© Kalinichenko E.O. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17236-AEO

ного контроля считалось убедительным при достижении не менее 50% (активация клеток эталонным антигеном), в то время как активация клеток под действием исследуемых вариантов комплекса антигенов условно-патогенных бактерий признавалась значимой при коэффициенте активации не менее 30%. Показано, что оба варианта и положительный контроль индуцировали дозозависимое увеличение экспрессии CD54. Оптимальная концентрация стимуляции соответствовала 25 мкг/мл. Выявленный эффект подтвердил способность комплекса антигенов условно-патогенных бактерий активировать клетки моноцитарно-макрофагального ряда и усиливать врожденный иммунный ответ. Полученные результаты подчеркивают значимость использования ICAM-1 как маркера активации иммунных клеток. Апробированный метод является перспективным для оценки эффективности препаратов на основе условно-патогенных бактерий.

Ключевые слова: U937, моноциты, активация клеток, врожденный иммунитет, ICAM-1, CD54, антигены условно-патогенных бактерий

ASSESSING EFFECTS OF AN ANTIGEN COMPLEX FROM OPPORTUNISTIC BACTERIA ON ACTIVATION OF CD54 RECEPTOR EXPRESSION BY HUMAN PROMONOCYtic U937 CELL LINE

Kalinichenko E.O., Kozyreva O.V., Sidorov N.G., Sorokina E.V., Mikhailova N.A.

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

Abstract. Opportunistic pathogens play an important role in development of respiratory infections, causing high morbidity and mortality rates. A promising approach is the use of antigen-based drugs from opportunistic bacteria that stimulate the immune system. Search for appropriate assay techniques and biomarkers of immune response is an important task in their development. Potential stimulation of myeloid cells is of particular interest for these purposes. The U937 cell line is widely used as a model for analyzing the functional activity of monocytes and macrophages, being derived from human histiocytic lymphoma cells and exhibiting promonocyte characteristics. The CD54 (ICAM-1) molecule is a surface glycoprotein that functions as an adhesion receptor and plays a key role in targeted migration of leukocytes from bloodstream to inflamed tissues. Under the inflammatory stimulation, expression of ICAM-1 increases significantly on the surface of immune cells, making it a potential activation marker in certain components of innate immune system, including U937 cell model. This study considered activation of CD54 (ICAM-1) receptor expression in human U937 promonocytic cells under the influence of two different antigen complex from opportunistic pathogens, supplied with immunostimulatory copolymer, or without its addition. The test antigen complex included antigens from four species of opportunistic bacteria: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*. As an additional immunostimulating agent, a copolymer of 2-methyl-5-vinylpyridine and N-vinylpyrrolidone hydrochloride was used. Flow cytometry was applied in order to assess CD54 (ICAM-1) expression on U937 cells. The cells were stimulated with peptidoglycan from *S. aureus* (positive control), and with mentioned variants of the antigen complex from opportunistic bacteria. The cell activity was evaluated using the activation coefficients, which reflected the increase in CD54 expression. The activation coefficient for positive controls was considered significant if it reached, at least, 50% (activation of cells by the reference antigen), whereas cell activation by the studied bacterial antigen complexes was considered significant at an activation coefficient of at least 30%. It was shown that both variants and the positive control induced a dose-dependent increase in CD54 expression. The optimal stimulation concentration was 25 µg/mL. These effects confirmed ability of the antigen complex from opportunistic pathogens to activate monocyte-macrophage cells and enhance the innate immune response. The obtained results emphasize the importance of using ICAM-1 as a marker of immune cell activation. The tested method seems to be promising in order to test effectiveness of drugs based on opportunistic bacteria.

Keywords: U937, monocytes, cell activation, innate immunity, ICAM-1, CD54, opportunistic bacteria, antigens

Введение

Условно-патогенные бактерии являются значимыми возбудителями респираторных инфекций, характеризующихся широкой распространенностью, высокой заболеваемостью и смертностью во всем мире. Терапевтические стратегии с использованием антибактериальных средств оказались недостаточно эффективными, особенно у иммунокомпрометированных больных [4, 6, 7]. В связи с этим возникла необходимость усилить иммунный ответ с помощью препаратов, стимулирующих систему врожденного иммунитета, в частности лекарственных средств на основе условно-патогенных бактерий [5].

При разработке таких препаратов важно определить методы оценки и маркеры, которые будут указывать на усиление системы врожденного иммунитета.

Известно, что для таких целей представляет интерес стимуляция миелоидных клеток. В качестве модельных клеток для исследования функций моноцитов и макрофагов часто используется клеточная линия U937, полученная из клеток гистиоцитарной лимфомы человека, так как по своей функциональной активности она схожа с промоноцитами [8, 10].

Согласно литературным данным, рецептор молекулы CD54 (ICAM-1), являясь поверхностным гликопротеином и адгезионным рецептором, играет ключевую роль в привлечении лейкоцитов из кровотока в очаги воспаления. Экспрессия ICAM-1 активно индуцируется на иммунных клетках в ответ на воспалительную стимуляцию [3], что позволяет использовать его как маркер активации клеток врожденного иммунитета, в том числе на клетках U937 [2, 9].

Цель – исследовать активацию экспрессии рецептора CD54 (ICAM-1) клетками человеческой промоноцитарной линии U937 под воздействием комплекса антигенов условно-патогенных бактерий.

Материалы и методы

В работе использовали комплекс антигенов условно-патогенных бактерий (КА), а также КА с добавлением сополимера 2-метил-5-винилпиридина и N-винилпирролидона гидрохлорида (КА + сополимер), в качестве дополнительного иммуностимулятора. КА получали из смеси антигенов условно-патогенных бактерий *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* методом, описанным в патенте [1].

Культура клеток U937 была получена в криоконсервированном виде (ООО «ПраймБиоМед», Россия). Пробирку размораживали на водяной бане при 37 °С, затем клетки отмывали от среды,

добавляя их в пробирку с 9 мл среды RPMI-1640 (НПП «ПанЭко», Россия) и центрифугировали 5 мин при 300 g. После этого клетки сеяли в 25-мл флаконы с расчетной плотностью 1 млн/мл в питательную среду RPMI-1640 с добавлением 25 mM HEPES, 10% инактивированной фетальной телячьей сыворотки, L-глутамин (2 mM), пенициллина (50 ЕД/мл) и стрептомицина (50 мкг/мл). Флаконы с культурой инкубировали в CO₂-инкубаторе MCO 19AIC (Sanyo, Япония) при 37 °С и 5% CO₂, пересеивая клетки в свежую среду раз в 4-7 дней. Для опыта использовали клетки, находившиеся не более чем на 5-м пассаже.

Для эксперимента по активации клеток готовили бедную культуральную среду RPMI-1640, содержащую 0,5% инактивированной фетальной телячьей сыворотки, 25 mM HEPES, L-глутамин (2 mM), пенициллин (50 ЕД/мл) и стрептомицин (50 мкг/мл). Подготовленную среду использовали для отмывания выращенных клеток U937 от среды культивирования, как описано выше, и ресуспендировали в ней до концентрации 2 млн/мл. В 48-луночный культуральный планшет добавляли по 250 мкл суспензии клеток в 21 лунку: 3 лунки предназначались для отрицательного контроля (без добавления ростовых факторов), 9 лунок – для положительного контроля (пептидогликан *S. aureus* в трех разведениях), и еще 9 лунок – для исследуемого КА. Инкубировали 18 ч при 37 °С и 5% CO₂. После этого в лунки отрицательного контроля добавляли по 250 мкл среды, в лунки положительного контроля – по 250 мкл среды с пептидогликаном *S. aureus* (Merck, США) в конечной концентрации 25, 12,5 и 6,25 мкг/мл, а в оставшиеся лунки – исследуемый КА в тех же концентрациях. Инкубировали 18 ч при 37 °С и 5% CO₂.

После этого отбирали по 30 мкл суспензии клеток из каждой лунки и переносили в цитометрические пробирки. В пробирки добавляли по 3 мкл раствора меченых фикоэритрином антител к CD54, и инкубировали 20 мин в отсутствие света. Затем добавляли по 20 мкл раствора OptiLyse C (Beckman Coulter, США) для фиксации клеток и инкубировали 15 мин при комнатной температуре в отсутствие света. Пробы отмывали, добавляя по 5 мл фосфатно-солевого буфера, и центрифугировали со скоростью 1000 об/мин в течение 3 мин на центрифуге LMC-3000 (Biosan, Латвия) и удаляли супернатант. Процедуру повторяли трижды. После отмывки меченые антителами клетки ресуспендировали в 500 мкл фосфатно-солевого буфера и анализировали пробы на точном цитометре Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США).

Окно клеточной популяции определяли путем оценки фронтального и бокового светорассеивания (ориентируясь на размеры клеток, чтобы исключить из анализа клеточный детрит); в окне оценивали 10000 клеток, измеряя среднюю интенсивность флуоресценции (mean fluorescence intensity, MFI) в канале FL2 по показателю Xmean.

Коэффициент активации клеток в опыте и положительном контроле рассчитывали как отношение разности средних арифметических значений MFI по трем пробам в соответствующем образце (опыт или положительный контроль) и отрицательном контроле к среднему арифметическому значению MFI в отрицательном контроле. Результат выражали в процентах.

Коэффициент активации положительного контроля считался убедительным при достижении значения не менее 50%. Активация клеток под действием исследуемых вариантов КА признавалась значимой при коэффициенте активации не менее 30%.

Статистический анализ полученных данных был проведен с использованием языка программирования Python. Достоверность различий между группами устанавливали с помощью U-критерия Манна–Уитни. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В проведенных опытах на клетках U937, находящихся на 2–4 пассажах, выявлена экспрессия рецептора CD54 при стимуляции пептидогликаном и обоими вариантами КА (табл. 1, 2, 3). Прирост экспрессии варьировал как в положительном контроле, так и в вариантах с КА, при этом зафиксирован устойчивый дозозависимый эффект на экспрессию CD54, что свидетельствовало об активирующем воздействии исследуемых вариантов КА на клетки моноцитарно-макрофагального ряда. Полученные результаты демонстрировали способность КА стимулировать реакции врожденного иммунного ответа.

Оба исследуемых варианта КА в дозозависимой манере влияли на активацию экспрессии рецептора CD54 (ICAM-1) клетками промоноцитарной линии человека U937. Целевая степень активации устойчиво наблюдалась в концентрации 25 мкг/мл. Таким образом, данный метод и маркер являются перспективными инструментами для оценки активации клеток врожденного иммунитета в ответ на применение лекарственных средств на основе условно-патогенных бактерий.

ТАБЛИЦА 1. СТИМУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ CD54 НА ВТОРОМ ПАССАЖЕ КУЛЬТУРЫ U937

TABLE 1. STIMULATION OF CD54 EXPRESSION IN THE SECOND PASSAGE OF U937 CELL CULTURE

Тип образца Sample type	Дозы, мкг/мл Dose, µg/mL	Комплекс антигенов Antigen complex		Комплекс антигенов + сополимер Antigen complex + copolymer	
		Уровень экспрессии CD54 (MFI) CD54 expression level (MFI) M±σ	Рост экспрессии CD54, % Growth of CD54 expression, %	Уровень экспрессии CD54 (MFI) CD54 expression level (MFI) M±σ	Рост экспрессии CD54, % Growth of CD54 expression, %
Отрицательный контроль Negative control	0	13,17±0,61	0	12,87±2,68	0
Положительный контроль Positive control	6,25	16,10±1,49*	22,25	21,63±1,50*	68,07
	12,5	20,13±0,95*	52,85	31,30±2,39*	143,2
	25	25,47±6,23*	93,39	37,50±1,61*	191,38
Исследуемый препарат Investigated compound	6,25	15,90±0,66*	20,73	18,13±0,96*	40,87
	12,5	18,03±0,93*	36,9	21,60±1,25*	67,83
	25	18,57±2,02*	41	24,03±1,89*	86,71

Примечание. М – средняя арифметическая; σ – стандартное отклонение; * $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с отрицательным контролем (U-критерий Манна–Уитни).

Note. M, the arithmetic mean; σ, the standard deviation; * $p < 0.05$, the reliability of differences compared to the negative control (Mann–Whitney U test).

ТАБЛИЦА 2. СТИМУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ CD54 НА ТРЕТЬЕМ ПАССАЖЕ КУЛЬТУРЫ U937

TABLE 2. STIMULATION OF CD54 EXPRESSION IN THE THIRD PASSAGE OF U937 CELL CULTURE

Тип образца Sample type	Дозы, мкг/мл Dose, µg/mL	Комплекс антигенов Antigen complex		Комплекс антигенов + сополимер Antigen complex + copolymer	
		Уровень экспрессии CD54 (MFI) CD54 expression level (MFI) M±σ	Рост экспрессии CD54, % Growth of CD54 expression, %	Уровень экспрессии CD54 (MFI) CD54 expression level (MFI) M±σ	Рост экспрессии CD54, % Growth of CD54 expression, %
Отрицательный контроль Negative control	0	15,77±0,55	0	11,78±1,80	0
Положительный контроль Positive control	6,25	18,93±0,21*	20,04	18,57±0,45*	57,64
	12,5	22,87±0,75*	45,02	23,80±1,21*	102,04
	25	25,47±1,31*	61,51	30,3±1,4*	157,22
Исследуемый препарат Investigated compound	6,25	18,47±0,86*	17,12	16,27±0,59*	38,12
	12,5	20,30±0,69*	28,73	17±1*	44,31
	25	23,13±0,40*	46,67	20,10±0,53*	70,63

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 3. СТИМУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ CD54 НА ЧЕТВЕРТОМ ПАССАЖЕ КУЛЬТУРЫ U937

TABLE 3. STIMULATION OF CD54 EXPRESSION IN THE FOURTH PASSAGE OF U937 CELL CULTURE

Тип образца Sample type	Дозы, мкг/мл Dose, µg/mL	Комплекс антигенов Antigen complex		Комплекс антигенов + сополимер Antigen complex + copolymer	
		Уровень экспрессии CD54 (MFI) CD54 expression level (MFI) M±σ	Рост экспрессии CD54, % Growth of CD54 expression, %	Уровень экспрессии CD54 (MFI) CD54 expression level (MFI) M±σ	Рост экспрессии CD54, % Growth of CD54 expression, %
Отрицательный контроль Negative control	0	15,20±0,99	0	16,83±0,35	0
Положительный контроль Positive control	6,25	18,65±0,92*	22,7	21,97±0,78*	30,54
	12,5	22,30±0,14*	46,71	26,30±1,73*	56,27
	25	31,10±0,85*	104,61	33,4±3,0*	98,45
Исследуемый препарат Investigated compound	6,25	17,80±0,57*	17,11	19,90±1,68*	18,24
	12,5	19,75±0,64*	29,93	19,63±1,72*	16,64
	25	22,65±1,91*	49,01	23,13±1,17*	37,43

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

Заключение

Результаты нашего исследования подтверждают значимость использования ICAM-1 как маркера активации клеток моноцитарно-макрофагального ряда при воздействии комплекса

антигенов условно-патогенных бактерий. Это открывает перспективу применения апробированного метода для оценки влияния препаратов на основе условно-патогенных бактерий на врожденный иммунитет.

Список литературы / References

1. Михайлова Н.А., Солдатенкова А.В., Грубер И.М., Курбатова Е.А., Свитич О.А., Зверев В.В., Лазарев С.А., Асташкина Е.А. Способ получения поликомпонентной вакцины на основе антигенов условно-патогенных микроорганизмов. Патент RU 2799527 CI, 05.07.2023. [Mikhajlova N.A., Soldatenkova A.V., Gruber I.M., Kurbatova E.A., Svitich O.A., Zverev V.V., Lazarev S.A., Astashkina E.A. Method of obtaining a multicomponent vaccine based on antigens of opportunistic microorganisms. Patent RU 2799527CI, 05.07.2023].
2. Ade N., Martinozzi-Teissier S., Pallardy M., Rousset F. Activation of U937 cells by contact sensitizers: CD86 expression is independent of apoptosis. *J. Immunotoxicol.*, 2006, Vol. 3, no. 4, pp. 189-197.
3. Bui T.M., Wiesolek H.L., Sumagin R. ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *J. Leukoc. Biol.*, 2020, Vol. 108, no. 3, pp. 787-799.
4. Calderaro A., Buttrini M., Farina B., Montecchini S., De Conto F., Chezzi C. Respiratory tract infections and laboratory diagnostic methods: a review with a focus on syndromic panel-based assays. *Microorganisms*, 2022, Vol. 10, no. 9, 1856. doi: 10.3390/microorganisms10091856.
5. Cazzola M., Anapurapu S., Page C.P. Polyvalent mechanical bacterial lysate for the prevention of recurrent respiratory infections: a meta-analysis. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2012, Vol. 25, no. 1, pp. 62-68.
6. GBD 2021 Upper Respiratory Infections Otitis Media Collaborators. Global, regional, and national burden of upper respiratory infections and otitis media, 1990–2021: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet Infect. Dis.*, 2025, Vol. 25, no. 1, pp. 36-51.
7. Lee R.A., Boucher H.W. Respiratory tract infections in the postpandemic era: a return to basics and call to action. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 2024, Vol. 38, no.1, pp. xiii–xv.
8. Nascimento C.R., Rodrigues Fernandes N.A., Gonzalez Maldonado L.A., Rossa Junior C. Comparison of monocytic cell lines U937 and THP-1 as macrophage models for in vitro studies. *Biochem. Biophys. Rep.*, 2022, Vol. 32, 101383. doi: 10.1016/j.bbrep.2022.101383.
9. Piroird C., Ovigne J.M., Rousset F., Martinozzi-Teissier S., Gomes C., Cotovio J., Alépée N. The Myeloid U937 Skin Sensitization Test (U-SENS) addresses the activation of dendritic cell event in the adverse outcome pathway for skin sensitization. *Toxicol. In Vitro*, 2015, Vol. 29, no. 5, pp. 901-916.
10. Sundström C., Nilsson K. Establishment and characterization of a human histiocytic lymphoma cell line (U-937). *Int. J. Cancer*, 1976, Vol. 17, no. 5, pp. 565-577.

Авторы:

Калиниченко Е.О. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Козырева О.В. — научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Сидоров Н.Г. — аспирант, младший научный сотрудник лаборатории протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Сорокина Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Михайлова Н.А. — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Authors:

Kalinichenko E.O., PhD (Medicine), Researcher, Laboratory of Mechanisms of Regulation of Immunity, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Kozyreva O.V., Researcher, Laboratory of Mechanisms of Regulation of Immunity, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Sidorov N.G., Postgraduate Student, Junior Researcher, Laboratory of Protective Antigens, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Sorokina E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Mechanisms of Regulation of Immunity, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Mikhailova N.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Protective Antigens, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Поступила 16.04.2025

Отправлена на доработку 18.04.2025

Принята к печати 22.06.2025

Received 16.04.2025

Revision received 18.04.2025

Accepted 22.06.2025

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ $IFN\alpha$ И $IFN\beta$ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ МИРНК, НАПРАВЛЕННЫХ К ГЕНУ *Nup98* ПРИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВПГ-1 *IN VITRO*

Пашков Е.А., Куликова Л.А., Свитич О.А., Зверев В.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия
ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Резюме. Вирус простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1) таксономически относится к подсемейству α -герпесвирусов и представляет собой сложноорганизованный вирус с двухцепочечной ДНК. Вызываемые ВПГ-1 инфекции являются чрезвычайно распространенными в человеческой популяции; глобальный уровень инфицированного населения в возрасте до 50 лет составляет 65%. Помимо губных и генитальных высыпаний, среди заболеваний, причиной которых может быть ВПГ-1, выделяют стромальный герпетический кератит, энцефалит простого герпеса и болезнь Альцгеймера. Исходя из этого, адаптивный иммунный ответ очень важен для контроля инфекции ВПГ, ее реактивации и осложнений. Одними из ключевых компонентов адаптивного иммунитета являются $IFN\alpha$ и $IFN\beta$, играющие важную роль на ранних стадиях инфекции, вызванных герпесвирусами. Повышение экспрессии $IFN\alpha$ влечет за собой индукцию системного иммунного ответа (посредством активации НК-клеток, Т-лимфоцитов и усиления их миграции в очаг воспаления), а также подавление вирусного жизненного цикла посредством стимуляции цитотоксичности НК-клеток и дифференцировки Th1-клеток. В свою очередь, основной функцией $IFN\beta$ является стимуляция экспрессии интерферон-стимулирующих генов (ISGs), чьи продукты экспрессии будут ингибировать цикл вирусной репродукции на разных ее этапах. Для лечения герпетической инфекции в настоящее время используется широкий арсенал средств медикаментозной терапии и иных подходов, однако с течением времени наблюдается рост заболеваемости инфекции ВПГ-1 в популяции. Исходя из этого, в настоящее время необходим поиск новых подходов, направленных на снижение заболеваемости инфекции ВПГ-1 и индуцированных ей осложнений. Перспективным подходом в данной ситуации может стать использование явления РНК-интерференции, лежащей в основе механизма действия потенциальных противогерпетических препаратов нового поколения. РНК-интерференция – целевой процесс ингибирования трансляции мРНК, что влечет за собой нарушение процесса биосинтеза белка. В ходе своей репродукции, ВПГ-1 импортирует вирусную ДНК через ядерно-поровый комплекс (ЯПК),

Адрес для переписки:

Пашков Евгений Алексеевич
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а.
Тел.: 8 (916) 228-73-53.
E-mail: pashckov.j@yandex.ru

Address for correspondence:

Evgeny A. Pashkov
I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera
5a Maly Kazenny Lane
Moscow
105064 Russian Federation
Phone: +7 (916) 228-73-53.
E-mail: pashckov.j@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.А. Пашков, Л.А. Куликова, О.А. Свитич, В.В. Зверев
«Изменение экспрессии генов $IFN\alpha$ и $IFN\beta$ под
воздействием миРНК, направленных к гену *Nup98* при
инфекции, вызванной ВПГ-1 *in vitro*» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 925-930.
doi: 10.46235/1028-7221-17254-AOI

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

For citation:

E.A. Pashkov, L.A. Kulikova, O.A. Svitich, V.V. Zverev
“Alteration of $IFN\alpha$ and $IFN\beta$ gene expression by siRNA
targeting the *Nup98* gene during *in vitro* HSV-1 infection”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 925-930.
doi: 10.46235/1028-7221-17254-AOI

© Pashkov E.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17254-AOI

находящийся в мембране клеточного ядра и состоящего из белков-нуклеопоринов (Nup98, Nup205, NXF1 и др.). Следовательно, нарушение структуры ЯПК в результате миРНК-опосредованного ингибирования образования белков-нуклеопоринов, может гипотетически приводить к снижению репродукции ВПГ-1.

Ключевые слова: IFN α , IFN β , Nup98, цитокины, экспрессия генов, ВПГ-1, РНК-интерференция, миРНК

ALTERATION OF IFN α AND IFN β GENE EXPRESSION BY siRNA TARGETING THE Nup98 GENE DURING IN VITRO HSV-1 INFECTION

Pashkov E.A., Kulikova L.A., Svitich O.A., Zverev V.V.

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

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

Abstract. Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is taxonomically classified as α -herpesvirus and is a complex double-stranded DNA virus. HSV-1 infections are extremely common among human population, with a global prevalence of 65% in persons under 50. In addition to labial and genital lesions, HSV-1-associated diseases include herpetic stromal keratitis, HSV encephalitis, and Alzheimer's disease. Therefore, adaptive immune response is essential for controlling HSV infection, its reactivation, and complications. Key components of the adaptive immunity include IFN α and IFN β , which play an important role at the early stages of infection caused by herpesviruses. Increased IFN α expression induces a systemic immune response, by activating NK cells, T lymphocytes, and increasing their migration to the inflammation site, as well as suppression of the viral life cycle by stimulating NK cell cytotoxicity and Th1 cell differentiation. Moreover, the main functions of IFN β are to induce expression of interferon-stimulating genes (ISGs), whose expression products are able to inhibit viral reproduction cycle at various stages. A wide range of drug therapies and other approaches are currently used to treat herpes infections. Over time, however, an increased incidence of HSV-1 infection is observed in general population. In view of the current trends, it is necessary to search for new approaches aimed at reducing the incidence of HSV-1 infection and its complications. A promising approach may include usage of RNA interference effect, which underlies the action of potential new-generation antiherpetic drugs. RNA interference is a targeted inhibition of mRNA translation which entails disruption of subsequent protein biosynthesis. During its reproduction, HSV-1 imports viral DNA through the nuclear pore complex (NPC), located at the nuclear membrane. The NPC consists of nucleoporin proteins (Nup98, Nup205, NXF1 and others). Therefore, disruption of NPC structure resulting from miRNA-mediated inhibition of nucleoporin protein formation may hypothetically lead to a decreased HSV-1 reproduction.

Keywords: IFN α , IFN β , Nup98, cytokines, gene expression, influenza, HSV-1, siRNA

Введение

Вирус простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1) таксономически относится к подсемейству α -герпесвирусов и представляет собой сложно-организованный вирус с двухцепочечной ДНК. Вызываемые ВПГ-1 инфекции являются чрезвычайно распространенными в человеческой популяции, глобальный уровень инфицированного населения в возрасте до 50 лет составляет 65% [1]. Помимо губных и генитальных высыпаний, среди заболеваний, причиной которых может быть ВПГ-1, выделяют стромальный герпетический кератит, энцефалит простого герпеса и болезнь Альцгеймера [3]. Исходя из этого, адаптивный

иммунный ответ очень важен для контроля инфекции ВПГ, ее реактивации и осложнений [4]. Одними из ключевых компонентов адаптивного иммунитета являются IFN α и IFN β , играющие важную роль на ранних стадиях инфекции, вызванных герпесвирусами [5, 6]. Повышение экспрессии IFN α влечет за собой индукцию системного иммунного ответа (посредством активации NK-клеток, Т-лимфоцитов и усиления их миграции в очаг воспаления), а также подавление вирусного жизненного цикла посредством стимуляции цитотоксичности NK-клеток и дифференцировки Th1-клеток [7]. В свою очередь, основной функцией IFN β является стимуляция

экспрессии интерферон-стимулирующих генов (ISGs), чьи продукты экспрессии будут ингибировать цикл вирусной репродукции на разных ее этапах [7].

Для лечения герпетической инфекции в настоящее время используется широкий арсенал средств медикаментозной терапии и иных подходов, однако с течением времени наблюдается рост заболеваемости инфекции ВПГ-1 в популяции [2]. Исходя из этого, в настоящее время необходим поиск новых подходов, направленных на снижение заболеваемости инфекции ВПГ-1 и индуцированных ей осложнений. Перспективным подходом в данной ситуации может стать использование явления РНК-интерференции, лежащей в основе механизма действия потенциальных противогерпетических препаратов нового поколения. РНК-интерференция – целевой процесс ингибирования трансляции мРНК, что влечет за собой нарушение процесса биосинтеза белка [8].

В ходе своей репродукции, ВПГ-1 импортирует вирусную ДНК через ядерно-поровый комплекс (ЯПК), находящийся в мембране клеточного ядра и состоящего из белков-нуклеопоринов (*Nup98*, *Nup205*, *NXF1* и др.) [9]. Следовательно, нарушение структуры ЯПК в результате миРНК-опосредованного ингибирования образования белков-нуклеопоринов может гипотетически приводить к снижению репродукции ВПГ-1.

Исходя из вышесказанного, **целью настоящего исследования** является оценка противовирусного эффекта миРНК, направленных к клеточному гену *Nup98*, а также оценка динамики экспрессии цитокинов *IFN α* и *IFN β* на модели *in vitro*.

Материалы и методы

Подбор миРНК, олигонуклеотидов, комплексы миРНК, использованные в работе, методика трансфекции клеток миРНК с последующим заражением, использованные в работе, выделение тотальной РНК, проведение ОТ-ПЦР-РВ, определение экспрессии цитокинов, методика титрования вируса по конечной точке ЦПД представлены в нашем более раннем исследовании [10].

В работе был использован использован ВПГ-1 (коллекция ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Россия). Культивирование и определение титра вируса проводилось на культуре клеток эпителия почечных канальцев зеленой мартышки-мармазетки Vero (ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Россия). Для заражения использовали множественность инфицирования (мн. з., МОИ), равную 0,01 ед. Клетки Vero выращивали в среде DMEM (НПП «ПанЭко», Россия), содержащей 10% эмбриональной сыворотки коров (ЭСК)

Gibco (Thermo Fisher Scientific, Новая Зеландия), 40 мкг/мл гентамицина (НПП «ПанЭко», Россия), и 300 мкг/мл L-глутамин (НПП «ПанЭко», Россия) при 37 °С в CO₂-инкубаторе.

Тотальную РНК выделяли из клеточного лизата набором ExtractRNA (ЗАО «Евроген», Россия). Для постановки реакции обратной транскрипции (ОТ) применяли набор реагентов ОТ-1 (ООО «Синтол», Россия). Для ПЦР-РВ использовали набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии красителя EVA Green и референсного красителя ROX (ООО «Синтол», Россия). Рабочая концентрация праймеров составила 10 пмоль на реакционную смесь. Реакция ПЦР-РВ проводилась в амплификаторе ДТ-96 (ООО «ДНК-технология», Россия). Температурно-временной режим составил 95 °С в течение 5 мин (1 цикл), 62 °С – 40 с, 95 °С – 15 с (40 циклов). Праймеры для определения экспрессии цитокинов (ООО «Синтол», Россия) представлены в исследованиях [11]. Специфичность полученного сигнала оценивалась посредством выстраивания кривой при амплификации. Оценка изменения экспрессии целевого гена проводилась с использованием критерия 2^{- $\Delta\Delta Ct$} [12]. Оценку экспрессии *IFN α* и *IFN β* проводили относительно групп неспецифического контроля с миРНК *siL2*. Выполнялся расчет разницы трех повторов значений пороговых циклов ПЦР (ΔCt) между исследуемыми генами неспецифического контроля *siL2* и геном домашнего хозяйства *GAPDH*.

Статистическую значимость полученных результатов определяли с помощью критерия Манна–Уитни. Разница считалась достоверной при $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке противовирусного эффекта миРНК, направленных к гену *Nup98* наблюдалось снижение репродукции ВПГ-1 по результатам титрования по ЦПД. При использовании миРНК *Nup98.1* в течение 3 суток с момента трансфекции отмечалось достоверное снижение вирусной репродукции на 0,8, 1,2 и 1,5 lgТЦД50/мл (lg тканевых цитотоксических доз 50/мл) относительно контрольной группы *siL2*. При использовании миРНК *Nup98.2* достоверное снижение вирусной активности наблюдалось на 2-е и 3-и сутки с момента трансфекции. Вирусный титр в клетках, обработанных миРНК *Nup98.2*, был достоверно ниже аналогичного показателя в контрольной группе на 1,2 и 2 lgТЦД50/мл. Полученные данные представлены в таблице 1.

При оценке экспрессии гена *IFN α* не наблюдалось достоверных различий между клетками, обработанными миРНК *Nup98.1* и 2, и контроль-

ТАБЛИЦА 1. ПРОТИВОВИРУСНЫЙ ЭФФЕКТ МИРНК, СПЕЦИФИЧНЫХ К КЛЕТОЧНОМУ ГЕНУ *Nup98*

TABLE 1. ANTIVIRAL EFFECT OF siRNAs SPECIFIC TO THE CELLULAR GENE *Nup98*

Сутки Day	<i>Nup98.1</i>	<i>Nup98.2</i>	siL2
1-е сутки 1 st day	6,0±0,2*	6,4±0,6	6,8±0,3
2-е сутки 2 nd day	5,7±0,5*	5,7±0,2*	6,9±0,5
3-и сутки 3 rd day	5,7±0,2*	5,3±0,4*	7,2±0,2

Примечание. По горизонтали указаны миРНК. * – $p < 0,05$.

Note. siRNAs are indicated horizontally. *, $p < 0.05$.

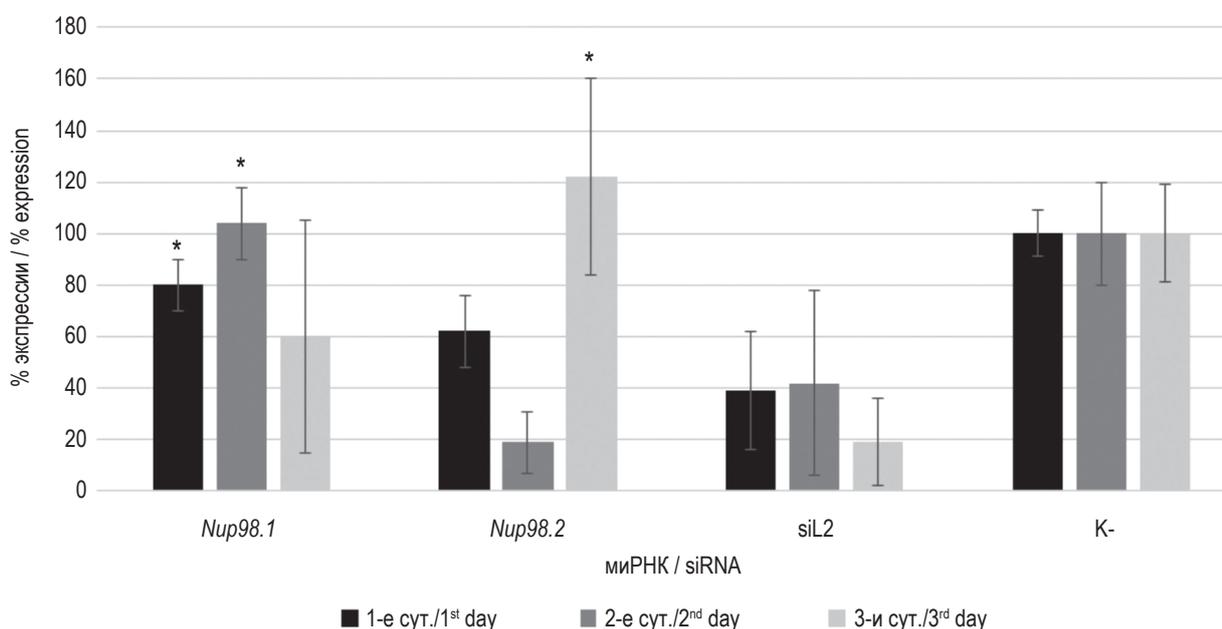


Рисунок 1. Влияние миРНК, направленных к гену *Nup98* на экспрессию *IFNβ*

Примечание. * – $p \leq 0,05$.

Figure 1. Effect of siRNAs targeting the *Nup98* gene on *IFNβ* expression

Note. *, $p \leq 0.05$.

ной группой плацебо (группа, включающая в себя применение неспецифического контроля).

Далее при исследовании было установлено, что наиболее эффективное повышение экспрессии *IFNβ* наблюдается при трансфекции миРНК *Nup98.1*. В данном случае достоверный рост экспрессии гена *IFNβ* относительно неспецифического контроля siL2 выше на 41% и 62%. При использовании миРНК *Nup98.2* достоверный рост экспрессии отмечался на 3-и сутки и составил 105% относительно неспецифического контроля siL2. Полученные данные представлены на рисунке 1.

Блокировка процесса импорта вирусной ДНК в нуклеоплазму приводила к выраженному сни-

жению вирусной репродукции на модели *in vitro*, что подтверждает значительную зависимость ВПГ-1 от нормально функционирующего ядерно-порового комплекса. Дополнительно отмечалось достоверное повышение относительно неспецифического контроля уровня экспрессии *IFNβ*, но не *IFNα*. Такая избирательная активация экспрессии *IFNβ* связана с накоплением вирусной ДНК в цитоплазме и последующей за этим активацией регуляторного пути cGAS-STING, ключевого механизма, ответственного за распознавание ДНК в цитоплазме клеток. Активация пути cGAS-STING приводит к повышению экспрессии и выработки *IFNβ*, который стимулирует индукцию активности ISG, чьи продукты

экспрессии подавляют вирусную репродукцию, и усиливает степень презентации антигена, что вызывает значительное моделирование адаптивного иммунного ответа [10].

При оценке изменения экспрессии *IFN α* не было выявлено достоверных различий между исследуемыми и контрольной группами. Настоящее отсутствие между группами может объясняться тем, что, ввиду особенностей клеточной линии Vero, она обладает ограниченной экспрессией TLR7/9, отвечающих за распознавание вирусной ДНК в эндосомах и последующей индукции *IFN α* .

Таким образом, избирательное повышение *IFN β* отражает наличие локального противовирусного ответа, опосредованного cGAS-STING-путем, в то время как системный *IFN α* в данной модели не является задействованным.

Заключение

Настоящие данные позволяют сделать вывод, что структуры, принимающие участие в процессе ядерного импорта вирусной ДНУ, являются мишенями для подавления репродукции ВПГ-1, а цитоплазматические сенсоры, распознающие ДНК, играют важную роль в развитии иммунного ответа при блокировке вирусного жизненного цикла. Результаты, полученные в ходе исследования, открывают перспективы для разработки новых стратегий терапии ВПГ-1-инфекции. Полученные результаты открывают перспективы для разработки терапевтических стратегий, направленных на модуляцию cGAS-STING-пути в комбинации с ингибиторами ядерного транспорта вирусом.

Список литературы / References

1. Ганковская О.А., Бахарева И.В., Ганковская Л.В., Сомова О.Ю., Зверев В.В. Исследование экспрессии генов TLR9, NF- κ B, ФНО α в клетках слизистой цервикального канала беременных с герпесвирусной инфекцией // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 2009. Т. 86, № 2. С. 61-64. [Gankovskaya O.V., Bakhareva I.V., Gankovskaya L.V., Somova O.Y., Zverev V.V. Study of expression of TLR9, NF- κ B, TNF α genes in cells of cervical canal mucosa in pregnant women with herpesvirus infection. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2009, Vol. 86, no. 2, pp. 61-64. (In Russ.)]
2. Пашков Е.А., Самойликов Р.В., Пряников Г.А., Быков А.С., Пашков Е.П., Поддубиков А.В., Свитич О.А., Зверев В.В. Иммуномодулирующий эффект комплексов миРНК *in vitro* при гриппозной инфекции // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 4. С. 457-462. [Pashkov E.A., Samoilkov R.V., Pryanikov G.A., Bykov A.S., Pashkov E.P., Poddubikov A.V., Svitich O.A., Zverev V.V. *In vitro* immunomodulatory effect of siRNA complexes in the influenza infection. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no. 4, pp. 457-462. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-13984-IVI.
3. Хашукоева А.З., Свитич О.А., Маркова Э.А., Отдельнова О.Б., Хлынова С.А. Фотодинамическая терапия – противовирусная терапия? История вопроса. Перспективы применения // Лазерная медицина, 2012. Т. 16, № 2. С. 63-67. [Khashukoeva A.Z., Svitich O.A., Markova E.A., Otdelnova O.B., Khlinova S.A. Photodynamic therapy – antiviral therapy? History of the question. Perspectives. *Lazernaya meditsina = Laser Medicine*, 2012, Vol. 16, no. 2, pp. 63-67. (In Russ.)]
4. Gao D., Ciancanelli M.J., Zhang P., Harschnitz O., Bondet V., Hasek M., Chen J., Mu X., Itan Y., Cobat A., Sancho-Shimizu V., Bigio B., Lorenzo L., Ciceri G., McAlpine J., Anguiano E., Jouanguy E., Chaussabel D., Meyts I., Diamond M.S., Abel L., Hur S., Smith G.A., Notarangelo L., Duffy D., Studer L., Casanova J.L., Zhang S.Y. TLR3 controls constitutive IFN- β antiviral immunity in human fibroblasts and cortical neurons. *J. Clin. Invest.*, 2021, Vol. 131, no. 1, e134529. doi: 10.1172/JCI134529.
5. Hama S., Watanabe-Takahashi M., Nishimura H., Omi J., Tamada M., Saitoh T., Maenaka K., Okuda Y., Ikegami A., Kitagawa A., Furuta K., Izumi K., Shimizu E., Nishizono T., Fujiwara M., Miyasaka T., Takamori S., Takayanagi H., Nishikawa K., Kobayashi T., Toyama-Sorimachi N., Yamashita M., Senda T., Hirokawa T., Bito H., Nishikawa K. CaMKII-dependent non-canonical RIG-I pathway promotes influenza virus propagation in the acute phase of infection. *mBio*, 2025, Vol. 16, no. 1, 0008724. doi: 10.1128/mbio.00087-24.
6. James C., Harfouche M., Welton N.J., Turner K.M., Abu-Raddad L.J., Gottlieb S.L., Looker K.J. Herpes simplex virus: global infection prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull. World Health Organ.*, 2020, Vol. 98, no. 5, pp. 315-329.
7. Noisakran S., Carr D.J. Plasmid DNA encoding IFN-alpha 1 antagonizes herpes simplex virus type 1 ocular infection through CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes. *J. Immunol.*, 2000, Vol. 164, no. 12, pp. 6435-6443.
8. Rao X., Huang X., Zhou Z., Lin X. An improvement of the 2⁻(-delta delta CT) method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostat. Bioinforma. Biomath.*, 2013, Vol. 3, no. 3, pp. 71-85.
9. Su D., Han L., Shi C., Li Y., Qian S., Feng Z., Yu L. An updated review of HSV-1 infection-associated diseases and treatment, vaccine development, and vector therapy application. *Virulence*, 2024, Vol. 15, no. 1, 2425744. doi: 10.1080/21505594.2024.2425744.

10. Traber G.M., Yu A.M. RNAi-based therapeutics and novel RNA bioengineering technologies. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2023, Vol. 384, no. 1, pp. 133-154.
11. Zhang X., Lim K., Qiu Y., Hazawa M., Wong R.W. Strategies for the viral exploitation of nuclear pore transport pathways. *Viruses*, 2025, Vol. 17, no. 2, 151. doi: 10.3390/v17020151.
12. Zhu S., Viejo-Borbolla A. Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence*, 2021, Vol. 12, no. 1, pp. 2670-2702.

Авторы:

Пашков Е.А. — к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; старший преподаватель кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Института общественного здоровья имени Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Куликова Л.А. — студент ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет); лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

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

Зверев В.В. — д.б.н., академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»; профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Authors:

Pashkov E.A., PhD (Medicine), Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera; Senior Lecturer, Department of Microbiology, Virology and Immunology, F. Erisman Institute of Public Health, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Kulikova L.A., Student, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Immunology, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

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

Zverev V.V., PhD, MD (Biology), Full Member, Russian Academy of Sciences, Scientific Advisor, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera; Professor, Head, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Поступила 29.04.2025
Отправлена на доработку 14.06.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 29.04.2025
Revision received 14.06.2025
Accepted 22.06.2025

СОДЕРЖАНИЕ ХЕМОКИНОВ RANTES, IL-8 И MIP-1 β В ЛИЗАТАХ ТРОМБОЦИТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ДОНОРСКОЙ КРОВИ

**Шуплецова В.В.¹, Мелашенко О.Б.¹, Газатова Н.Д.¹,
Хазиахматова О.Г.¹, Минина А.С.¹, Коптева А.¹, Кабанчук Н.А.²,
Первенецкая Т.Н.², Гончаров А.Г.¹, Литвинова Л.С.¹**

¹ ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

² ГБУЗ «Станция переливания крови Калининградской области», г. Калининград, Россия

Резюме. Ростовые добавки, получаемые из сыворотки животных, имеют достаточно лабильный диапазон содержания конкретного ростового фактора и потенциально могут быть инфицированы. С другой стороны, ростовые добавки, получаемые из животного сырья, содержат композицию белков, витаминов и микроэлементов, необходимых для полноценного роста клеток, а указанные недостатки возможно преодолеть заменой на продукт, получаемый из донорской крови человека. Лизат тромбоцитов имеет в составе биологически активные молекулы, заключенные в различных гранулах этих форменных элементов крови. Концентрация отдельных компонентов в получаемом продукте различна и, по-видимому, зависит не только от пола и группы крови, но и от других, пока не установленных индивидуальных особенностей. Целью исследования было изучить содержание некоторых членов семейства хемокинов, в частности: RANTES, MIP-1 β и IL-8 в лизатах тромбоцитов, полученных от здоровых доноров. Наиболее высокие концентрации цитокина MIP-1 β отмечены у доноров с резус-отрицательной принадлежностью, у женщин с третьей и мужчин четвертой группы крови. Самые высокие значения содержания IL-8 в лизате тромбоцитов зарегистрированы также у мужчин и женщин с резус-отрицательной кровью четвертой группы. Лизат тромбоцитов волонтеров второй группы крови (мужчины резус-отрицательные, женщины резус-положительные) содержал наибольшее количество RANTES. Обнаружены достоверные различия между уровнем фактора MIP-1 β в тромболизате у мужчин и женщин со второй А (II) и четвертой АВ (IV) группами резус-отрицательной крови; между женщинами третьей В (III) группы крови с разным резус-фактором. Кроме того, статистически значимо различались значения хемокина RANTES/CCL5 в тромболизате крови в группах

Адрес для переписки:

Шуплецова Валерия Владимировна
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет
имени Иммануила Канта»
236022, Россия, г. Калининград, ул. Гайдара, 6, каб. 301.
Тел.: 8 (911) 451-59-08.
E-mail: vshupletsova@mail.ru

Address for correspondence:

Valeria V. Shupletsova
Immanuel Kant Baltic Federal University
6 Gaidar St, room 301
Kaliningrad
236022 Russian Federation
Phone: +7 (911) 451-59-08.
E-mail: vshupletsova@mail.ru

Образец цитирования:

В.В. Шуплецова, О.Б. Мелашенко, Н.Д. Газатова,
О.Г. Хазиахматова, А.С. Минина, А. Коптева,
Н.А. Кабанчук, Т.Н. Первенецкая, А.Г. Гончаров,
Л.С. Литвинова «Содержание хемокинов RANTES,
IL-8 и MIP-1 β в лизатах тромбоцитов, полученных
из донорской крови» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 931-938.
doi: 10.46235/1028-7221-17237-COR

© Шуплецова В.В. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

V.V. Shupletsova, O.B. Melashchenko, N.D. Gazatova,
O.G. Khaziakhmatova, A.S. Minina, A. Kopteva,
N.A. Kabanchuk, T.N. Pervenetskaya, A.G. Goncharov,
L.S. Litvinova "Content of RANTES, IL-8 and MIP-1 β
chemokines in platelet lysates obtained from donor blood",
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 931-938.
doi: 10.46235/1028-7221-17237-COR

© Shupletsova V.V. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17237-COR

мужчин и женщин со второй А (II) (с R (+) и R (-)) и четвертой АВ (IV) группами крови (с R (+)). Интересно, что у мужчин с первой 0 (I) и второй А (II) группами крови с отрицательным резус-фактором содержание хемокина RANTES/CCL5 в тромболизате крови значимо превышало аналогичные значения в таковом, полученном от резус-положительных мужчин. Связь между принадлежностью доноров к той или иной группе крови и содержанием указанных хемокинов пока не ясна, в дальнейшем глубокий биоинформатический анализ позволит вскрыть пока не очевидную коммуникацию между этими показателями.

Ключевые слова: донорская кровь, тромбоциты, лизат тромбоцитов, культуральные среды, хемокины

CONTENT OF RANTES, IL-8 AND MIP-1 β CHEMOKINES IN PLATELET LYSATES OBTAINED FROM DONOR BLOOD

Shupletsova V.V.^a, Melashchenko O.B.^a, Gazatova N.D.^a,
Khaziakhmatova O.G.^a, Minina A.S.^a, Kopteva A.^a, Kabanchuk N.A.^b,
Pervenetskaya T.N.^b, Goncharov A.G.^a, Litvinova L.S.^a

^a Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

^b Blood Transfusion Station of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract. Growth supplements obtained from animal sera have a rather variable range of a specific growth factor contents and are subject to potential contamination. Moreover, the growth supplements obtained from animal raw materials contain a composition of proteins, vitamins and microelements necessary for full-fledged cell growth, and one may overcome these drawbacks by replacing them with a product obtained from human donor blood. Platelet lysate contains biologically active molecules derived from endogenous granules of these blood elements. Concentration of distinct biocomponents in the resulting product is variable, depending not only on gender and blood group, but also on other, as yet unidentified individual characteristics. The aim of this study was to examine the content of some chemokines, in particular, RANTES, MIP-1 β and IL-8, in platelet lysates obtained from healthy donors. The highest concentrations of MIP-1 β cytokine were noted in Rh-negative donors, in females with blood group III, and in males with the IV. blood group. The highest IL-8 contents in platelet lysate were also recorded in Rh-negative, group IV men and women. Platelet lysate of volunteers with the II blood group (men, Rh-negative; women, Rh-positive) contained the highest amount of RANTES. Significant differences were found between the MIP-1 β levels in thrombolysate of men and women with the second A (II), and AB (IV) Rh-negative blood groups; between women of the third B (III) blood group with different Rh factors. Moreover, statistically significant differences were found in the RANTES/CCL5 chemokine values in the thrombolysate for the groups of men and women with the second A (II) [with R (+) and R (-)], and AB (IV) blood group (Rh+). Interestingly, in Rh (-) men with the first 0 (I) and second A (II) blood groups, the content of chemokine RANTES/CCL5 in the blood thrombolysate significantly exceeded similar values in the blood obtained from Rh-positive men. Conclusion: The relationship between the donors' belonging to a particular blood group and the content of these chemokines is not yet clear. Future studies with deep bioinformatics analysis will reveal the unclear interrelations between these indicators.

Keywords: donor blood, platelets, platelet lysate, culture media, chemokines

Введение

Для наращивания целевых клеток, предназначенных для использования в качестве биомедицинских клеточных продуктов (БКМП), наиболее оптимальным является выбор так называемых синтетических сред, позволяющих

обеспечить достаточно стандартные условия культивирования [5]. Другим, не менее важным компонентом систем культивирования, являются ростовые факторы, обеспечивающие, с одной стороны, стабильный рост культуры, ее функциональность, с другой – нужное направление диф-

ференцировки клеток [14]. Выбор между синтетическими и ростовыми добавками животного происхождения является предметом дискуссии среди исследователей. Синтетические (рекомбинантные) ростовые факторы легко дозируются и не подвержены факторам контаминации. Для ростовых добавок, получаемых от животных (в т. ч. от человека), потенциально всегда существует риск инфицирования и достаточно широкий (лабильный) диапазон содержания в них конкретного ростового фактора. В то же время они содержат композицию белков, витаминов и микроэлементов, необходимых для полноценного роста клеток. Указанные недостатки применения ростовых добавок животного происхождения возможно преодолеть заменой на продукт, получаемый из донорской крови человека. В этом отношении, многообещающим источником ростовых факторов является лизат тромбоцитов, получаемый из донорской крови. Роль тромбоцитов в процессах гемостаза, воспаления и регенерации общеизвестна и обеспечивается биологически активными молекулами, содержащимися в различных гранулах этих форменных элементах крови. Основным резервуаром, содержащим гомеостатические соединения, являются альфа-гранулы тромбоцитов. В этих специализированных органеллах содержатся белки свертывания крови (фактор V, фактор IX, фактор XIII, антитромбин, плазминоген, ингибитор активатора плазминогена 1), фибриноген, Р-селектин, тромбоцитарный фактор-4, В-тромбоглобулин, фактор фон Виллебранда, фибронектин, хемотаксические агенты, опосредующие процесс свертывания [1]. Кроме того, альфа-гранулы тромбоцитов включают в себя ряд уникальных медиаторов/молекул, принимающих участие в реакциях иммунной системы, механизмах воспаления и регенерации. Среди них можно выделить: тромбоцитарные факторы роста (PDGF), трансформирующие факторы роста (TGF- β), факторы роста эндотелия сосудов (VEGF), факторы роста эпителия (EGF), факторы роста фибробластов (FGF), инсулиноподобные факторы роста (IGF), ряд интерлейкинов и хемокинов: IL-1 β , IL-1Ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, PF4 и TNF α [2, 3, 15]. Содержимое этих гранул высвобождается после активации тромбоцитов, попадая в окружающую среду через их канальцевую систему. Основное внимание специалистов, работающих в области регенеративной медицины, сосредоточено на содержании в продуктах, обогащенных тромбоцитами, различных ростовых факторов,

про- и противовоспалительных цитокинов. Однако, несмотря на многочисленные сведения, на сегодняшний день нет четких данных о количественном содержании членов семейства хемокинов, в частности RANTES, MIP-1 β и IL-8 в лизатах тромбоцитов, полученных от разных групп доноров, в зависимости от пола, группы крови и резус-фактора. Изучение этого вопроса и определило цель настоящего исследования.

Материалы и методы

Для решения поставленной цели в лизатах тромбоцитов, выделенных из донорской крови 112 здоровых доноров, мы повели оценку содержания фактора активации и секреции нормальных Т-лимфоцитов (Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted, RANTES, CCL15), фактора хемотаксиса нейтрофилов (интерлейкин-8, IL-8) и макрофагального воспалительного белка 1 β (MIP-1 β). Образцы донорского материала получали на ГБУЗ «Станция переливания крови Калининградской области». Группа добровольцев в возрасте от 26 до 45 лет состояла из 64 женщин и 64 мужчин. Все волонтеры были разбиты на подгруппы по принадлежности к группам крови и резус-фактору. Донорская кровь (в объеме 450 мл) на станции переливания крови проходила следующие технологические процедуры: центрифугирование с целью выделения эритроцитарной массы и плазмы. Осадок в виде тромбо-лейкоцитарной взвеси в объеме от 50 до 80 мл поступал для дальнейшего анализа в Центр иммунологии и клеточных биотехнологий (ЦИКБ) БФУ им. И. Канта. Экспериментальные образцы были стандартизированы по количеству тромбоцитов – 1×10^8 тр/мл. Лизат тромбоцитов получали по оригинальной методике, разработанной в ЦИКБ. В серии экспериментов нами была адаптирована и апробирована методика получения лизата тромбоцитов, с определением оптимальных режимов замораживания, размораживания и центрифугирования тромбоцитарного концентрата. Содержание факторов: RANTES, IL-8 и MIP-1 β в тромболизатах, полученных от отдельных групп доноров, определяли методом проточной флуориметрии, с использованием автоматизированной системы анализа белков (Bio-Plex Protein Assay System, Bio-Rad, США) и коммерческой тест-системы (Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay, Bio-Rad, Hercules, CA, США), в соответствии с протоколом производителя, с использованием программного обеспечения (Bio-Plex Manager, Bio-Rad, США).

Статистическая обработка полученных результатов

Анализ совокупности экспериментальных данных, полученных в ходе исследования, проводился с помощью программы по статистической обработке экспериментальных данных SPSS Statistics. Исследование нормальности распределения количественных характеристик проводили с использованием критерия Краскела–Уоллиса. Так как данные соответствовали нормальному распределению, гипотезу о равенстве выборочных средних проверяли с использованием t-критерия Стьюдента (двусторонний, непарный с неравным отклонением) для сравнения групп. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Секреторный потенциал тромбоцитов зависит от их предшественника – мегакариоцита [13]. В настоящее время показано, что мегакариоциты посредством цитокиновой сигнализации не только принимают активное участие в иммунологических реакциях врожденного и адаптивного иммунитета, но и регулируют развитие иммунных клеток в красном костном мозге [4, 8]. Поэтому наличие не только ростовых факторов, но и широкого спектра интерлейкинов и хемокинов, в первую очередь в альфа-гранулах тромбоцитов, с биологической точки зрения является вполне логичной. Хемокины относятся к группе внеклеточных белковых молекул, экспрессируемых большинством ядросодержащих клеток и, как показали исследования последних лет, безъядерными тромбоцитами [3].

Одним из 28 хемокинов подкласса CC, секретруемым в том числе активированными тромбоцитами, является RANTES (CC15). Помимо тромбоцитов, главными его продуцентами выступают также Т-лимфоциты и лимфатические эпителиальные клетки. Основные биологические эффекты этого цитокина реализуются через экспрессируемые на лимфоцитах, эозинофилах, тромбоцитах, тучных и мезенхимальных клетках рецепторы CCR1, CCR3, CCR4 и CCR5 [7]. Будучи мощным хемоантрактантом для клеток, принимающих участие в реакциях воспаления, он также привлекает в очаг воспаления ММСК, принимая таким образом участие в процессах регенерации [10]. К хемокинам семейства CC относится также выявленный нами в лизате тромбоцитов MIP-1 β (CCL4). Основными продуцентами этого хемокина являются макрофаги, дендритные клетки и лимфоциты [12]. Биологические эффекты CCL4 связаны, в первую очередь,

с хемотаксисом в очаг воспаления нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, а затем и моноцитов, дендритных клеток, Т-лимфоцитов НК-клеток, фибробластов и тромбоцитов. Помимо хемотаксиса, он вызывает синтез и дегрануляцию провоспалительных цитокинов таких как интерлейкин 1 (IL-1), IL-6 и TNF α из фибробластов и макрофагов. Действие CCL4 осуществляется через рецепторы CCR5 и CCR1, представленные на вышеперечисленных клетках [9]. Интерлейкин-8 (IL-8, CXCL8) по своим функциональным характеристикам можно отнести как к про-, так и противовоспалительным циткинам [6]. Главными клетками-продуцентами этого хемокина являются моноциты, макрофаги и клетки эндотелия [11]. Основная роль IL-8 при воспалении заключается в рекрутинге нейтрофилов, при этом он также ответственен за хемотаксическую миграцию и активацию моноцитов, лимфоцитов, базофилов и эозинофилов в очаг воспаления. IL-8, взаимодействуя со стволовыми/прогениторными клетками костного мозга, также обладает способностью мобилизовать и высвободить кроветворные клетки в периферическое кровообращение [11]. Реализация эффектов IL-8 происходит через активацию на клетках-мишенях главным образом CXCR1, в меньшей степени через CXCR2. Важно отметить, что при связывании IL-8 с рецепторами происходит активация внутриклеточных каскадов, вызывающих не только хемотаксис, но и дегрануляцию клеток-мишеней. В соответствии с поставленной целью нами было изучено содержание химозинов RANTES, IL-8 и MIP-1 β в лизатах тромбоцитов, выделенных из донорской крови в группах доноров, распределенных по полу, группам крови и резус-принадлежности.

В таблице 1 представлены результаты по содержанию членов семейства хемокинов RANTES, MIP-1 β и IL-8, в лизатах тромбоцитов. Можно отметить, что наиболее высокие концентрации цитокина MIP-1 β отмечены у доноров с резус-отрицательной принадлежностью, у женщин с третьей и мужчин четвертой группы крови. Самые высокие значения содержания IL-8 в лизате тромбоцитов зарегистрированы также у мужчин и женщин с резус-отрицательной кровью четвертой группы. Лизат тромбоцитов волонтеров второй группы крови (мужчины резус-отрицательные, женщины резус-положительные) содержал наибольшее количество RANTES. Обнаружены достоверные различия между содержанием в тромболизате фактора MIP-1 β у мужчин и женщин со второй А (II) и четвертой АВ (IV) группами резус-отрицательной крови;

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИИ В ЛИЗАТЕ ТРОМБОЦИТОВ (ПГ/МЛ) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА, ГРУППЫ КРОВИ, РЕЗУС-ФАКТОРА, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. CONCENTRATIONS IN PLATELET LYSATE (PG/ML) DEPENDING ON GENDER, BLOOD TYPE, RH FACTOR, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

MIP-1b		0 (I)	A (II)	B (III)	AB (IV)
Мужчины Men	R (+)	138,83 (134,11-209,61)	163,1 (155,68-194,88)	168,675 (102,56-258,75)	250,515 (216,07-278,56)
	R (-)	193,155 (157,30-278,56)	306,735 (247,55-329,31)	230,34 (194,8575-234,5400)	505,33 (341,98-610,03)
Женщины Women	R (+)	148,295 (123,27-173,29)	192,245 (173,800-236,865)	178,6 (128,7600-219,8225)	191,78 (160,2600-215,6975)
	R (-)	169,67 (148,04-204,59)	126,19* (117,925-170,335)	301,935# (181,95-401,56)	169,55* (124,3500-228,9425)
IL-8		0 (I)	A (II)	B (III)	AB (IV)
Мужчины Men	R (+)	231,53 (212,56-1290,67)	205,9 (162,0-388,8)	285,62 (98,02-655,72)	205,34 (111,16-754,46)
	R (-)	156,13 (129,4-1291,2)	170,25 (114,84-1214,95)	263,59 (196,29-699,57)	415,61 (317,88-1458,25)
Женщины Women	R (+)	202,78 (195,51-261,23)	386,89 (247,86-736,33)	197,73 (132,24-273,37)	63,42 (14,36-238,66)
	R (-)	357,75 (157,72-686,26)	403,92 (351,3900-436,1175)	266,41 (80,52-2779,67)	389,9 (84,60-504,61)
RANTES/CCL5		0 (I)	A (II)	B (III)	AB (IV)
Мужчины Men	R (+)	1648 (1279,88-2621,12)	2615,04 (2342,07-3067,30)	3509,32 (3155,97-3731,69)	2761,485 (2578,31-3004,51)
	R (-)	3157,33# (2474,93-4010,42)	4232,25# (3475,37-5121,47)	3154,265 (2435,66-4042,72)	3199,05 (2728,88-3512,47)
Женщины Women	R (+)	2538,27 (1378,28-2764,50)	4164,48* (2785,18-5748,01)	3611,2 (3074,75-4132,56)	1830,45* (1193,77-2450,31)
	R (-)	1664,5 (1261,31-2387,54)	2374,5* # (2295,24-2525,30)	3732,385 (3005,00-4416,50)	2322,53 (2182,78-2867,64)

Примечание. * – достоверные различия (p < 0,05) между мужчинами и женщинами в пределах одной группы крови и резус-фактора; # – достоверные различия (p < 0,05) в группах мужчин/женщин в пределах одной группы крови и разного резус-фактора.

Note. *, significant differences (p < 0.05) between men and women within the same blood group and Rh factor; #, significant differences (p < 0.05) in groups of men/women within the same blood group and different Rh factors.

между женщинами третьей В (III) группы крови с разным резус-фактором. Кроме того, статистически значимо различались значения хемокина RANTES/CCL5 в тромболизате крови в группах мужчин и женщин со второй А (II) (с R (+)

и R (-)) и четвертой АВ (IV) группами крови (с R (+)). Интересно, что у мужчин с первой 0 (I) и второй А (II) группами крови с отрицательным резус-фактором содержание хемокина RANTES/CCL5 в тромболизате крови значимо превышало

аналогичные значения в таковом, полученном от резус-положительных мужчин. Связь между принадлежностью доноров к той или иной группе крови и содержанием указанных хемокинов пока не ясна, тем более что в целом уровень цитокинов даже в физиологических условиях имеет высокую лабильность. Возможно, в дальнейшем глубокий биоинформатический анализ позволит вскрыть пока не очевидную коммуникацию между этими показателями.

Заключение

Лизат тромбоцитов представляет собой достаточно сложную композицию ростовых факторов, цитокинов, хемокинов. Содержание отдельных компонентов в получаемом продукте различна и, по-видимому, зависит не только от пола и груп-

пы крови, но и от других, пока не установленных индивидуальных особенностей. Однозначно, при выборе ростовой добавки, в первую очередь, необходимо ориентироваться на высокую концентрацию в ней ростовых факторов. Однако для отдельных культур клеток, таких как стромальные клетки или клетки происходящих из гемопоэтического ростка, присутствие хемокинов является необходимым условием для получения высококлеточных жизнеспособных культур. На наш взгляд, применение ростовых добавок, полученных из донорского материала, по сравнению с рекомбинантными факторами роста, более предпочтительно. Помимо ростовых факторов, они в большей степени соответствуют условиям *in vivo*, поскольку содержат весь спектр сбалансированных элементов, необходимых для роста клеток.

Список литературы / References

1. Халиулин А.В., Гусякова О.А., Козлов А.В., Габрильчак А.И. Процессы метаболизма и механизмы регуляции активности тромбоцитов (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика, 2019. Т. 64, № 3. С. 164-169. [Khaliulin A.V., Gusyakova O.A., Kozlov A.V., Gabrilchak A.I. Metabolic processes and mechanisms of regulation of platelet activity (literature review). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2019, Vol. 64, no. 3, pp. 164-169. (In Russ.)]
2. Burnouf T., Chou M.L., Lundy D.J., Chuang E.Y., Tseng C.L., Goubran H. Expanding applications of allogeneic platelets, platelet lysates, and platelet extracellular vesicles in cell therapy, regenerative medicine, and targeted drug delivery. *J. Biomed. Sci.*, 2023, Vol. 30, no. 1, 79. doi: 10.1186/s12929-023-00972-w.
3. Cognasse F., Duchez A.C., Audoux E., Ebermeyer T., Arthaud C.A., Prier A., Eyraud M.A., Mismetti P., Garraud O., Bertoletti L., Hamzeh-Cognasse H. Platelets as key factors in inflammation: focus on CD40L/CD40. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 825892. doi: 10.3389/fimmu.2022.825892.
4. Cunin P., Nigrovic P.A. Megakaryocytes as immune cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2019, Vol. 105, no. 6, pp. 1111-1121.
5. Golshan M., Dortaj H., Rajabi M., Omidi Z., Golshan M., Pourtezarani M., Rajabi A. Animal origins free products in cell culture media: a new frontier. *Cytotechnology*, 2025, Vol. 77, no. 1, 12. doi: 10.1007/s10616-024-00666-7.
6. Hou Y., Huttenlocher A. Advancing chemokine research: the molecular function of CXCL8. *J. Clin. Invest.*, 2024, Vol. 134, no. 10, e180984. doi: 10.1172/JCI180984.
7. Hughes C.E., Nibbs R.J.B. A guide to chemokines and their receptors. *FEBS J.*, 2018, Vol. 285, no. 16, pp. 2944-2971.
8. Köhler A., de Filippo K., Hasenberg M., van den Brandt C., Nye E., Hosking M.P., Lane T.E., Männ L., Ransohoff R.M., Hauser A.E., Winter O., Schraven B., Geiger H., Hogg N., Gunzer M. G-CSF-mediated thrombopoietin release triggers neutrophil motility and mobilization from bone marrow via induction of Cxcr2 ligands. *Blood*, 2011, Vol. 117, no. 16, pp. 4349-4357.
9. Korbecki J., Grochans S., Gutowska I., Barczak K., Baranowska-Bosiacka I. CC Chemokines in a tumor: A review of pro-cancer and anti-cancer properties of receptors CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, and CCR10 Ligands. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 20, 7619. doi: 10.3390/ijms21207619.
10. Luo H., Li L., Han S., Liu T. The role of monocyte/macrophage chemokines in pathogenesis of osteoarthritis: A review. *Int. J. Immunogenet.*, 2024, Vol. 51, no. 3, pp. 130-142.
11. Matsushima K., Yang D., Oppenheim J. J. Interleukin-8: An evolving chemokine. *Cytokine*, 2022, Vol. 153, 155828. doi: 10.1016/j.cyto.2022.155828.
12. Maurer M., von Stebut E. Macrophage inflammatory protein-1. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, Vol. 36, no. 10, pp. 1882-1886.
13. Potts K.S., Farley A., Dawson C.A., Rimes J., Biben C., de Graaf C., Potts M.A., Stonehouse O.J., Carmagnac A., Gangatirkar P., Josefsson E.C., Anttila C., Amann-Zalcenstein D., Naik S., Alexander W.S., Hilton D.J., Hawkins E.D.,

Taoudi S. Membrane budding is a major mechanism of *in vivo* platelet biogenesis. *J. Exp. Med.*, 2020, Vol. 217, no. 9, e20191206. doi: 10.1084/jem.20191206.

14. Price P.J. Best practices for media selection for mammalian cells. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.*, 2017, Vol. 53, no. 8, pp. 673-681.

15. Singh A., Bisht P., Bhattacharya S., Guchhait P. Role of platelet cytokines in dengue virus infection. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2020, Vol. 10, 561366. doi: 10.3389/fcimb.2020.561366.

Авторы:

Шуплецова В.В. — к.б.н., старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Мелашенко О.Б. — научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Газатова Н.Д. — старший научный сотрудник, заведующая лабораторией экспериментальных исследований препаратов крови Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Хазиахматова О.Г. — к.б.н., старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Минина А.С. — студент-исследователь Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Authors:

Shupletsova V.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Melashchenko O.B., Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Gazatova N.D., Senior Researcher, Head, Laboratory of Experimental Studies of Blood Products, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Khaziakhmatova O.G., PhD (Biology), Senior Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Minina A.S., Research Student, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Коптева А. — студент-исследователь Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Кабанчук Н.А. — и. о. главного врача ГБУЗ «Станция переливания крови Калининградской области», г. Калининград, Россия

Первенецкая Т.Н. — заведующая экспедицией с центром управления запасами компонентов донорской крови ГБУЗ «Станция переливания крови Калининградской области», г. Калининград, Россия

Гончаров А.Г. — к.м.н., старший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Литвинова Л.С. — д.м.н., директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Kopteva A., research student, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Kabanchuk N.A., Acting Chief Physician, Blood Transfusion Station of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation

Pervenetskaya T.N., Head, Expedition with the Center for Management of Donor Blood Components, Blood Transfusion Station of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russian Federation

Goncharov A.G., PhD (Medicine), Senior Researcher, Center for Immunology and Cellular Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Litvinova L.S., PhD, MD (Medicine), Director, Center for Immunology and Cellular Biotechnology, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Поступила 17.04.2025

Отправлена на доработку 23.04.2025

Принята к печати 22.06.2025

Received 17.04.2025

Revision received 23.04.2025

Accepted 22.06.2025

ИММУННЫЙ СТАТУС И ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛ HLA-E, HLA-G И HLA-DR НА КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫХ Т-ЛИМФОЦИТАХ У ПАЦИЕНТОВ СО МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ДО И ПОСЛЕ АУТОЛОГИЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК

Скачков И.П.^{1,2}, Актанова А.А.^{1,2}, Денисова В.В.², Пашкина Е.А.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

² ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
РФ, г. Новосибирск, Россия

Резюме. Множественная миелома (ММ) — это неизлечимое заболевание с частым рецидивирующим течением, одним из методов терапии которого является применение высокодозной химиотерапии (ВХТ) с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Одним из препятствий для достижения длительной ремиссии является опухолевое микроокружение, иммуносупрессивные эффекты которого реализуются в том числе за счет неклассических молекул HLA класса Ib — HLA-E и HLA-G. Эти молекулы взаимодействуют с ингибиторными рецепторами (NKG2A/CD94 для HLA-E; ILT2, ILT4, KIR2DL4 для HLA-G) на поверхности НК- и Т-лимфоцитов, блокируя их цитотоксическую активность и способствуя ускользанию опухоли от иммунного надзора. В отличие от них, классическая молекула HLA-DR играет противоположную роль, усиливая противоопухолевый иммунитет через активацию CD4⁺Т-хелперов. В данной работе, при помощи метода проточной цитометрии, был проведен сравнительный анализ экспрессии молекул HLA-G/E/DR одновременно с исследованием основных популяций иммунокомпетентных клеток (CD4⁺, CD8⁺, НК-, НКТ-клетки, В-лимфоциты, моноциты), у 10 пациентов с ММ до и после ВХТ с ауто-ТГСК и у 8 здоровых доноров. Результаты показали, что после терапии у пациентов наблюдалось значительное снижение общего пула Т-лимфоцитов, включая субпопуляции CD8⁺ и CD4⁺HLA-G⁺ ($p < 0,05$), что отражает кумулятивный иммуносупрессивный эффект режима кондиционирования на основе мелфалана. Уменьшение количества CD4⁺HLA-G⁺ клеток,

Адрес для переписки:

Актанова Алина Александровна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 227-01-35.
E-mail: aktanova_al@mail.ru

Address for correspondence:

Alina A. Aktanova
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14 Yadrinsevskaya St
Novosibirsk
630099 Russian Federation
Phone: +7 (383) 227-01-35.
E-mail: aktanova_al@mail.ru

Образец цитирования:

И.П. Скачков, А.А. Актанова, В.В. Денисова,
Е.А. Пашкина «Иммунный статус и экспрессия
молекул HLA-E, HLA-G и HLA-DR на
конвенциональных Т-лимфоцитах у пациентов
со множественной миеломой до и после аутологичной
трансплантации стволовых кровяных клеток»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 939-946.
doi: 10.46235/1028-7221-17253-ISA

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

For citation:

I.P. Skachkov, A.A. Aktanova, V.V. Denisova, E.A. Pashkina
“Immune status and expression of HLA-E, HLA-G
and HLA-DR molecules on conventional T lymphocytes
in patients with multiple myeloma before and after autologous
hematopoietic stem cell transplantation”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025,
Vol. 28, no. 4, pp. 939-946.
doi: 10.46235/1028-7221-17253-ISA

© Skachkov I.P. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-17253-ISA

обладающих регуляторными свойствами и способных подавлять иммунный ответ, может свидетельствовать о частичном разрушении опухолевой ниши. При этом парадоксальное увеличение доли CD8⁺T-лимфоцитов на фоне общей лимфопении, вероятно, связано с клональной экспансией антиген-специфичных популяций с фенотипом «истощенных» Т-клеток, что требует дальнейшего изучения. Полученные результаты подчеркивают дуалистическую роль HLA-молекул в патогенезе ММ: HLA-E/G выступают ключевыми медиаторами иммуносупрессии, тогда как HLA-DR потенцирует противоопухолевый ответ. Обнаруженный дисбаланс открывает новые перспективы для дальнейшего изучения роли молекул HLA в рамках опухолевого процесса, что может быть использовано для персонализированной терапии, включая таргетную блокаду рецепторов NKG2A/LILRB1 или молекул HLA Ib и разработку прогностических моделей на основе комплексного анализа HLA-G/E/DR-экспрессии.

Ключевые слова: множественная миелома, HLA-G, HLA-E, HLA-DR, высокодозная химиотерапия, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, иммуносупрессия, проточная цитометрия

IMMUNE STATUS AND EXPRESSION OF HLA-E, HLA-G AND HLA-DR MOLECULES ON CONVENTIONAL T LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA BEFORE AND AFTER AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Skachkov I.P.^{a, b}, Aktanova A.A.^{a, b}, Denisova V.V.^b, Pashkina E.A.^{a, b}

^a Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

^b Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Multiple myeloma (MM) is an incurable disease with common recurrence after treatment, including high-dose chemotherapy (HDC) followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT). Tumor microenvironment is a factor of achieving long-term remission. Its immunosuppressive effects are mediated due to non-classical HLA class Ib molecules, i.e., HLA-E and HLA-G. These molecules interact with inhibitory receptors (NKG2A/CD94 for HLA-E; ILT2, ILT4, KIR2DL4 for HLA-G) on the surface of NK and T lymphocytes, blocking their cytotoxic activity and facilitating tumor evasion from immune surveillance. In contrast, the classical HLA-DR molecule plays an opposite role, enhancing antitumor immunity through the activation of CD4⁺T helpers. In this study, a comparative analysis of HLA-G/E/DR expression and counts of main immunocompetent cell populations (CD4⁺, CD8⁺, NK, NKT cells, B lymphocytes, monocytes) were performed by flow cytometry method in 10 patients with MM before and after HDC with auto-HSCT, and in 8 healthy volunteers. The results showed that, after therapy, the patients had a significant decrease of total CD3⁺T lymphocyte counts, including CD8⁺ and CD4⁺HLA-G⁺ subpopulations ($p < 0.05$), thus reflecting a cumulative immunosuppressive effect of melphalan-based conditioning. A decreased number of CD4⁺HLA-G⁺ cells, which have regulatory properties and are capable of suppressing the immune response, may indicate partial destruction of the tumor niche. At the same time, a paradoxically increased proportion of CD8⁺T lymphocytes, along with general lymphopenia, may be associated with clonal expansion of antigen-specific populations with “exhausted” T cell phenotype which requires further study. The results obtained suggest a dualistic role of HLA molecules in pathogenesis of MM: HLA-E/G act as key mediators of immunosuppression, while HLA-DR potentiates antitumor response. The discovered imbalance opens up new prospects for further studies of a role of HLA molecules in the tumor process, which may be applied to personalized therapy, including targeted blockade of NKG2A/LILRB1 receptors or HLA Ib molecules, and development of prognostic models based on a comprehensive analysis of HLA-G/E/DR expression.

Keywords: multiple myeloma, HLA-G, HLA-E, HLA-DR, high-dose chemotherapy, hematopoietic stem cell transplantation, autologous, immunosuppression, flow cytometry

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Новосибирской области (соглашение № МЛ-1 от 26 октября 2023 г.).

Введение

HLA-G и HLA-E относятся к семейству I β класса HLA, которое в отличие от молекул HLA-IA (HLA-A, HLA-B и HLA-C) является неклассическим и характеризуется ограниченным полиморфизмом и небольшим количеством аллелей. Неклассические молекулы HLA-I играют роль в контроле над эффекторными цитотоксическими клетками путем связи с ингибиторными рецепторами на их поверхности. Так, молекула HLA-G способна связываться с четырьмя ингибиторными рецепторами, экспрессируемыми иммунными клетками: ILT2 на NK-клетках, T- и B-лимфоцитах; ILT4 на миелоидных клетках; KIR2DL4 на NK-клетках и T-лимфоцитах; и CD160 на NK-клетках и T-лимфоцитах. В свою очередь, молекула HLA-E способна связываться с ингибиторным рецептором NKG2A/CD94, к которому имеет сродство в шесть раз выше, чем к активирующему рецептору NKG2C/CD94 [9], влияя тем самым на активность NK- и T-клеток, экспрессирующих эти рецепторы. В физиологических условиях молекулы HLA-G и HLA-E играют критическую роль в иммунной толерантности, опосредуя защиту полуаллогенного плода от материнских NK-клеток через взаимодействие с ингибиторными рецепторами (LILRB1, NKG2A/CD94). В трансплантологии мембраносвязанная форма HLA-G, взаимодействуя с рецептором KIR2DL4, индуцирует иммуносупрессивный фенотип дендритных клеток, снижая риск отторжения аллотрансплантата [10]. Однако при онкологических патологиях неклассические молекулы HLA I β становятся инструментом уклонения трансформированных клеток от иммунного надзора: их экспрессия блокирует распознавание и уничтожение злокачественных клеток, способствуя прогрессии заболевания. Особую клиническую значимость представляет выявленный «HLA-G/E-ассоциированный фенотип» при раке молочной железы, характеризующийся 3,5-кратным повышением риска прогрессии (HR = 3,52; 95% ДИ 2,17-5,71) и резистентностью к PD-1-таргетной терапии, демонстрируя наихудший клинический исход [6]. Еще одним опухолевым заболеванием, в патогенезе которого играют роль нарушения иммунного баланса, связанные с экспрессией молекул HLA-G и HLA-E, является множественная миелома (ММ), которая характеризуется бесконтрольной пролиферацией в костном мозге клона предшественников B-лимфоцитов, которые сохраняют способность к дифференцировке до

плазматических клеток и в большинстве случаев продуцируют патологический моноклональный иммуноглобулин или его фрагменты. Заболеваемость ММ насчитывает до 10-15% среди опухолей системы крови. Современные терапевтические подходы, включая применение ингибиторов протеасом (бортезомиб, карфилзомиб) и иммуномодулирующих препаратов (леналидомид, помалидомид), а также проведение высокодозной химиотерапии (ВХТ) с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК), позволили увеличить медиану общей выживаемости пациентов с ММ до 5-10 лет. Однако, несмотря на достижение ремиссии у большинства пациентов, прогрессирование заболевания остается неизбежным. ВХТ с последующей ауто-ТГСК остается ключевым терапевтическим подходом для пациентов с ММ, обеспечивая циторедукцию опухолевой массы за счет деплеции злокачественного клона, а также вызывая «иммунологическую перезагрузку» (immune reset) через индуцированную лимфопению, которая создает условия для периферической экспансии зрелых лимфоцитов [1]. Однако эффективность иммунологической перезагрузки при ауто-ТГСК может варьировать в зависимости от молекулярно-генетического профиля заболевания, особенно при наличии таких прогностически значимых aberrаций, как транслокация t(4;14), ассоциированная с гиперэкспрессией гена MMSET (WHSC1) и FGFR3 [5], что усиливает пролиферацию и выживаемость опухолевых клонов, а также коррелирует с повышенной экспрессией молекулы HLA-E [13], что приводит к дисрегуляции взаимодействий между неопластическими плазматическими клетками и элементами костномозговой ниши, что способствует формированию иммуносупрессивного микроокружения [11]. В этом процессе ключевую роль играют молекулы HLA-E и HLA-G, которые поддерживают гипоксическое состояние через подавление VEGF-опосредованного ангиогенеза, создают порочный круг опухолевой персистенции за счет HIF-1 α -зависимой регуляции своей экспрессии [7] и обеспечивают селективное преимущество злокачественных клонов через ингибирование цитотоксических NK-клеток, индукцию Treg-лимфоцитов путем трогоцитоза HLA-G с поверхности плазматических клеток, блокаду антиген-презентирующей функции [3]. В то время как неклассические молекулы HLA-G и HLA-E играют ключевую роль в иммуносупрессии через ингибирование врожденного иммунитета, классическая молекула HLA-DR (HLA класса II) выполняет принципиально иную функцию в патогенезе ММ. В отличие от иммуносупрессивных эффектов HLA-G/E,

снижение экспрессии HLA-DR на антиген-презентирующих клетках приводит к нарушению презентации опухолевых антигенов, дефициту активации CD4⁺T-хелперов, формированию иммунологически «холодного» микроокружения [2], когда увеличение экспрессии, наоборот, ассоциируется с усилением противоопухолевого иммунного ответа. Так, у пациентов с плоскоклеточным раком гортани высокая экспрессия HLA-DR на опухолевых клетках коррелировала со снижением частоты рецидивов и улучшением общей выживаемости, при этом микроокружение таких опухолей характеризовалось значительной инфильтрацией Т-лимфоцитов [8]. Несмотря на ключевую роль HLA-молекул в иммунном ответе при ММ, до настоящего времени отсутствовали комплексные исследования, оценивающие координированную экспрессию иммуносупрессивных (HLA-E, HLA-G) и иммунорегуляторных (HLA-DR) молекул на иммунокомпетентных клетках. Настоящая работа впервые предоставляет системный анализ этой триады HLA-маркеров, что в дальнейшем позволит раскрыть их взаимосвязь уклонения опухоли от иммунного надзора и клиническими исходами. Цель настоящей работы – определение изменений в соотношении субпопуляций лимфоцитов, в том числе экспрессирующих HLA-E, HLA-G и HLA-DR, а также основных популяций иммунокомпетентных клеток у пациентов с ММ после проведения высокодозной химиотерапии и аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие пациенты с ММ (n = 10; средний возраст 62,2±2,7 года), которым в период с сентября 2024 г. по январь 2025 г. на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» были выполнены ВХТ и ауто-ТГСК. Критерии включения лиц в исследование: пациенты мужского и женского пола с диагнозом «ММ» в возрасте от 18 до 65 лет, заболевание, которых соответствовало II или III клинической стадии по системе Durie–Salmon, а также наличие полной или очень хорошей частичной ремиссии на момент включения в исследование. Контрольную группу составили условно здоровые доноры (n = 8; средний возраст 44,6±4,7 года) после подписания добровольного информирования согласия. Критерии включения участников в контрольную группу: здоровые доноры мужского и женского пола в возрасте от 18 до 65 лет, не имеющие в анамнезе аутоиммунных заболеваний, онкологических

патологий, а также хронических или рецидивирующих вирусных инфекций. Мобилизацию гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) у пациентов проводили с использованием циклофосфида (2-4 г/м²) с последующей инфузией гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (5 мкг/кг/день) в течение 4-5 дней до достижения концентрации CD34⁺CD45⁺ клеток в периферической крови (ПК) не менее 10⁴/мл. Режим кондиционирования включал введение мелфалана в дозе 140-200 мг/м², адаптированной с учетом сопутствующих заболеваний. После ауто-ТГСК все пациенты получали поддерживающую терапию бортезомибом или леналидомидом. Забор образцов крови осуществляли после подписания информированного согласия. Оценку субпопуляций Т-лимфоцитов, экспрессирующих HLA-E, HLA-G и HLA-DR, а также NK-, NKT-клеток, В-лимфоцитов и моноцитов проводили в образцах периферической крови пациентов в два этапа: до начала кондиционирования (в среднем за 7 дней до ауто-ТГСК) и после процедуры в день выхода из лейкопении (лейкоциты > 1 × 10⁹/л, в среднем на 14-й день). Относительное содержание клеточных популяций (CD4⁺, CD4⁺HLA-E⁺, CD4⁺HLA-G⁺, CD4⁺HLA-DR⁺, CD8⁺, CD8⁺HLA-E⁺, CD8⁺HLA-G⁺, CD8⁺HLA-DR⁺, В-клетки, NK/NKT-клетки, моноциты) анализировали методом проточной цитометрии с использованием панели моноклональных антител: анти-CD19 (APC), анти-CD4 (APC/Cy7), анти-CD45 (PE/Cy7), анти-CD14 (PerCP), анти-CD3 (FITC) + анти-CD16/56 (PE), анти-CD8a (PE/Cy7), анти-HLA-G (PE), анти-HLA-E (PerCP/Cy5,5), анти-HLA-DR (APC) (BioLegend, США). Клетки инкубировали с антителами в темноте при комнатной температуре в течение 20 минут, после чего промывали фосфатно-солевым буфером (PBS) с добавлением 0,5% фетальной бычьей сыворотки (FCS, Nuclone, США). Данные регистрировали на проточном цитофлуориметре LongCyte™ (модель C3140, Challenbio, Китай) с последующим анализом в программе ModelFlow. Статистическую обработку выполняли в GraphPad Prism 10.4.1 (США) с применением критериев Манна–Уитни и Уилкоксона. Результаты представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25-75-й процентиля). Уровень статистической значимости установлен при p < 0,05.

Результаты и обсуждение

Наши данные демонстрируют снижение пула Т-лимфоцитов, включая CD8⁺ и CD4⁺HLA-G⁺ субпопуляции (рис. 1А-В), у пациентов с ММ после ауто-ТГСК, что отражает кумулятивный

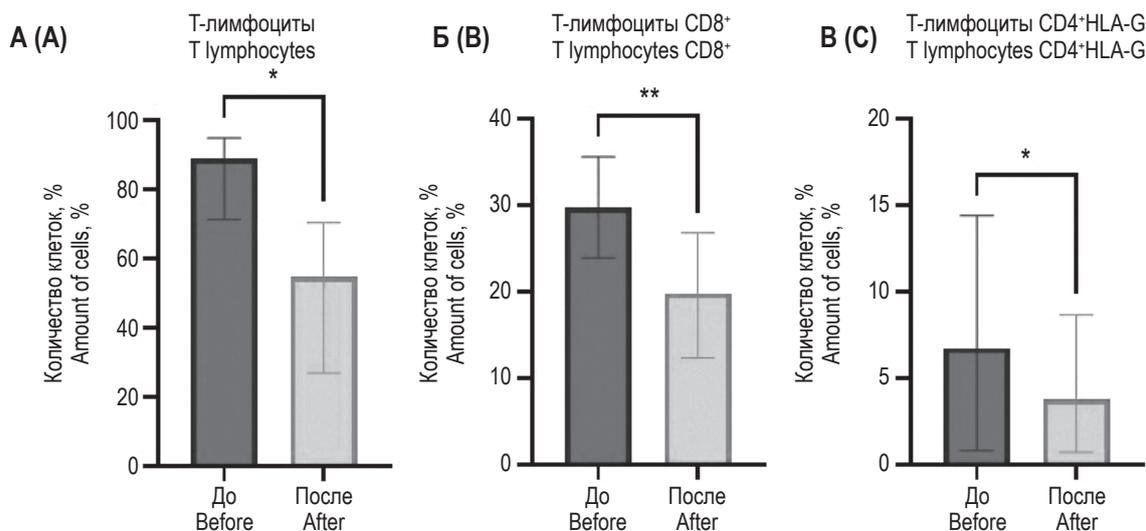


Рисунок 1. Относительное количество CD3⁺T-лимфоцитов (А), CD8⁺T-лимфоцитов (Б), CD4⁺HLA-G⁺T-лимфоцитов (В) за 7 дней до аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) и на 14-й день после ауто-ТГСК

Примечание. Критерий Уилкоксона, данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом – Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}). * – статистически значимые различия (p < 0,05).

Figure 1. Relative number of CD3⁺T lymphocytes (A), CD8⁺T lymphocytes (B), CD4⁺HLA-G⁺T lymphocytes (C) 7 days before autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT) and on day 14 after auto-HSCT

Note. Wilcoxon test, data are presented as median with interquartile range – Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}). *, statistically significant differences (p < 0.05).

иммуносупрессивный эффект высокодозной химиотерапии и кондиционирования мелфаланом. Особый интерес представляет деплеция CD4⁺HLA-G⁺ клеток (рис. 1В), которые формируют толерантную нишу для опухоли, являясь регуляторными клетками и в норме экспрессируя LILRB1/2 и TGF-β [14].

Снижение их числа может отражать не только эффект терапии, но и свидетельствовать о нарушении механизмов HLA-G-опосредованного подавления противоопухолевого иммунного ответа [4]. Увеличение доли NK-клеток при одновременном снижении NKT-популяции (рис. 2А, Б) свидетельствует о переключении иммунного ответа на врожденные механизмы цитотоксичности, характерные для фенотипа «иммунного истощения» при ММ.

При этом парадоксальное увеличение CD8⁺T-клеток (рис. 3А), несмотря на общую лимфопению, может отражать клональную экспансию антиген-специфичных популяций с фенотипом exhausted T cells, что требует дальнейшего подтверждения. Примечательно, что полученные нами данные о преобладании CD8⁺T-лимфоцитов у пациентов с ММ (рис. 3А) согласуются с современной концепцией хронической антиген-индуцированной T-клеточной дисфункции [15].

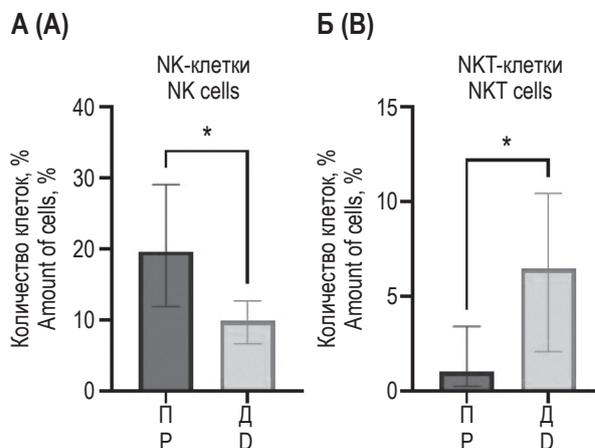


Рисунок 2. Относительное количество NK-клеток (А) и NKT-клеток (Б) у пациентов с множественной миеломой за 7 дней до ауто-ТГСК в сравнении с условно здоровыми донорами

Примечание. Критерий Манна-Уитни, данные представлены в виде Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}), где П – пациенты, Д – доноры. * – статистически значимые различия (p < 0,05).

Figure 2. Relative number of NK cells (A) and NKT cells (B) in patients with multiple myeloma 7 days before auto-HSCT compared to conditionally healthy donors

Note. Mann-Whitney test, data are presented as Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}), where P – patients, D – donors. *, statistically significant differences (p < 0.05).

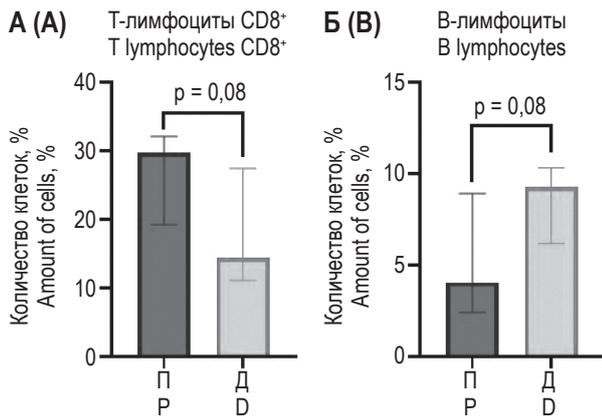


Рисунок 3. Относительное количество CD8⁺Т-лимфоцитов (А) и В-лимфоцитов (Б) у пациентов с множественной миеломой за 7 дней до ауто-ТГСК в сравнении с условно здоровыми донорами

Примечание. Критерий Манна–Уитни, данные представлены в виде $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$, где П – пациенты, Д – доноры. $p = 0,08$ – критерий значимости на уровне тенденции.

Figure 3. Relative number of CD8⁺T lymphocytes (A) and B lymphocytes (B) in patients with multiple myeloma 7 days before auto-HSCT in comparison with conditionally healthy donors

Note. Mann–Whitney test, data are presented as $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$, where P – patients, D – donors. $p = 0,08$, significance criterion at the trend level.

Также у пациентов наблюдается низкое количество В-лимфоцитов на уровне тенденции по сравнению с группой доноров (рис. 3Б).

Заключение

Дисрегуляция иммунного микроокружения при ММ обусловлена динамическим взаимодействием между опухолевыми клетками и компонентами иммунной системы, где молекулы HLA класса Ib (HLA-E, HLA-G) и класса II (HLA-DR) выступают ключевыми иммунорегуляторными элементами. Их дуалистическая роль – подавление эффекторных функций NK-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов с одной стороны, и потенцирование антиген-презентирующей способности дендритных клеток – с другой, подчеркивает сложность иммунного ответа при ММ. Детальная характеристика паттернов экспрессии этих молекул на различных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток не только в периферической крови, но и в костномозговой нише может раскрыть новые аспекты иммуносупрессии и резистентности к терапии. Интеграция данных мультипараметрического проточного цитометрического анализа и транскриптомного анализа позволит не только идентифицировать прогностические биомаркеры, но и разработать персонализированные стратегии, направленные на восстановление иммунного надзора – включая, например, блокаду иммунных чекпойнтов и таргетное редактирование HLA-сигнальных путей.

Список литературы / References

1. Баторов Е.В., Сергеевичева В.В., Аристова Т.А., Сизикова С.А., Ушакова Г.Ю., Гилевич А.В., Шевела Е.А., Останин А.А., Черных Е.Р. Экспрессия ингибиторных сигнальных молекул PD-1 И TIM-3 Т-лимфоцитами в раннем посттрансплантационном периоде у больных множественной миеломой // Гематология и трансфузиология, 2021. Т. 66, № 4. С. 499-511. [Batorov E.V., Sergeevicheva V.V., Aristova T.A., Sizikova S.A., Ushakova G.Y., Gilevich A.V., Shevela E.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Expression of PD-1 and TIM-3 inhibitory checkpoint molecules by T lymphocytes in early post-transplant period in multiple myeloma patients. *Gematologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology*, 2021, Vol. 66, no. 4, pp. 499-511. (In Russ.)]
2. Accolla R.S., Ramia E., Tedeschi A., Forlani G. CIITA-driven MHC class II expressing tumor cells as antigen presenting cell performers: toward the construction of an optimal anti-tumor vaccine. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1806. doi: 10.3389/fimmu.2019.01806.
3. Brown R., Kabani K., Favaloro J., Yang S., Ho P.J., Gibson J., Fromm P., Suen H., Woodland N., Nassif N., Hart D., Joshua D. CD86⁺ or HLA-G⁺ can be transferred via trogocytosis from myeloma cells to T cells and are associated with poor prognosis. *Blood*, 2012, Vol. 120, no. 10, pp. 2055-2063.
4. Brown Ross D., Kabani K., Yang S., Aklilu E., Joy P., Gibson J., Joshua D.E. HLA-G and CD86 Expression on malignant plasma cells convey a poor prognosis and immunoregulate T cells in patients with myeloma. *Blood*, 2010, Vol. 116, no. 21, 983. doi: 10.1182/blood.V116.21.983.983.
5. Cardona-Benavides I.J., de Ramón C., Gutiérrez N.C. Genetic abnormalities in multiple myeloma: prognostic and therapeutic implications. *Cells*. 2021, Vol. 10, no. 2, 336. doi: 10.3390/cells10020336.

6. de Kruijf E.M., Sajat A., van Nes J.G., Natanov R., Putter H., Smit V.T., Liefers G.J., van den Elsen P.J., van de Velde C.J., Kuppen P.J. HLA-E and HLA-G expression in classical HLA class I-negative tumors is of prognostic value for clinical outcome of early breast cancer patients. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 185, no. 12, pp. 7452-7459.
7. Garziera M., Scarabel L., Toffoli G. Hypoxic modulation of HLA-G expression through the metabolic sensor HIF-1 in human cancer cells. *J. Immunol. Res.*, 2017, Vol. 2017, 4587520. doi: 10.1155/2017/4587520.
8. Heng Y., Zhu X., Wu Q., Lin H., Ding X., Tao L., Lu L. High expression of tumor HLA-DR predicts better prognosis and response to anti-PD-1 therapy in laryngeal squamous cell carcinoma. *Transl. Oncol.*, 2023, Vol. 33, 101678. doi: 10.1016/j.tranon.2023.101678.
9. Kaiser B.K., Pizarro J.C., Kerns J., Strong R.K. Structural basis for NKG2A/CD94 recognition of HLA-E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, Vol. 105, no. 18, pp. 6696-6701.
10. Le Maoult J., Rouas-Freiss N., Le Discorde M., Moreau P., Carosella E.D. HLA-G in organ transplantation. *Pathol. Biol. (Paris)*, 2004, Vol. 52, no. 2, pp. 97-103. (In French)
11. Lv J., Sun H., Gong L., Wei X., He Y., Yu Z., Liu L., Yi S., Sui W., Xu Y., Deng S., An G., Yao Z., Qiu L., Hao M. Aberrant metabolic processes promote the immunosuppressive microenvironment in multiple myeloma. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 1077768. doi: 10.3389/fimmu.2022.1077768.
12. Mendonça de Pontes R., Flores-Montero J., Sanoja-Flores L., Puig N., Pessoa de Magalhães R.J., Corral-Mateos A., Salgado A.B., García-Sánchez O., Pérez-Morán J., Mateos M.V., Burgos L., Paiva B., Te Marvelde J., van der Velden V.H.J., Aguilar C., Báñez A., García-Mateo A., Labrador J., Leoz P., Aguilera-Sanz C., Durie B., van Dongen J.J.M., Maiolino A., Sobral da Costa E., Orfao A. B-cell regeneration profile and minimal residual disease status in bone marrow of treated multiple myeloma patients. *Cancers*, 2021, Vol. 13, no. 7, 1704. doi: 10.3390/cancers13071704.
13. Ozga M., Zhao Q., Huric L., Miller C., Rosko A., Khan A., Umyarova E., Benson D., Cottini F. Concomitant 1q⁺ and t(4;14) influences disease characteristics, immune system, and prognosis in double-hit multiple myeloma. *Blood Cancer J.*, 2023, Vol. 13, no. 1, 167. doi: 10.1038/s41408-023-00943-2.
14. Pankratz S., Bittner S., Herrmann A.M., Schuhmann M.K., Ruck T., Meuth S.G., Wiendl H. Human CD4⁺ HLA-G⁺ regulatory T cells are potent suppressors of graft-versus-host disease in vivo. *FASEB J.*, 2014, Vol. 28, no. 8, pp. 435-445.
15. Żyłka K., Kubicki T., Gil L., Dytfeld D. T-cell exhaustion in multiple myeloma. *Expert Rev. Hematol.*, 2024, Vol. 17, no. 7, pp. 295-312.

Авторы:

Скачков И.П. — студент ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; лаборант-исследователь лаборатории регуляции иммунного ответа ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Актанова А.А. — младший научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; ассистент кафедры клинической иммунологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Authors:

Skachkov I.P., Student, Novosibirsk State Medical University; Junior Researcher, Laboratory of Regulation of the Immune Response, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Aktanova A.A., Junior Researcher, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; Assistant Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Денисова В.В. — к.м.н., врач-гематолог, заведующая отделением гематологии с блоком трансплантологии костного мозга Клиники иммунопатологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Пашкина Е.А. — к.б.н., старший научный сотрудник, заведующая лабораторией регуляции иммунного ответа ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»; доцент ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Denisova V.V., PhD (Medicine), Head, Hematology Department with the Bone Marrow Transplantation, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Pashkina E.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Head, Laboratory of Immune Response Regulation, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; Associate Professor, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 30.04.2025
Отправлена на доработку 06.05.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 30.04.2025
Revision received 06.05.2025
Accepted 22.06.2025

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОГЛИЯ-ПОДОБНЫХ КЛЕТОК ИЗ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АУТИЗМОМ

Филиппова Ю.Ю., Русакова К.А., Бурмистрова А.Л.

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

Резюме. Нарушения в согласованной работе нервной и иммунной систем в настоящее время признаются основными факторами инициации и прогрессии расстройств аутистического спектра (РАС). Ключевыми игроками в формировании нейровоспаления и нарушении синаптической пластичности выступают резидентные иммунные клетки мозга – микроглия. Исследования нейробиологических и нейроиммунологических механизмов, лежащих в основе РАС, ограничены отсутствием соответствующих экспериментальных моделей. В настоящее время одной из наиболее релевантных моделей для изучения функций микроглии человека и поиска персонифицированных терапевтических подходов к лечению нейropsychических заболеваний могут стать микроглия-подобные клетки, полученные из моноцитов периферической крови (MDMi). Цель работы – оптимизация протокола получения микроглия-подобных клеток из моноцитов периферической крови детей с аутизмом в количестве, достаточном для проведения функциональных тестов. Объектами исследования были мононуклеарные клетки периферической крови, полученные от 18 детей (12 мальчиков и 6 девочек; в возрасте 6–12 лет, средний возраст – 8,2 года) с диагнозом «ранний детский аутизм». Мононуклеары выделяли из периферической крови с помощью градиента плотности «Фиколл». Методом пластинчатой адгезии при 24-часовом культивировании из мононуклеаров получали фракцию моноцитов. Моноциты культивировали 10 или 14 суток в бессывороточной среде RPMI-1640 с добавлением антибиотиков и разных коктейлей цитокинов для их дальнейшей дифференцировки в MDMi. Количество жизнеспособных клеток оценивали с помощью суправитального красителя DAPI, а их фенотип определяли по наличию специфических маркеров микроглии – P2RY12 и TMEM119, методом проточной цитометрии. Для статистических расчетов использовали программное обеспечение PAST v. 4.03. В результате работы нами показано, что для индукции микроглия-подобных клеток из моноцитов периферической крови детей с аутизмом необходимо 10-дневное культивирование не менее 3×10^5 клеток/в лунке, в среде RPMI-1640 со стабильным глутамином, антибиотиками и коктейлем из трех цитокинов: GM-CSF (10 нг/мл), IL-34 (100 нг/мл), IL-3 (10 нг/мл). Такие параметры культивирования позволяют по-

Адрес для переписки:

Филиппова Юлия Юрьевна
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный
университет»
454001, Россия, г. Челябинск,
ул. Братьев Кашириных, 129.
Тел.: 8 (912) 404-52-72.
E-mail: julse@rambler.ru

Address for correspondence:

Yuliya Yu. Filippova
Chelyabinsk State University
129 Bratiev Kashirinykh St
Chelyabinsk
454001 Russian Federation
Phone: +7 (912) 404-52-72.
E-mail: julse@rambler.ru

Образец цитирования:

Ю.Ю. Филиппова, К.А. Русакова, А.Л. Бурмистрова
«Методологические аспекты получения микроглия-
подобных клеток из моноцитов периферической крови
у детей с аутизмом» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 947-952.
doi: 10.46235/1028-7221-17257-MAO

© Филиппова Ю.Ю. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Yu. Yu. Filippova, K. A. Rusakova, A. L. Burmistrova
“Methodological aspects of ex vivo-generated monocyte-
derived microglia-like cells in children with autism”, Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 947-952.
doi: 10.46235/1028-7221-17257-MAO

© Filippova Yu. Yu. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17257-MAO

лучить около 6×10^4 клеток, не менее 90% из которых экспрессируют на своей поверхности маркер микроглии – P2RY12⁺ и могут быть использованы в качестве модели для изучения механизмов патогенеза аутизма, а также поиска персонализированных подходов к его лечению.

Ключевые слова: микроглия-подобные клетки, модели *in vitro*, IL-3, расстройства аутистического спектра, дети, проточная цитометрия

METHODOLOGICAL ASPECTS OF *EX VIVO*-GENERATED MONOCYTE-DERIVED MICROGLIA-LIKE CELLS IN CHILDREN WITH AUTISM

Filippova Yu.Yu., Rusakova K.A., Burmistrova A.L.

Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. Current research findings suggest that dysregulation between the nervous and immune systems is a primary factor contributing to both initiation and progression of autism spectrum disorders (ASD). Microglia consists of resident brain immune cells playing a pivotal role in neuroinflammation and synaptic plasticity impairment. However, understanding these mechanisms has been limited by the lack of relevant experimental models. One promising approach involves microglia-like cells derived from peripheral blood monocytes (MDMi), which can serve as an effective model for studying human microglial function and developing personalized therapeutic strategies for neuropsychiatric diseases. The aim of our study was to optimize a protocol for generating sufficient quantities of microglia-like cells from peripheral blood monocytes of children with autism suitable for functional testing. Peripheral blood samples were collected from 18 children diagnosed with autism (mean age: 8.2 years; range: 6-12 years; 12 boys, 6 girls). Mononuclear cells were isolated using Ficoll density gradient centrifugation. After a 24-hour incubation period, adherent fractions enriched in monocytes were obtained *via* plate adherence. The monocytes were then cultured for either 10 or 14 days in serum-free RPMI-1640 medium supplemented with antibiotics and various cytokine cocktails to induce differentiation into MDMi. Viability was assessed using supravital staining with DAPI, while phenotyping was performed by flow cytometry targeting specific microglial markers such as P2RY12 and TMEM119. Statistical analyses were performed using PAST software version 4.03. Our findings demonstrate that successful induction of microglia-like cells requires, at least, a ten-day culture period with $> 3 \times 10^5$ cells *per well* in RPMI-1640 medium containing stable glutamine, antibiotics, and a cocktail of three cytokines: GM-CSF, 10 ng/mL; IL-34, 100 ng/mL; IL-3, 10 ng/mL. Under these conditions, approximately 6×10^4 viable cells are generated, with over 90% expressing the microglial marker P2RY12. This cell population provides a valuable tool for studying ASD pathogenesis and identifying personalized treatment approaches.

Keywords: microglia-like cells, *in vitro* models, IL-3, autism spectrum disorders, children, flow cytometry

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 24-25-20072.

Введение

Нарушения в работе нервной и иммунной систем и их двунаправленных взаимодействий в настоящее время признаются основными факторами инициации и прогрессии расстройств

аутистического спектра (РАС) [1]. Показано, что резидентные иммунные клетки мозга – микроглия, выступают ключевыми игроками в формировании нейровоспаления и нарушении синаптической пластичности, наблюдаемыми в центральной нервной системе лиц с РАС [1]. Исследования нейробиологических и нейроиммунологических механизмов, лежащих в основе РАС, ограничены отсутствием соответствующих экспериментальных моделей [4]. В настоящее

время одной из наиболее релевантных моделей для изучения функций микроглии человека и поиска персонифицированных терапевтических подходов к лечению нейropsychических заболеваний могут стать микроглия-подобные клетки, полученные из моноцитов периферической крови (monocyte-derived microglia-like cells, MDMi) [8]. В последние десять лет разработаны подробные и надежные протоколы получения MDMi [5, 6, 7], которые тем не менее не имеют общепризнанной стандартизации [8] и могут быть трудны в реализации при некоторых патологических состояниях. Так, у детей с РАС венопункция обычно затруднена из-за повышенной тревожности, страха и/или поведенческих особенностей [2], что не позволяет произвести забор большого объема крови и получить достаточное количество MDMi. Кроме того, для моноцитов детей с РАС характерны динамические изменения функциональной активности, что может оказывать влияние на их способность к дифференцировке в MDMi в условиях *in vitro*.

Цель работы – оптимизация протокола получения микроглия-подобных клеток из моноцитов периферической крови детей с аутизмом, в количестве, достаточном для проведения функциональных тестов.

Материалы и методы

Микроглия-подобные клетки (MDMi) получали из моноцитов периферической крови согласно протоколу Н. Quek и соавт. [7] с некоторыми модификациями.

Кровь из вены была собрана натощак в утренние часы у 18 детей с диагнозом по МКБ-10: F84.0 «Ранний детский аутизм» (12 мальчиков и 6 девочек; в возрасте 6-12 лет, средний возраст – 8,2 года). Всеми родителями или официальными представителями детей было подписано информированное согласие на участие в программе. В рамках обследования детям с аутизмом был проведен подсчет показателей лейкоцитарной формулы крови.

Мононуклеарные клетки периферической крови (МПК) были выделены центрифугированием (1,5 тыс. об/мин, 40 мин) на градиенте плотности «Фиколл» (1,077 г/см³, ООО «БиолоТ», Россия). Полученную фракцию МПК разводили в среде RPMI-1640 со стабильным глутамином (ООО «БиолоТ», Россия) с добавлением пенициллина-стрептомицина (100 ЕД/мл и 100 мкг/мл соответственно; ООО «БиолоТ», Россия) и 10% фетальной бычьей сыворотки (Biowest,

Франция), до концентрации $1 \times 10^6 - 2 \times 10^6$ клеток/мл; высевали в 6-луночные планшеты с адгезивной поверхностью (Jet Biofil, Китай) и культивировали 24 часа при 37 °С, 5% CO₂ для получения моноцитов.

После 24-часовой инкубации не адгезированные клетки удаляли, адгезированные клетки, соответствующие моноцитам, открепляли от поверхности лунок с помощью раствора Трипсин-Версена (ООО «БиолоТ», Россия). Количество моноцитов и их жизнеспособность определяли методом проточной цитометрии с помощью меченых флуорохромами антител – anti CD14-PerCP/Cyanine5.5 и суправитального красителя DAPI (Elabscience, Китай).

Для получения MDMi моноциты в концентрациях от 1×10^5 до 6×10^5 клеток/мл высевали в лунки 6-луночного планшета и культивировали в течение 10 или 14 дней при 37 °С, 5% CO₂ со сменой среды 1 раз в 2-3 дня. Для дифференцировки МПК в MDMi к среде RPMI-1640 со стабильным глутамином (ООО «БиолоТ», Россия) добавляли раствор пенициллина-стрептомицина (100 ЕД/мл и 100 мкг/мл соответственно; ООО «БиолоТ», Россия) и коктейль цитокинов (все – производства Cloud-Clone Corp., Китай) в следующих комбинациях: 1) GM-CSF (10 нг/мл) и IL-34 (100 нг/мл); 2) GM-CSF (10 нг/мл), IL-34 (100 нг/мл) и TGF-β (10 нг/мл); 3) GM-CSF (10 нг/мл), IL-34 (100 нг/мл) и IL-3 (10 нг/мл); 4) GM-CSF (10 нг/мл), IL-34 (100 нг/мл), TGF-β (10 нг/мл) и IL-3 (10 нг/мл).

После 10 или 14 дней культивирования MDMi открепляли от поверхности лунок с помощью раствора Трипсин-Версена (ООО «БиолоТ», Россия). Для определения количества жизнеспособных клеток и фенотипа MDMi, клетки инкубировали с суправитальным красителем DAPI (Elabscience, Китай) и антителами, мечеными флуорохромами: anti P2RY12-PE (BioLegend, США) и anti TMEM119-Alexa Fluor 647 (BioLegend, США), согласно инструкциям производителей.

Исследования по иммунофенотипированию моноцитов периферической крови и MDMi выполнено на проточном цитометре Longcyte C3111 (Challenbio, Китай) в ЦКП «Клеточные и молекулярные технологии в радиобиологии» ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства» (г. Челябинск).

На этапе статистической обработки принадлежность выборки нормальной генеральной совокупности проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Данные имели нормальное рас-

пределение и были представлены в виде средних значений и 95% доверительного интервала (ДИ). Оценку значимости различий между группами проводили методом однофакторного дисперсионного анализа с апостериорными попарными сравнениями по Тьюки. Для расчетов использовали программное обеспечение PAST v. 4.03.

Результаты и обсуждение

В нашем исследовании, для получения MDMi, у детей с аутизмом в возрасте от 6 до 12 лет было собрано от 3 до 7 мл венозной крови в пробирки с К₃ЭДТА. Медианные значения всех показателей лейкоцитарной формулы крови в группе обследованных нами детей с аутизмом находились в пределах возрастной нормы. У трех детей (16,7%) относительное количество целевой популяции клеток – моноцитов, выходило за верхние границы референсного диапазона, равного 2-10% от всех лейкоцитов.

Количество МПК, полученных нами при фракционировании клеток на градиенте плотности, было сопоставимо с данными Н. Quek и соавт. [7] и составляло от 1×10^6 до 4×10^6 клеток/мл. Тем не менее, как и в исследовании А. Claves-Lopez и соавт. [5], мы увеличили плотность высева МПК, для получения моноцитов методом пластинчатой адгезии, со стандартизированного значения в 4×10^5 клеток до $1 \times 10^6 - 2 \times 10^6$ клеток на лунку. Такая модификация метода позволила нам получать от 1×10^5 до 6×10^5 моноцитов (99% живых клеток), среди которых более 77% экспрессировали на поверхности маркер CD14⁺ (среднее значение: 81,7%; 95% ДИ: 77,8-85,7%).

Критическими параметрами для получения MDMi из моноцитов периферической крови у детей с аутизмом в количестве, достаточном для проведения функциональных тестов, в том числе, определения маркеров микроглии с помощью метода проточной цитометрии, стали: начальное число моноцитов в лунке (0-й день), длительность инкубации и количество клеток в лунке на финальный день культивирования. Так, к 14-му дню инкубации, количество клеток в лунке варьировало в среднем от 6,6% до 12,2%, от исходной концентрации клеток, что согласуется с данными М. Ohgidani и соавт. [6]. Тем не менее абсолютные значения были ниже 1×10^4 клеток в лунке, что не позволяло провести определение их фенотипа. На основании протоколов некоторых исследований [8] нами было принято решение сократить время культивирования клеток до 10 дней. Также нами было установлено, что при начальной концентрации моноцитов от 1×10^5 до 3×10^5 клеток/в лунке (0-й день), на 10-й день инкубации количество живых клеток варьировало в диапазоне $1 \times 10^4 - 4 \times 10^4$ (9,0-13,7% от начальной численности). Если на 0-й день инкубации моноцитов было больше 3×10^5 клеток/в лунке, то процент живых клеток на 10-й день статистически значимо увеличивался в 2-2,5 раза, до 21,2-28,3%.

Наконец, в существующих протоколах получения MDMi из МПК, используются разные комбинации цитокинов для поддержания жизнеспособности и дифференцировки клеток [5, 6, 7, 8]. Наиболее часто применяют два фактора: GM-CSF (10 нг/мл) и IL-34 (100 нг/мл). Нами показано, что при таком коктейле цитокинов,

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОМБИНАЦИЙ ЦИТОКИНОВ НА ЭКСПРЕССИЮ P2RY12⁺ И TMEM119⁺ МИКРОГЛИЯ-ПОДОБНЫМИ КЛЕТКАМИ НА 10-Й ДЕНЬ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ, М (95% ДИ)

TABLE 1. EFFECT OF VARIOUS CYTOKINE COMBINATIONS ON THE P2RY⁺ AND TMEM119⁺ EXPRESSION BY MICROGLIA-LIKE CELLS AT DAY 10 OF CULTIVATION, M (95% CI)

Комбинация цитокинов Cytokine combinations	P2RY12 ⁺ , %	TMEM119 ⁺ , %	P2RY12 ⁺ /TMEM119 ⁺ , %
GM-CSF/IL-34	74,4 (72,0-76,8)	59,5 (56,6-62,3)	57,3 (43,9-60,4)
GM-CSF/IL-34/IL-3	96,1* (90,0-99,2)	72,1 (47,2-97,0)	67,0 (54,0-79,9)

Примечание. * – значимые различия между показателями при стимуляции клеток двумя и тремя цитокинами (p ≤ 0,05).

Note. *, significant differences between the indices when cells were stimulated with two and three cytokines (p ≤ 0.05).

уже на 10-й день культивирования, 74,4% клеток несут специфичный для микроглии маркер P2RY12⁺, 59,5% – TMEM119⁺ и 57,3% клеток – оба маркера (табл. 1).

Далее нами была предпринята попытка повысить численность клеток и процент клеток, экспрессирующих специфические маркеры микроглии, на конец срока культивирования. Для этого в качестве третьего фактора к GM-CSF и IL-34 был добавлен: TGF-β (10 нг/мл), или IL-3 (10 нг/мл), а также создана комбинация на основе всех 4 цитокинов. По данным T.J. Sargeant и соавт., TGF-β требуется для развития зрелой микроглии *in vitro* и помогает поддерживать походящийся фенотип микроглии, полученной из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, но редко используется при получении MDMi из моноцитов периферической крови [8]. Добавление нами TGF-β (10 нг/мл) в среду культивирования, не зависимо от комбинации цитокинов (3/4 фактора), приводило к смерти всех клеток путем апоптоза на 5-7-е сутки культивирования (в лунке вместо клеток появлялись образования, по морфологии похожие на апоптические тельца). Данный эффект требует дополнительного изучения.

IL-3 (10 нг/мл) был добавлен нами в попытке повысить численность выживших клеток на конец срока культивирования. Согласно данным литературы, IL-3 способствует пролиферации микроглии как в условиях *in vivo*, особенно при нарушениях работы мозга, так и в условиях *in vitro* [3]. В результате нами не обнаружено значимых различий в количестве выживших клеток на

10-й день культивирования при сравнении среды с добавлением IL-3 или без него. Процент выживших клеток при использовании коктейля из двух цитокинов (GM-CSF и IL-34) составил 24,7% от начальной концентрации моноцитов в лунке, из трех цитокинов (GM-CSF, IL-34 и IL-3) – 25,0%. Тем не менее при введении в среду культивирования IL-3, 72,1% MDMi экспрессировали на своей поверхности маркер микроглии – TMEM119⁺, а 96,1% – P2RY12⁺. Для P2RY12⁺ различия были статистически значимыми по сравнению с аналогичными показателями при использовании коктейля из двух цитокинов: GM-CSF и IL-34 (табл. 1).

Заключение

Таким образом, по итогам проведенного пилотного исследования, мы установили, что для индукции микроглия-подобных клеток из моноцитов периферической крови детей с аутизмом необходимо 10-дневное культивирование не менее 3×10^5 клеток/в лунке, в среде RPMI-1640 со стабильным глутамином, антибиотиками и коктейлем из трех цитокинов: GM-CSF (10 нг/мл), IL-34 (100 нг/мл), IL-3 (10 нг/мл). Такие параметры культивирования позволяют получить около 6×10^4 клеток, не менее 90% из которых экспрессируют на своей поверхности маркер микроглии – P2RY12⁺ и могут быть использованы в качестве модели для изучения механизмов патогенеза аутизма, а также поиска персонализированных подходов к его лечению.

Список литературы / References

1. Andoh M., Ikegaya Y., Koyama R. Microglia as possible therapeutic targets for autism spectrum disorders. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2019, Vol. 167, pp. 223-245.
2. Davit C.J., Hundley R.J., Bacic J.D., Hanson E.M. A pilot study to improve venipuncture compliance in children and adolescents with autism spectrum disorders. *J. Dev. Behav. Pediatr.*, 2011, Vol. 32, no 7, pp. 521-525.
3. Gebicke-Haerter P.J., Appel K., Taylor G.D., Schobert A., Rich I.N., Northoff H., Berger M. Rat microglial interleukin-3. *J. Neuroimmunol.*, 1994, Vol. 50, no. 2, pp. 203-214.
4. Heider J., Vogel S., Volkmer H., Breitmeyer R. Human iPSC-derived glia as a tool for neuropsychiatric research and drug development. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 19, 10254. doi: 10.3390/ijms221910254.
5. Llaves-López A., Micoli E., Belmonte-Mateos C., Aguilar G., Alba C., Marsal A., Pulido-Salgado M., Rabaneda-Lombarte N., Solà C., Serratos J., Vidal-Taboada J.M., Saura J. Human microglia-like cells differentiated from monocytes with GM-CSF and IL-34 show phagocytosis of α-synuclein aggregates and C/EBPβ-dependent proinflammatory activation. *Mol. Neurobiol.*, 2025, Vol. 62, no 1, pp. 756-772.
6. Ohgidani M., Kato T.A., Setoyama D., Sagata N., Hashimoto R., Shigenobu K., Yoshida T., Hayakawa K., Shimokawa N., Miura D., Utsumi H., Kanba S. Direct induction of ramified microglia-like cells from human monocytes: dynamic microglial dysfunction in Nasu-Hakola disease. *Sci. Rep.*, 2014, Vol. 4, 4957. doi: 10.1038/srep04957.

7. Quek H., Cuní-López C., Stewart R., Lim Y.C., Roberts T.L., White A.R. A robust approach to differentiate human monocyte-derived microglia from peripheral blood mononuclear cells. *STAR Protoc.*, 2022, Vol. 3, no 4, 101747. doi: 10.1016/j.xpro.2022.101747.

8. Sargeant T.J., Fourrier C. Human monocyte-derived microglia-like cell models: A review of the benefits, limitations and recommendations. *Brain Behav. Immun.*, 2023, Vol. 107, pp. 98-109.

Авторы:

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

Русакова К.А. – аспирант кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

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

Authors:

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

Rusakova K.A., Postgraduate Student, Department of Microbiology, Immunology and General biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation

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

Поступила 30.04.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 30.04.2025
Accepted 22.06.2025

ОЦЕНКА ОСНОВНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ У ДЕТЕЙ

Закиров Р.Ш.^{1,2}, Петричук С.В.¹, Карасева О.В.^{1,2}

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Резюме. Тяжелая травма является одной из ведущих причин инвалидизации и смертности среди детей старше года. Это исследование направлено на оценку динамики основных популяций лимфоцитов периферической крови как показателей тяжести травмы, развития осложнений и прогноза исхода травматической болезни у детей. В исследование включено 118 пациентов с тяжелой механической травмой (ТТ, ISS ≥ 16), из которых 60 детей имели благоприятный исход, 51 – неблагоприятный, а 7 – летальный исход по шкале исходов Глазго и шкале исходов тяжелой травмы. По характеру течения посттравматического периода больных также разделили на группы в зависимости от развития гнойно-септических осложнений (ГСО, $n = 23$) и синдрома полиорганной недостаточности (СПОН, $n = 19$). С использованием лазерной проточной цитофлюориметрии был проведен анализ субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови в динамике травматической болезни на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 10-е и 14-е сутки с момента получения травмы с нормированием полученных показателей относительно возрастной нормы. Группу сравнения составили 34 ребенка с травмой легкой и средней степени тяжести (ЛТ, ISS < 16). Контрольную группу в исследовании составили 60 условно здоровых детей, сопоставимых по возрасту и полу. Результаты показали, что у пациентов с тяжелой травмой (ISS ≥ 16) наблюдается значительное снижение количества CD3⁺, CD19⁺ и NK-лимфоцитов уже в первые сутки после травмы, с частичным восстановлением к 5-7-м суткам. В группе с легкой травмой (ISS < 16) изменения в составе лимфоцитов были менее выражены. Выраженное снижение количества лимфоцитов у детей с тяжелой травмой, особенно CD3⁺ и NK-лимфоцитов, коррелирует с тяжестью состояния, развитием СПОН, ГСО и неблагоприятным прогнозом. Полученные данные указывают на важность динамического мониторинга уровней основных субпопуляций лимфоцитов

Адрес для переписки:

Закиров Рустам Шакирович
ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский
центр здоровья детей» Министерства
здравоохранения РФ
119296, Россия, Москва, Ломоносовский пр., 2/1.
Тел.: 8 (926) 692-70-97.
E-mail: zakirov.rsh@nczd.ru

Address for correspondence:

Rustam Sh. Zakirov
National Medical Research Center for Children's Health
2/1 Lomonosov Ave
Moscow
119296 Russian Federation
Phone: +7 (926) 692-70-97.
E-mail: zakirov.rsh@nczd.ru

Образец цитирования:

Р.Ш. Закиров, С.В. Петричук, О.В. Карасева
«Оценка основных субпопуляций лимфоцитов
в посттравматическом периоде у детей» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 953-964.
doi: 10.46235/1028-7221-17242-BLS

© Закиров Р.Ш. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

R.Sh. Zakirov, S.V. Petrichuk, O.V. Karaseva "Basic
lymphocyte subsets during the post-traumatic period in
children", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 953-964.
doi: 10.46235/1028-7221-17242-BLS

© Zakirov R.Sh. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17242-BLS

периферической крови наряду с другими клеточными маркерами для прогноза развития осложнений и также исхода травматической болезни.

Ключевые слова: дети, тяжелая травма, политравма, субпопуляции, синдром полиорганной недостаточности, прогноз исхода, инфекционные осложнения

BASIC LYMPHOCYTE SUBSETS DURING THE POST-TRAUMATIC PERIOD IN CHILDREN

Zakirov R.Sh.^{a, b}, Petrichuk S.V.^a, Karaseva O.V.^{a, b}

^a National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

^b Institute of Urgent Children Surgery and Traumatology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Severe trauma remains a leading cause of disability and mortality among children over 1 year. This study aimed to assess the dynamics of peripheral blood lymphocyte subpopulations in pediatric trauma, depending on severity, complication risks, and general prognosis in pediatric trauma. A total of 118 children with severe mechanical trauma (ISS \geq 16) were included. According to the Severe Injury Outcomes Scale (OISS), 60 patients had a favorable outcome; 51, with unfavorable outcome, and fatal outcome was documented in 7 cases. On the basis of clinical course, the subgroups with septic complications (PSC, $n = 23$) and multiple organ dysfunction syndrome (MODS, $n = 19$) were discerned. Flow cytometric analysis of lymphocyte subpopulations (CD3⁺, CD19⁺, NK cells) was conducted on days 1, 3, 5, 7, 10, and 14 post-trauma, with return to age-specific reference values. A comparison group included 34 children with mild or moderate trauma (ISS < 16), and a control group consisted of 60 age- and sex-matched healthy children. The laboratory findings revealed a significant and sustained reduction in CD3⁺, CD19⁺, and NK lymphocyte counts in children with severe trauma as early as day 1, with partial recovery by days 5-7. In children with mild trauma, these changes were less pronounced. Persistent lymphopenia, especially, in CD3⁺ and NK cells was significantly associated with MODS, PSC, and poor outcomes. These results confirm the prognostic relevance of dynamic monitoring of lymphocyte subpopulations as sensitive markers of immune dysfunction in the context of severe trauma and its complications. Inclusion of cellular immune parameters into risk stratification protocols may enhance the early identification of children at high risk for adverse outcomes and suggest targeted therapeutic interventions.

Keywords: children, severe injury, polytrauma, lymphocytes subsets, multiple organ failure, outcome prediction, infectious complications

Введение

Тяжелая травма является ведущей причиной инвалидизации и смертности у детей старше года, при этом наиболее частыми механизмами ее возникновения остаются падения и дорожно-транспортные происшествия [1]. Высокая летальность обусловлена развитием синдрома полиорганной недостаточности (СПОН), которая встречается у 11,3-23,1% пострадавших детей. Летальность при СПОН составляет 20,1-53% по сравнению с 0,5% у пациентов без него [8]. СПОН у детей развивается стремительно: в 75-86% случаев он манифестирует в первые 24 часа после

поступления в отделение анестезиологии и реанимации (ОАР), что связано с возрастными особенностями воспалительного ответа [15]. В 95% случаев СПОН сопровождается выраженной системной воспалительной реакцией, приводящей к дисбалансу между гиперовоспалением и иммуносупрессией, что повышает риск инфекционных осложнений (сепсис, септический шок) и увеличивает вероятность летального исхода [9]. Ранняя диагностика СПОН и гнойно-септических осложнений (ГСО) имеет решающее значение для улучшения прогноза. В педиатрической практике применяются шкалы оценки органной дисфункции (pSOFA, PELOD, MODS) [13], а

также активно изучаются биомаркеры тяжести состояния и исхода, включая IL-6, прокальцитонин (PCT), С-реактивный белок (СРБ), S100, нейрон-специфическую енолазу (NSE) и адреномедуллин (ADM) [3, 5, 6]. Однако, согласно последним исследованиям, традиционные биомаркеры воспаления обладают ограниченной прогностической точностью и не всегда позволяют своевременно идентифицировать пациентов с высоким риском развития СПОН и ГСО. В связи с этим возрастает интерес к клеточным маркерам иммунного ответа, в частности к популяциям лимфоцитов периферической крови. Иммунная дисфункция играет ключевую роль в патогенезе посттравматических осложнений, а изменения в составе субпопуляций лимфоцитов могут отражать тяжесть воспалительной реакции и риск инфекционных осложнений. Согласно последним данным, динамика соотношения различных лимфоцитарных субпопуляций, таких как CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоциты, регуляторные Т-клетки, натуральные киллеры (NK-клетки) и В-лимфоциты, может служить информативным показателем прогнозирования исходов критических состояний [4, 10, 14].

Целью данного исследования является оценка основных популяций лимфоцитов периферической крови как критериев тяжести состояния, развития осложнений и прогноза исхода травматической болезни у детей.

Материалы и методы

В ходе ретроспективного исследования обследовано 367 образцов крови, полученных от 118 пациентов (78 мальчика (66,1%), 40 девочек (33,9%)) в критическом периоде тяжелой механической травмы, проходивших лечение в отделении анестезиологии-реанимации (ОАР) НИИ НДХиТ ДЗ г. Москвы. Лабораторное обследование выполняли на базе лабораторного отдела ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава РФ в динамике травматической болезни от 1 до 7 раз в зависимости от длительности пребывания ребенка в отделении ОАР НИИ НДХиТ ДЗ г. Москвы. Возраст детей составлял Me (Q25-Q75) – 11,9 (6,0-15,6) года. В качестве декретированных сроков лабораторного обследования были выбраны 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 10-е, 14-е сутки с момента поступления в отделение ОАР. Критериями включения в исследование были: пациенты с ТМТ (ISS ≥ 16 баллов), поступившие в течение 48 часов после травмы. Из исследования исключались

пациенты, имеющие сопутствующие острые воспалительные и хронические заболевания.

Для объективной оценки тяжести повреждения использовали шкалу тяжести повреждения (Injury severity score, ISS), шкалу комы Глазго (ШКГ). Для оценки исхода ТМТ использовали шкалу исходов комы Глазго (ШИГ) и шкалу исходов тяжелой травмы – Severe Injury Outcomes Scale (ШИТТ-OISS) [7]. Оценку по ШИТТ и ШИГ проводили при выписки пациента.

На основании ШИТТ больных разделили на 2 группы: ТМТ с благоприятным исходом – ШИТТ 1-2 (ТМТбл., n = 60) и ТМТ с неблагоприятным исходом – ШИТТ 3-4 (ТМТнебл., n = 51). Отдельно была описана группа ТМТ с летальным исходом (ШИТТ 5, n = 7) (табл. 1). У всех пациентов оценивали клинично-лабораторные показатели, свидетельствующие о развитии синдрома системного воспалительного ответа и органной недостаточности [12]. По характеру течения посттравматического периода больных разделили на группы в зависимости от развития ГСО (n = 23) и СПОН (n = 19) (табл. 1).

Оценка количественных показателей субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови выполнялась с использованием метода лазерной проточной цитофлуориметрии в реакции прямой иммунофлуоресценции на проточном цитометре CYTOMICS FC 500 (Beckman Coulter, США). Для определения субпопуляций лимфоцитов использовали следующие поверхностные маркеры: CD45, IgG1, IgG2a, CD3, CD16, CD56, CD19 производства Beckman Coulter (США) и BD Biosciences (США). Анализ количественных показателей популяционного состава лимфоцитов крови у детей представляет особую сложность из-за существования возрастных особенностей. Для унификации показателей предварительно нами было проведено преобразование по формуле, с учетом нормативных значений для разных возрастных групп параметров основных популяций лимфоцитов периферической крови [2]:

$$X_n = (X_{\min} - X) / 0,01 \times (X_{\max} - X_{\min}),$$

где X – значение изучаемого показателя; X_n – значение показателя, нормированное на возрастную норму; X_{max} – верхняя граница возрастной нормы; X_{min} – нижняя граница возрастной нормы.

После преобразования был получен массив данных по всем основным показателям популяционного состава лимфоцитов периферической крови у детей, в котором значения изучаемых по-

ТАБЛИЦА 1. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ
TABLE 1. CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS

Фактор Factor	Категория Category	ЛТ (ISS < 16) Mild injury (ISS < 16)	ТТ (ISS ≥ 16) / Severe Injury (ISS ≥ 16)			Летал. исход L
			Всего Total	Благ. исход F	Неблаг. исход UF	
n	-	34	118	60	51	7
Возраст, лет Age, years	-	11,71 (8,11-15,00)	11,91 (6,02-15,58)	10,91 (6,22-15,96)	13,70 (5,42-15,47)	10,82 (6,44-14,08)
Пол Gender	ж f	18 (52,9)	40 (33,9)	23 (38,3)	15 (29,4)	2 (28,6)
	м m	16 (47,1)	78 (66,1)	37 (61,7)	36 (70,6)	5 (71,4)
ISS, баллы ISS, units	-	4,00 (4,00-9,00)	26,00 (21,00-29,00)	22,00 (17,75-27,25)	29,00 (24,50-34,00)	34,00 (29,50-35,00)
	нет N	34 (100,0)	29 (25,9)	14 (25,0)	12 (24,5)	3 (42,9)
Множественная травма, % Multiple trauma, %	да Y	-	83 (74,1)	42 (75,0)	37 (75,5)	4 (57,1)
	нет N	33 (97,1)	52 (46,0)	30 (52,6)	20 (40,8)	2 (28,6)
Открытая травма, % Open trauma, %	да Y	1 (2,9)	61 (54,0)	27 (47,4)	29 (59,2)	5 (71,4)
	нет N	34 (100,0)	44 (38,9)	21 (36,8)	19 (38,8)	4 (57,1)
Скелетная травма, % Skeletal trauma, %	да Y	-	69 (61,1)	36 (63,2)	30 (61,2)	3 (42,9)
	нет N	-	1 (0,9)	-	1 (2,0)	-
ЧМТ, % TBI, %	да Y	34 (100,0)	114 (99,1)	58 (100,0)	49 (98,0)	7 (100,0)
	нет N	-	46 (41,1)	34 (60,7)	12 (24,5)	-
Кома, % Coma, %	да Y	-	66 (58,9)	22 (39,3)	37 (75,5)	7 (100,0)
	нет N	-	24 (20,3)	16 (26,7)	7 (13,7)	1 (14,3)
Кровопотеря, % Blood loss, %	да Y	-	94 (79,7)	44 (73,3)	44 (86,3)	6 (85,7)

Таблица 1 (окончание)
Table 1 (continued)

Фактор Factor	Категория Category	ЛТ (ISS < 16) Mild injury (ISS < 16)	ТТ (ISS ≥ 16) / Severe Injury (ISS ≥ 16)			
			Всего Total	Благ. исход F	Неблаг. исход UF	Летал. исход L
СПОН, % MOF, %	нет N	-	99 (83,9)	60 (100,0)	39 (76,5)	-
	да Y	-	19 (16,1)	-	12 (23,5)	7 (100,0)
Дыхательная недостаточность, % Respiratory failure, %	нет N	-	83 (80,6)	45 (88,2)	35 (77,8)	3 (42,9)
	да Y	-	20 (19,4)	6 (11,8)	10 (22,2)	4 (57,1)
Респираторная поддержка (ИВЛ), % Ventilator, %	нет N	-	13 (11,5)	12 (21,1)	1 (2,0)	-
	да Y	-	100 (88,5)	45 (78,9)	48 (98,0)	7 (100,0)
Вазопрессорная поддержка, % Vasopressor support, %	нет N	-	47 (42,0)	35 (62,5)	12 (24,5)	-
	да Y	-	64 (57,1)	21 (37,5)	36 (73,5)	7 (100,0)
ГСО, % IC, %	нет N	-	95 (80,5)	58 (96,7)	34 (66,7)	3 (42,9)
	да Y	-	23 (19,5)	2 (3,3)	17 (33,3)	4 (57,1)
Перитонит, % Peritonitis, %	нет N	-	68 (97,1)	37 (100,0)	28 (93,3)	3 (100,0)
	да Y	-	2 (2,9)	-	2 (6,7)	-
Пневмония, % Pneumonia, %	нет N	-	64 (91,4)	37 (100,0)	24 (80,0)	3 (100,0)
	да Y	-	6 (8,6)	-	6 (20,0)	-
Инфекции ЦНС, % Infections CNS, %	нет N	-	67 (95,7)	37 (100,0)	27 (90,0)	3 (100,0)
	да Y	-	3 (4,3)	-	3 (10,0)	-
Сепсис, % Sepsis, %	нет N	-	66 (94,3)	37 (100,0)	27 (90,0)	2 (66,7)
	да Y	-	4 (5,7)	-	3 (10,0)	1 (33,3)

казателей представлены в единых условных единицах.

Методы статистического анализа

Обработку полученных данных проводили с помощью компьютерных программ MS Excel 2016 (Microsoft corp., США), Statistica 10 (StatSoft, Inc., США), а также с помощью языка «R». Результаты представлены в виде медианы (Me) и квартилей ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Критерием статистической достоверности получаемых выводов считали величину $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**).

Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией и одобрено Комитетом по биомедицинской этике Института неотложной детской хирургии и травматологии (протокол № 2 от 26.05.2020). Все участники исследования подписали информированное согласие.

Результаты и обсуждение

Анализ динамики нормированного абсолютного количества лимфоцитов периферической крови у детей показал выраженные изменения в зависимости от тяжести травмы. У пациентов с тяжелой травмой (ТТ, ISS > 16) уже в 1-е сутки после повреждения выявлено значительное снижение количества CD3⁺, CD19⁺ и NK-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой. На протяжении 1-3-х суток лимфопения сохранялась, частичное восстановление показателей наблюдалось к 5-7-м суткам, однако значения оставались ниже контрольных до 14-х суток после травмы. У пациентов с легкой травмой (ЛТ, ISS < 16) снижение абсолютного количества CD3⁺ и NK-лимфоцитов было менее выраженным, а уровень CD19⁺ клеток существенно не отличался от контроля. Таким образом, тяжелая травма ассоциировалась с более выраженной и длительной лимфопенией основных субпопуляций лимфоцитов по сравнению с легкой травмой (рис. 1). Относительное содержание CD3⁺ лимфоцитов у детей с тяжелой травмой снижалось в 1-е сутки после травмы и постепенно восстанавливалось к 5-7-м суткам. Процентное содержание CD19⁺ лимфоцитов у пациентов с легкой и тяжелой травмой было повышенным и достоверно отличалось от группы сравнения. Подъем уровня CD19⁺ лимфоцитов для группы с тяжелой травмой сохранялся до 3-5 суток с последующим снижением к 14-м суткам. Уровень NK-лимфоцитов в группе тяжелой травмы был значительно снижен в сравнении с контрольной группой и группой с легкой травмой на протяжении всего острого посттравматического пери-

ода, с частичной компенсацией к 14-м суткам. Аналогичные данные были получены и в других исследованиях. Установлено, что персистирующая лимфопения, обусловленная снижением уровня Т-лимфоцитов при тяжелой травме, коррелирует с тяжестью состояния и ассоциируется с неблагоприятным прогнозом [14]. Снижение количества лимфоцитов по сравнению с контрольной группой отмечается у пациентов сразу после травмы [11]. С использованием непараметрического критерия Манна–Уитни были проанализированы различия в нормированном абсолютном количестве и процентном содержании CD3⁺, CD19⁺ и NK-лимфоцитов у детей с тяжелой травмой в динамике в разных группах с развитием ГСО, СПОН и без развития ГСО, СПОН, а также с благоприятным, неблагоприятным и летальным исходом по ШИТТ (табл. 2). У пациентов с СПОН медианные значения исследуемых параметров были значительно ниже в течение первых 1-7 дней после поступления в ОРИТ по сравнению с пациентами без СПОН. Существенные различия уровней процентного содержания CD3⁺, CD19⁺ лимфоцитов между группами со СПОН выявлены на 1-й, 5-й, 10-й, 14-й день и на 5-й, 10-й день соответственно. Следует отметить, что лишь одно ранее проведенное исследование показало значительное снижение числа лимфоцитов между группами с и без СПОН, начиная с 2-го дня [10]. Уровни NK-лимфоцитов на 3-й день, а также CD3⁺ и CD19⁺ лимфоцитов на 10-й и 14-й день соответственно после травмы достоверно различались в группах с и без развития инфекционных осложнений. Сравнительный анализ данных посттравматического периода в группах с благоприятным и неблагоприятным исходом показал значительное уменьшение уровня CD3⁺ и CD19⁺ лимфоцитов на 7-й день и 10-й день после травмы в группе с неблагоприятным исходом (табл. 2).

Заключение

Таким образом, результаты исследования подтверждают, что тяжесть травмы оказывает значительное влияние на динамику основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови у детей. Тяжелая травма ассоциируется с более выраженным и длительным снижением уровня CD3⁺ и NK-лимфоцитов, что может быть связано с развитием осложнений и ухудшением прогноза исхода травматической болезни.

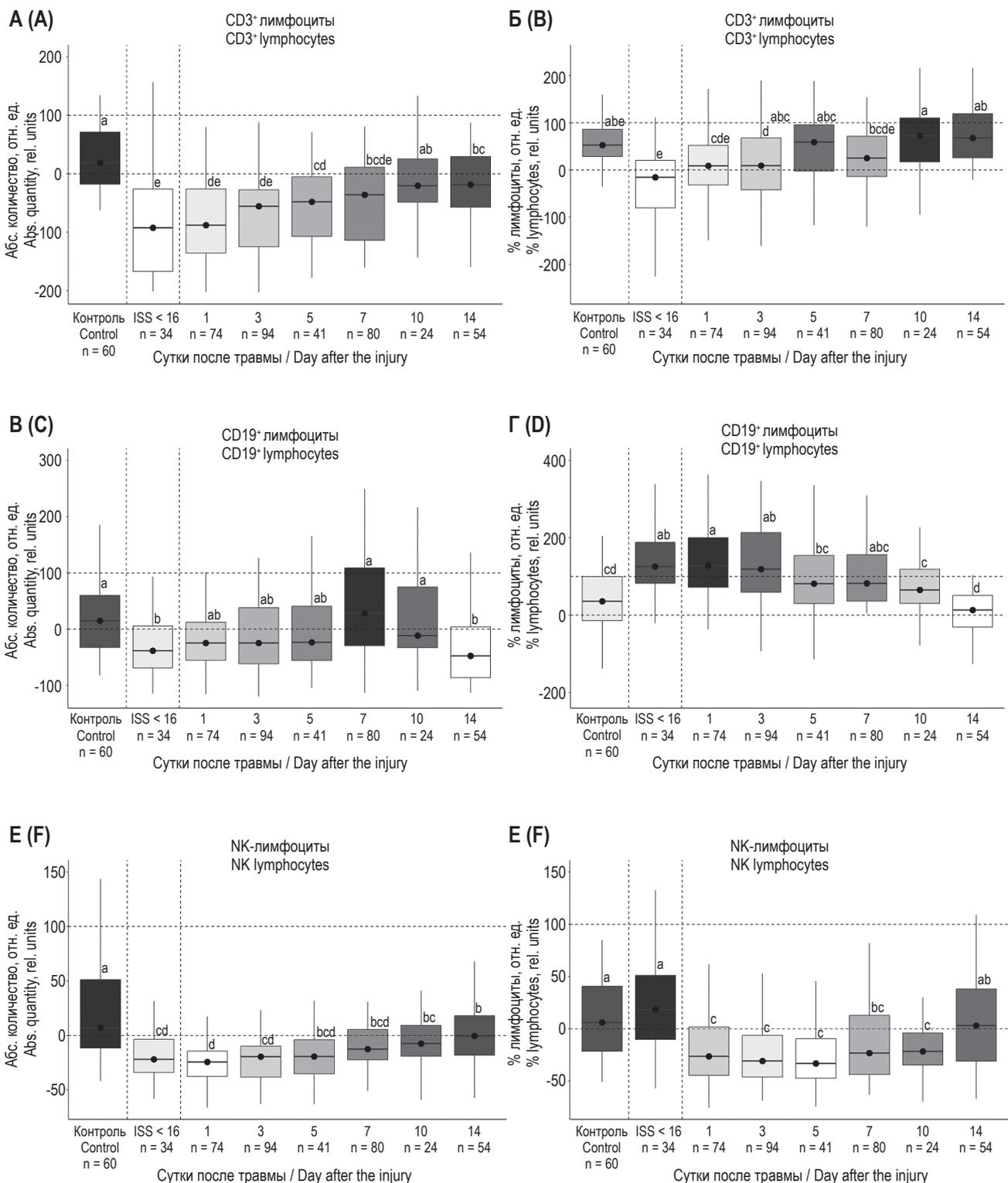


Рисунок 1. Динамика основных популяций лимфоцитов периферической крови у детей с тяжелой травмой (ТТ, ISS ≥ 16)

Примечание. Me ($Q_{0.25}$ - $Q_{0.75}$), (min-max); значимость представлена буквами, соответствующими попарному сравнению с помощью теста Краскела–Уоллиса. Группы сравнения: контрольная группа (Контроль), легкая травма (ЛТ, ISS < 16).

Figure 1. Dynamics of basic peripheral blood lymphocytes population levels in children with injury over time

Note. Me, Me ($Q_{0.25}$ - $Q_{0.75}$), (min-max); the significance is represented by letters according to pairwise comparison through the Kruskal–Wallis test. Comparison groups: control group (Control), mild injury (ISS < 16).

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ОСНОВНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В КРИТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ В ГРУППАХ С РАЗВИТИЕМ ГСО, СПОН И БЕЗ РАЗВИТИЯ ГСО, СПОН, А ТАКЖЕ С БЛАГОПРИЯТНЫМ, НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ И ЛЕТАЛЬНЫМ ИСХОДОМ ПО ШИПТ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. DYNAMICS OF BASIC PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES POPULATION LEVELS IN THE CRITICAL PERIOD OF SEVERE INJURY IN GROUPS DEPENDING ON MULTIPLE ORGAN FAILURE AND SEPTIC COMPLICATIONS DEVELOPMENT AND WITH FAVORABLE, UNFAVORABLE, LETHAL OUTCOME FOR OISS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Сутки после травмы Day after injury (ISS ≥ 16)	Фактор Factor	N (%)	CD3, Abs (отн. ед.) CD3, Abs (с. у.)	CD3, %LPh, (отн. ед.) CD3, %LPh (с. у.)	CD19, Abs (отн. ед.) CD19, Abs (с. у.)	CD19, %LPh, (отн. ед.) CD19, %LPh (с. у.)	NK, Abs (отн. ед.) NK, Abs (с. у.)	NK, %LPh (отн. ед.) NK, %LPh (с. у.)	
1	ГСО IC	нет N	-96,66 (-160,67-30,27)	-15,00 (-80,79-23,00)	-39,27 (-69,00-11,33)	118,82 (74,52-193,93)	-18,06 (-33,71-3,40)	20,58 (-7,90-54,69)	
		да Y	-43,71 (-170,42-20,30)	-18,79 (-43,87-3,02)	-24,92 (-67,53-8,12)	153,12 (123,47-183,02)	-21,96 (-35,09-10,53)	14,51 (-21,54-57,18)	
	СПОН MOF	нет N	-82,42 (-160,19-25,98)	-8,67 (-68,69-23,58)*	-38,38 (-68,89-5,62)	121,24 (77,44-187,64)	-22,17 (-33,91-3,42)	18,38 (-12,33-53,52)	
		да Y	-145,51 (-173,01-101,58)	-59,78 (-129,07-21,13)*	-40,37 (-64,04-7,03)	155,75 (125,28-199,85)	-11,38 (-27,10-1,72)	29,15 (-8,77-60,46)	
	Исход Outcome	бл. F	-71,01 (-151,29-23,93)	-14,32 (-58,34-15,09)	-40,13 (-66,26-15,12)	125,14 (68,75-183,48)	-23,19 (-33,78-2,56)	20,76 (-10,26-55,41)	
		небл. UF	-110,67 (-175,98-31,40)	-5,30 (-84,67-25,10)	-27,28 (-73,38-3,67)	120,98 (89,05-187,39)	-19,67 (-27,69-3,79)	8,62 (-8,93-54,28)	
	ГСО IC	летал. L	-153,78 (-176,57-107,94)	-117,17 (-203,14-33,78)	-41,43 (-64,04-23,81)	168,07 (146,73-221,38)	-22,81 (-40,88-4,63)	29,15 (12,61-57,86)	
		нет N	-93,92 (-137,71-26,32)	7,15 (-28,51-49,67)	-26,30 (-56,83-10,38)	129,70 (71,59-195,15)	-22,64 (-35,85-13,84)**	-23,18 (-42,68-8,03)**	
	3	ГСО IC	да Y	-43,13 (-112,45-21,08)	35,91 (-39,78-63,40)	-15,13 (-55,31-13,81)	128,00 (82,47-260,40)	-38,33 (-42,98-25,33)**	-42,85 (-54,58-28,08)**
			нет N	-92,67 (-137,10-26,07)	8,33 (-26,70-49,93)	-28,21 (-55,50-8,40)	129,70 (76,54-196,73)	-23,95 (-37,33-14,28)	-24,94 (-44,48-1,94)
		СПОН MOF	да Y	-46,21 (-123,75-25,64)	14,33 (-46,56-62,84)	-9,28 (-42,89-29,88)	138,32 (51,53-273,00)	-32,33 (-39,83-21,87)	-32,19 (-43,66-9,03)
			бл. F	-80,33 (-136,70-22,28)	11,04 (-24,28-59,43)	-27,50 (-58,17-3,37)	120,00 (71,39-192,18)	-23,18 (-35,24-12,48)	-23,04 (-43,56-0,73)
Исход Outcome		небл. UF	-97,88 (-132,45-27,59)	6,82 (-27,35-42,14)	-26,25 (-54,67-13,81)	143,88 (82,47-209,96)	-24,58 (-38,57-16,03)	-34,91 (-43,90-2,84)	
		летал. L	-61,90 (-124,83-30,52)	-44,97 (-51,30-61,46)	26,17 (-24,14-151,29)	242,13 (44,52-292,54)	-42,94 (-57,38-29,13)	-24,02 (-63,78-23,32)	

Таблица 2 (продолжение)
Table 2 (continued)

Сутки после травмы Day after injury (ISS ≥ 16)	Фактор Factor	N (%)	CD3, Abs (отн. ед.) CD3, Abs (с. у.)	CD3, %LPh, (отн. ед.) CD3, %LPh (с. у.)	CD19, Abs (отн. ед.) CD19, Abs (с. у.)	CD19, %LPh, (отн. ед.) CD19, %LPh (с. у.)	NK, Abs (отн. ед.) NK, Abs (с. у.)	NK, %LPh (отн. ед.) NK, %LPh (с. у.)	
5	ГСО IC	нет N	-45,04 (-117,62-28,00)	3,84 (-41,65-73,73)	-6,29 (-54,25-42,38)	135,73 (70,50-229,55)	-18,55 (-41,07-8,61)	-31,13 (-50,88-13,51)	
		да Y	-161,91 (-172,47-59,82)	37,00 (-107,48-54,11)	-46,66 (-91,98-11,98)	84,65 (34,01-283,42)	-20,72 (-23,00-16,73)	-18,67 (-39,70-3,95)	
	СПОН MOF	нет N	-94,13 (-129,81-29,88)	-6,83 (-65,84-52,50)*	-9,59 (-50,24-41,98)	163,69 (87,60-282,98)**	-19,03 (-35,16-10,02)	-30,64 (-45,84-10,66)	
		да Y	-30,58 (-34,84-26,84)	45,53 (34,51-83,09)*	-70,32 (-87,31-13,89)	66,68 (-22,08-84,59)**	-33,55 (-42,03-11,95)	-31,13 (-46,82-15,34)	
	Исход Outcome	бл. F	-73,16 (-120,12-29,39)	-1,60 (-46,81-71,05)	-29,92 (-53,04-48,28)	138,17 (45,39-298,18)	-16,30 (-38,99-8,77)	-30,64 (-47,67-5,54)	
		небл. UF	-45,04 (-148,11-28,65)	11,25 (-43,79-52,14)	-6,29 (-75,38-40,83)	135,73 (84,65-229,55)	-22,20 (-37,87-17,83)	-37,32 (-47,23-14,05)	
	7	ГСО IC	летал. L	-28,39 (-29,48-27,29)	52,60 (35,81-69,39)	13,89 (7,16-20,61)	70,50 (68,59-72,41)	7,48 (-0,31-15,27)	-5,66 (-18,40-7,08)
			нет N	-48,33 (-106,60-12,02)	50,32 (-2,86-92,27)	-17,04 (-44,62-47,65)	83,31 (40,50-156,31)	-17,43 (-33,80-2,66)	-27,93 (-47,42-3,96)
		СПОН MOF	да Y	-44,24 (-109,82-20,05)	80,78 (29,01-102,87)	-51,00 (-71,16-18,59)	78,73 (4,37-144,39)	-28,88 (-37,86-17,91)	-42,06 (-46,08-28,99)
			нет N	-45,55 (-105,88-12,02)	60,69 (-2,86-94,77)	-18,08 (-50,43-47,65)	78,73 (35,54-152,35)	-19,39 (-36,14-3,05)	-29,47 (-47,42-8,72)
Исход Outcome		да Y	-92,15 (-111,40-35,68)	53,92 (13,98-91,52)	-51,22 (-73,51-23,14)	92,42 (15,69-153,28)	-22,57 (-34,74-15,68)	-43,17 (-46,35-21,44)	
		бл. F	-17,23 (-73,33-17,20)*	57,78 (7,01-95,45)	-3,50 (-41,98-45,99)	75,79 (35,00-143,91)	-18,67 (-32,62-2,60)	-28,95 (-48,41-6,72)	
Исход Outcome		небл. UF	-82,04 (-110,50-25,17)*	59,91 (-5,73-84,29)	-36,00 (-67,00-40,50)	88,00 (31,36-165,05)	-20,11 (-37,02-5,08)	-32,31 (-46,30-11,25)	
		летал. L	-83,73 (-97,41-70,05)	60,38 (11,21-109,56)	-15,88 (-44,21-12,45)	102,68 (52,22-153,13)	-35,23 (-44,26-26,20)	-43,17 (-43,46-42,88)	

Таблица 2 (окончание)
Table 2 (continued)

Сутки после травмы Day after injury (ISS ≥ 16)	Фактор Factor		N (%)	CD3, Abs (отн. ед.) CD3, Abs (с. у.)	CD3, %LPh, (отн. ед.) CD3, %LPh (с. у.)	CD19, Abs (отн. ед.) CD19, Abs (с. у.)	CD19, %LPh, (отн. ед.) CD19, %LPh (с. у.)	NK, Abs (отн. ед.) NK, Abs (с. у.)	NK, %LPh (отн. ед.) NK, %LPh (с. у.)
	нет N	да Y							
10	ГСО IC	нет N	18 (75,0)	-17,18 (-79,51-41,71)*	34,34 (11,07-80,55)	18,72 (-32,12 – 114,86)	80,39 (36,00-102,51)*	-6,67 (-20,51-6,75)	-15,59 (-40,96-14,88)
		да Y	6 (25,0)	-131,72 (-154,88-54,52)*	-42,83 (-116,85-26,37)	61,97 (26,84-95,66)	210,82 (124,04-305,02)*	-18,88 (-23,98-15,98)	-42,22 (-44,83-28,64)
	СПОН MOF	нет N	19 (79,2)	-20,03 (-85,98-32,70)	37,27 (18,56-94,31)**	17,19 (-40,00 – 85,44)	78,79 (32,00-101,58)**	-5,15 (-22,84-6,68)	-18,46 (-43,88-14,31)
		да Y	5 (20,8)	-110,45 (-153,00-71,17)	-107,57 (-119,94-93,83)**	105,78 (58,64-149,53)	292,99 (271,96-309,03)	-16,14 (-21,61-15,92)	-41,29 (-43,15-36,73)
	Исход Outcome	бл. F	11 (45,8)	-14,33 (-35,55-12,30)	49,09 (26,68-94,31)*	17,19 (-24,59 – 70,78)	62,00 (32,00-90,95)**	-5,15 (-33,10-6,68)	-12,71 (-49,20-14,31)
		небл. UF	13 (54,2)	-110,45 (-153,00-12,56)	9,09 (-93,83-27,86)*	58,64 (-33,50 – 149,53)	128,64 (82,00-271,96)	-15,92 (-21,61-2,93)	-32,47 (-43,15-17,86)
14	ГСО IC	нет N	44 (81,5)	-24,49 (-49,71-38,14)	77,77 (29,48-120,67)	-13,49 (-41,69 – 47,22)	59,55 (12,77-99,59)*	-6,78 (-17,84-10,31)	-19,93 (-32,15-1,09)
		да Y	10 (18,5)	-8,12 (-25,97-23,65)	33,44 (-12,15-81,79)	40,80 (-13,85 – 75,68)	140,74 (65,57-189,25)*	-13,66 (-30,88-3,24)	-29,55 (-41,10-18,64)
	СПОН MOF	нет N	44 (81,5)	-18,54 (-49,71-38,14)	80,91 (33,68-120,67)*	-13,49 (-31,63 – 45,90)	62,66 (29,33-99,59)	-8,17 (-18,75-9,57)	-22,46 (-37,56-6,90)
		да Y	10 (18,5)	-18,78 (-40,78-3,48)	11,95 (-34,55-72,23)*	40,80 (-55,64 – 177,14)	123,05 (39,33-189,01)	-2,65 (-17,45-8,50)	-12,47 (-30,03-9,68)
	Исход Outcome	бл. F	22 (40,7)	-22,84 (-48,31-32,71)	93,33 (47,56-123,07)	-18,84 (-31,47 – 2,52)	53,86 (-1,08-113,84)	-10,73 (-18,35-7,74)	-25,36 (-40,56-9,74)
		небл. UF	32 (59,3)	-14,04 (-44,21-30,60)	45,81 (1,93-106,20)	11,50 (-31,95 – 98,61)	68,59 (34,00-145,97)	-3,51 (-22,42-9,27)	-20,32 (-33,38-8,04)

Примечание. * – p < 0.05; ** – p < 0.01; группы сравнения: СПОН (нет, да); ГСО (нет, да); исход травмы (бл. – благоприятный, небл. – неблагоприятный, летальный).

Note. *, p < 0.05, **, p < 0.01; comparison groups: multiple organ failure (MOF; N, no; Y, yes); infectious complication (IC; N, no; Y, yes); outcome (F, favorable outcome; UF, unfavorable outcome; L, lethal outcome).

Список литературы / References

1. Тимофеев В.В., Бондаренко А.В. Эпидемиологические аспекты политравмы у детей в крупном городе // Политравма, 2012. № 4. С. 5-8. [Timofeev V.V., Bondarenko A.V. Epidemiological aspects of polytrauma in children in major city. *Politravma = Politrauma*, 2012, no. 4, pp. 5-8. (In Russ.)]
2. Щербина А.Ю., Пашанов Е.Д. Иммунология детского возраста: практическое руководство по детским болезням. М.: Медпрактика-М, 2006. 431 с. [Shcherbina A.Yu., Pashanov E.D. Childhood Immunology. A Practical Guide to Childrens Illness]. Moscow: Medpraktika-M, 2006. 431 p.
3. Bima P., Montrucchio G., Caramello V., Rumbolo F., Dutto S., Boasso S., Ferraro A., Brazzi L., Lupia E., Boccuzzi A., Mengozzi G., Morello F., Battista S. Prognostic Value of Mid-Regional Proadrenomedullin Sampled at Presentation and after 72 Hours in Septic Patients Presenting to the Emergency Department: An Observational Two-Center Study. *Biomedicines*, 2022, Vol. 10, no. 3, 719. doi:10.3390/biomedicines10030719.
4. Cahill L.A., Guo F., Nguyen J., Zhang F., Seshadri A., Keegan J., Hauser C.J., Otterbein L.E., Robson S., Shaefi S., Yaffe M.B., Lederer J.A. Circulating factors in trauma plasma activate specific human immune cell subsets. *Injury*, 2020, Vol. 51, no. 4, pp. 819-829.
5. Castelli G., Pognani C., Meisner M., Stuani A., Bellomi D., Sgarbi L. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit. Care*, 2004, Vol. 8, no. 4, pp. R234-R242.
6. Gao Y., Duan J., Ji H., Lu W. Levels of S100 calcium binding protein B (S100B), neuron-specific enolase (NSE), and cyclophilin A (CypA) in the serum of patients with severe craniocerebral injury and multiple injuries combined with delirium transferred from the ICU and their prognostic value. *Ann. Palliat. Med.*, 2021, Vol. 10, no. 3, pp. 3371-3378.
7. Karaseva O.V., Roshal L.M. Pediatric trauma in earthquakes: general principles of care in pediatric trauma during earthquakes. In: Wolfson N., Lerner A., Roshal L. (eds.). *Orthopedics in Disasters*. Berlin Heidelberg: Springer, 2016, pp. 445-452.
8. Killien E.Y., Zahlan J.M., Lad H., Watson R.S., Vavilala M.S., Huijsmans R.L.N., Rivara F.P. Epidemiology and outcomes of multiple organ dysfunction syndrome following pediatric trauma. *J. Trauma Acute Care Surg.*, 2022, Vol. 93, no. 6, pp. 829-837.
9. Leclerc F., Leteurtre S., Duhamel A., Grandbastien B., Proulx F., Martinot A., Gauvin F., Hubert P., Lacroix J. Cumulative influence of organ dysfunctions and septic state on mortality of critically ill children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2005, Vol. 171, no. 4, pp. 348-353.
10. Manson J., Cole E., DeAth H.D., Vulliamy P., Meier U., Pennington D., Brohi K. Early changes within the lymphocyte population are associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in trauma patients. *Crit. Care*, 2016, Vol. 20, no. 1, 176. doi: 10.1186/s13054-016-1341-2.
11. Manson J., Hoffman R., Chen S., Ramadan M.H., Billiar T.R. Innate-like lymphocytes are immediate participants in the hyper-acute immune response to trauma and hemorrhagic shock. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1501. doi: 10.3389/fimmu.2019.01501.
12. Marshall J.C. Measuring organ dysfunction in the intensive care unit: why and how? *Can. J. Anaesth.*, 2005, Vol. 52, no. 3, pp. 224-230.
13. Matics T.J., Sanchez-Pinto L.N. Adaptation and validation of a pediatric sequential organ failure assessment score and evaluation of the sepsis-3 definitions in critically ill children. *JAMA Pediatr.*, 2017, Vol. 171, no. 10, e172352. doi: 10.1001/jamapediatrics.2017.2352.
14. Mukhametov U., Lyulin S., Borzunov D., Plyasova T., Gareev I., Sufianov A. Immunologic response in patients with polytrauma. *Noncoding RNA Res.*, 2023, Vol. 8, no. 1, pp. 8-17.
15. Proulx F., Gauthier M., Nadeau D., Lacroix J., Farrell C.A. Timing and predictors of death in pediatric patients with multiple organ system failure. *Crit. Care Med.*, 1994, Vol. 22, no. 6, pp. 1025-1031.

Авторы:

Закиров Р.Ш. — врач клинической лабораторной диагностики клинико-диагностической лаборатории ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ; научный сотрудник лаборатории иммунологических, цитохимических и биохимических методов исследования ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

Authors:

Zakirov R.Sh., Clinical Laboratory Physician, Clinical Diagnostic Laboratory, National Medical Research Center for Children's Health; Researcher, Laboratory of Immunology, Cytochemistry and Biochemistry, Institute of Urgent Children Surgery and Traumatology, Moscow, Russian Federation

Петричук С.В. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Карасева О.В. — д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе, руководитель отдела сочетанной травмы, анестезиологии и реанимации ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии» Департамента здравоохранения города Москвы; заведующая отделением неотложной хирургии и травмы у детей ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Petrichek S.V., PhD, MD (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Karaseva O.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Deputy Director for Research, Chief of Department of Multiple Trauma and Intensive Care Unit, Institute of Urgent Children Surgery and Traumatology; Head, Department of Emergency Surgery and Trauma in Children, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Поступила 28.04.2025
Отправлена на доработку 06.05.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 28.04.2025
Revision received 06.05.2025
Accepted 22.06.2025

СЕМЕЙНЫЙ СЛУЧАЙ SOPH-СИНДРОМА У ДЕТЕЙ

Иванова О.Н., Иванова И.С.

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», г. Якутск,
Республика Саха (Якутия), Россия

Резюме. Распространенность SOPH-синдрома в Республике Саха (Якутия) составляет чуть более 18 пациентов на 100 000 якутской популяции. При этом частота гетерозиготного носительства причинной мутации – 1300 на 100 000 здоровых якутов. По данным на 2009 год, распространенность SOPH-синдрома в Республике Саха (Якутия) для всего населения составила 4,53 на 100 000, а среди якутов – 9,95 на 100 000 якутского населения. Данная статья посвящена двум клиническим примерам SOPH-синдрома в одной семье (брат и сестра) в катамнезе 6 лет. Данный пример клинического наблюдения представляет интерес для педиатров и семейных врачей, практикующих в Республике Саха (Якутия). Материалами и методами явились амбулаторные карты муниципальных поликлиник 112у детей по месту жительства, карты наблюдения детей Консультативной поликлиники №1 Национального центра медицины. Фенотип обоих детей схож при осмотре диспластического телосложения. Форма головы брахицефальная, лицо симметричное, гипомимичное, прямой нос с выступающей глобеллой, незначительный экзофтальм, гипопластичные скулы, длинный фильтр, тонкие губы, неровный зубной ряд. Кожа смуглая, сухая. Микромелия. Грудная клетка короткая, большой живот. Конечности симметрично укорочены. НПО по мужскому типу. Стул и диурез в норме. Обоим детям сделана рентгенография кистей рук. Выявлено отставание костного возраста у обоих детей. Оба ребенка прошли исследование KREC и TREC и генетическое исследование. У обоих детей выявлена мутация 5741G>A в гене *NBAS* в гомозиготном состоянии. По иммунограммам обоих детей выявлено резкое снижение уровня иммуноглобулинов А, М и G. Обоим детям была назначена регулярная заместительная терапия иммуноглобулином человеческим нормальным для подкожного введения, препарат Cutaquig в ежемесячной дозе 0,5-0,6 г/кг/мес по схеме 4 грамма каждые 10 дней, в две точки введения подкожно. В данное время дети получают заместительную терапию по месту жительства. Данные случаи представляют интерес для практикующих врачей и ученых, так как имеется сходство генотипов брата и сестры. Описание клинического течения всех случаев SOPH-синдрома необходимо для составления клинических рекомендаций. Формирование регистра SOPH-синдрома Республики Саха (Якутия) поможет в обеспечении лекарствами и медицинской помощью детей с данным видом первичного иммунодефицита.

Ключевые слова: синдром, регистр, мутация, иммунодефицит, низкорослость, иммуноглобулины

Адрес для переписки:

Иванова Ольга Николаевна
Медицинский институт ФГАОУ ВО «Северо-Восточный
федеральный университет имени М.К. Аммосова»
677000, Россия, Республика Саха (Якутия),
г. Якутск, ул. Ойунского, 27.
Тел.: 8 (914) 290-61-25.
E-mail: olgadoctor@list.ru

Address for correspondence:

Olga N. Ivanova
Medical Institute, M. Ammosov North-Eastern Federal
University
27 Oyunsky St
Yakutsk, Republic of Sakha
677000 Russian Federation
Phone: +7 (914) 290-61-25.
E-mail: olgadoctor@list.ru

Образец цитирования:

О.Н. Иванова, И.С. Иванова «Семейный случай
SOPH-синдрома у детей» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 965-970.
doi: 10.46235/1028-7221-17232-AFC

© Иванова О.Н., Иванова И.С., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.N. Ivanova, I.S. Ivanova "A family case of SOPH syndrome
in children", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 965-970.
doi: 10.46235/1028-7221-17232-AFC

© Ivanova O.N., Ivanova I.S., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17232-AFC

A FAMILY CASE OF SOPH SYNDROME IN CHILDREN

Ivanova O.N., Ivanova I.S.

M. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Republic of Sakha, Russian Federation

Abstract. Prevalence of SOPH syndrome in the Republic of Sakha (Yakutia) is slightly more than 18 patients per 100,000 Yakut population. Frequency of heterozygous state for the causal mutation is 1,300 per 100,000 healthy Yakuts. As of 2009, the prevalence of SOPH syndrome in the Republic of Sakha (Yakutia) for entire population was 4.53 per 100,000, and among Yakuts, 9.95 per 100,000. This article concerns two clinical cases of SOPH syndrome in a single family (brother and sister) observed for 6 years. This clinical example is of interest to pediatricians and family doctors practicing in the Republic of Sakha (Yakutia). We used outpatient cards of municipal polyclinics for 112,000 children at their residence place, observation cards for children at the Consultative Polyclinic No.1 at the National Center of Medicine. The phenotype of both children is similar. When looking for dysplastic features, we revealed brachycephalic skull, symmetrical face, hypomimia, straight nose with protruding glabella, slight exophthalm, hypoplastic cheekbones, long filter, thin lips, uneven dentition. The skin was dark and dry. Micromelia was also documented, along with short chest and enlarged belly. The limbs were symmetrically shortened. Sex features were by male type. Stools and diuretic functions were normal. Both children underwent radiography of their hands. The delayed bone growth was revealed in both children. Both children underwent KREC and TREC studies and genetic testing. Both children were homozygous for 5741G>A mutation in *NBAS* gene. Immunograms of both children showed a sharp decrease in IgA, IgM and IgG levels. Both children were administered regular replacement therapy with subcutaneous injections of normal human immunoglobulin. Cutaquig preparation has been also prescribed at a monthly dose of 0.5-0.6 g/kg, according to the protocol (4 g every 10 days, at two subcutaneous injection points). Currently, the children are receiving substitution therapy at their place of residence. These cases are of interest to practitioners and scientists, due to similar gene mutation in brother and sister. One should evaluate clinical course in all cases of SOPH syndrome in order to develop appropriate clinical recommendations. Establishment of the SOPH-syndrome registry in Republic of Sakha (Yakutia) will help in providing medical drugs and medical care to children with this type of primary immunodeficiency.

Keywords: SOPH syndrome, mutation, immunodeficiency, dwarfism, immunoglobulins

Введение

Синдром низкорослости с атрофией зрительных нервов и пельгеровской аномалией лейкоцитов (SOPH) (OMIM # 614800) впервые в мире был описан в 2010 году якутскими врачами-генетиками совместно с японскими коллегами и назван ими SOPH-синдром, по первым буквам основных клинических симптомов, присутствующих в этом синдроме: низкий рост, атрофия зрительных нервов и пельгеровская аномалия лейкоцитов [1, 2, 3, 4, 5]. Распространенность SOPH-синдрома в Республике Саха (Якутия) составляет чуть более 18 пациентов на 100 000 якутской популяции. При этом частота гетерозиготного носительства причинной мутации – 1300 на 100 000 здоровых якутов.

По данным на 2009 год, распространенность SOPH-синдрома в Республике Саха (Якутия) для

всего населения составила 4,53 на 100 000, а среди якутов – 9,95 на 100 000 якутского населения.

Данная статья посвящена наблюдению над семейными случаями SOPH-синдрома. Данный пример клинического наблюдения представляет интерес для педиатров и семейных врачей, практикующих в Республике Саха (Якутия).

Цель исследования – представить клиническое наблюдение синдрома SOPH у двух детей – брата и сестры из одной семьи в катамнезе 6 лет.

Материалы и методы

Для исследования были использованы амбулаторные карты муниципальных поликлиник 112у детей по месту жительства. Карты наблюдения детей Консультативной поликлиники № 1 Национального центра медицины.

Результаты и обсуждение

Ребенок Э., мальчик, национальность саха, дата рождения 17.06.2012 (13 лет) до 2018 года никаких жалоб не предъявлял. Ребенок от 1-й беременности, протекавшей в 1-й половине с угрозой прерывания.

В 2018 году обратились к педиатру РБ № 1 НЦМ с жалобами на низкое зрение вдаль обоими глазами, периодический кашель, ночной храп, частую заложенность носа, низкий рост. Рост на момент осмотра 10.10.2024 – 132 см, вес 26 кг. В данное время учится в 4-м классе, успеваемость средняя. Занимается шашками. Аппетит выборочный, сон спокойный, судороги и обмороки отрицает.

Фенотип ребенка: при осмотре диспластического телосложения. Форма головы брахицефальная, лицо симметричное, гипомимичное, прямой нос с выступающей глобеллой, незначительный экзофтальм, гипопластичные скулы, длинный фильтр, тонкие губы, неровный зубной ряд. Кожа смуглая, сухая. Микромелия. Грудная клетка короткая, большой живот. Конечности симметрично укорочены. НПО по мужскому типу. Стул и диурез в норме (рис. 1).

Ребенок был отправлен к офтальмологу, аллергологу-иммунологу, эндокринологу и генетику на консультацию. Консультация офтальмо-

лога от 02.08.2018, заключение: ОД: Частичная атрофия зрительного нерва, ОУ: Миопия слабой степени, неосложненная. Халазион правого века. Иммунолог от 02.08.2018: Первичный иммунодефицит комбинированный. Эндокринолог от 28.08.2018: Нанизм синдромальный (не эндокринного генеза).

Лабораторное обследование: уровень витамина D в крови 14,4 нг/мл (РИ: 30,00-100,00 нг/мл). Биохимический анализ крови: уровень фосфора в крови 2,02 ммоль/л (РИ: 0,87-1,45). Была проведена KREC и TREC-диагностика. TREC 18,31 копий/10 × 5 (норма более 20), KREC 10,01 копий/10 × 5 (норма более 40).

Сделана рентгенограмма кистей рук от 29.10.2024. Заключение: Взаимоотношение костей в суставах не нарушено. Форма костей обычная. Контуры ровные и четкие. Замыкательные пластинки не изменены. Рентген суставные щели не сужены. Определяются ядра оссификации 7 костей запястья без гороховидной кости и ядра оссификации дистальных эпифизов локтевых костей. Таким образом, костный возраст ребенка соответствует 7-7,5 годам.

Ребенку было проведено генетическое исследование. Выявлена мутация 5741G>A, в гене *NBAS* в гомозиготном состоянии. Генетик выставил диагноз: Q87.1 синдром врожденных аномалий, проявляющийся преимущественно

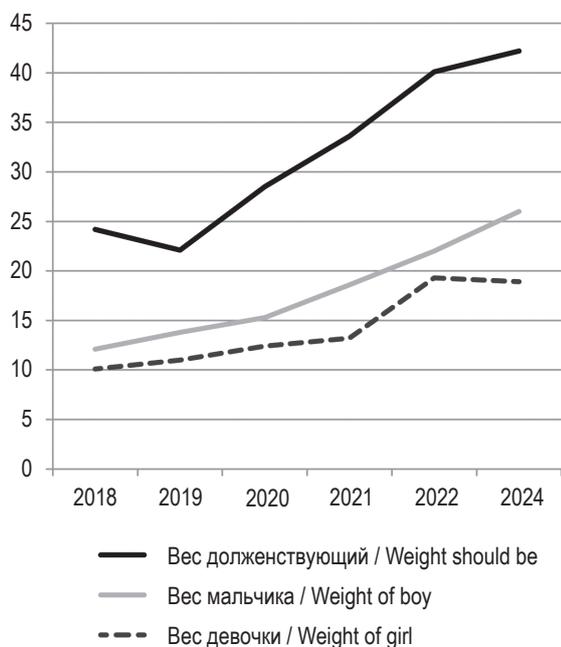


Рисунок 1. Динамика веса детей с SOPH-синдромом (мальчик и девочка)

Figure 1. Weight dynamics of children with SOPH syndrome (boy and girl)

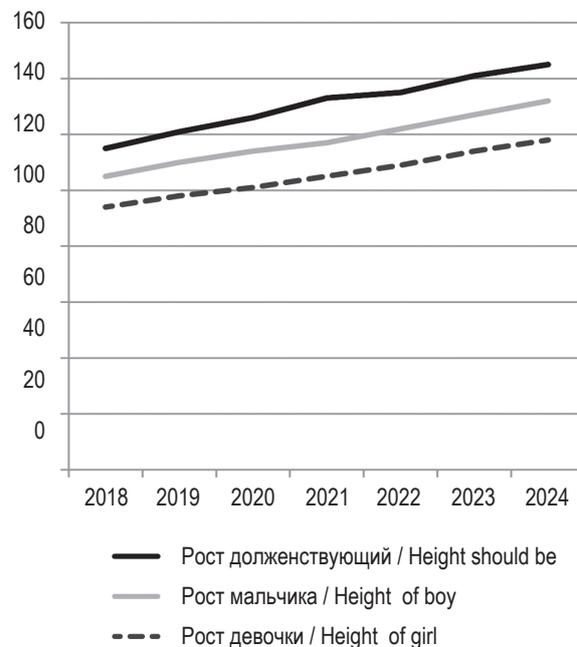


Рисунок 2. Динамика роста детей с SOPH-синдромом (мальчик и девочка)

Figure 2. Growth dynamics of children with SOPH syndrome (boy and girl)

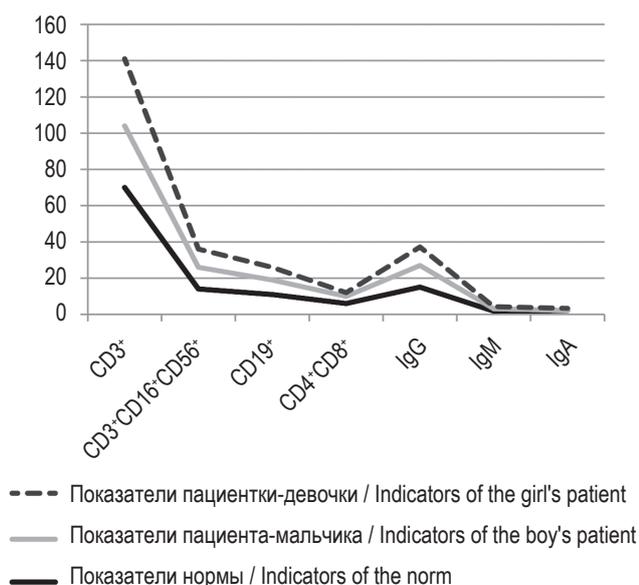


Рисунок 3. Показатели иммунного статуса у детей с SOPH-синдромом (мальчик и девочка)

Figure 3. Immune status indicators in children with SOPH syndrome (boy and girl)

карликовостью. SOPH-синдром. Первичный иммунодефицит. Частичная атрофия зрительных нервов на фоне нанизма. Пельгеровская аномалия лимфоцитов. Нанизм синдромальный. Первичный иммунодефицит. Дефицит витамина D.

С 18.11.2024 по 03.12.2024 находился в отделении иммунологии НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева Минздрава РФ. Пациенту была назначена регулярная заместительная терапия иммуноглобулином человеческого нормальным для подкожного введения, препарат Cutaquig в ежемесячной дозе 0,5-0,6 г/кг/мес по схеме 4 грамма каждые 10 дней, в две точки введения подкожно.

В данное время пациент находится на диспансерном наблюдении, имеет инвалидность и получает заместительную терапию препаратом Cutaquig в ежемесячной дозе 0,5-0,6 г/кг/мес, по схеме 4 грамма каждые 10 дней, в две точки введения подкожно. Также на диспансерном наблюдении в МГЦ находится семья пациента, рекомендована ранняя инвазивная пренатальная диагностика в 10 недель.

В обследуемой семье есть еще один ребенок – девочка 11 лет. Национальность саха. В 2018 году родители обратились в Консультативную поликлинику РБ № 1 НЦМ со вторым ребенком: девочкой – младшей сестрой пациента (дата рождения 30.12.2013) с жалобами на частые простудные заболевания, заложенность носа, отставание в ро-

сте и весе. После осмотра педиатра ребенку было назначено обследование: рентгенография костей, консультация офтальмолога, аллерголога, эндокринолога и генетика. Девочка от 2-й беременности, 2-х родов. Беременность протекала гладко. Роды в срок, естественные. К груди приложена сразу. Вес при рождении 3360, длина 51 см. Оценка по шкале Апгар 7/8 б. На грудном вскармливании до 2 месяцев. Психомоторное развитие: держит голову с 2 месяцев, переворачивается с 4 месяцев, ходит с 12 месяцев, говорит с 24 месяцев. Перенесенные заболевания: ОРВИ, ветряная оспа. Рост на момент осмотра 11.10.2024 года 126 см, вес 27 килограмм (рис. 2).

Фенотип ребенка при осмотре: диспластичное телосложение. Форма головы брахицефальная, лицо симметричное, гипомимичное, прямой нос с выступающей глобеллой, незначительный двусторонний экзофтальм, гипопластичные скулы, длинный фильтр, неровный зубной ряд. Кожа смуглая и сухая. Микромелия. ЧПС. Грудная клетка короткая, большой живот. Конечности симметрично укорочены. НПО по мужскому типу. Стул и диурез в норме. Пациентка осмотрена окулистом 17.10.2024. Диагноз: Частичная атрофия зрительных нервов. Миопия слабой степени, приобретенная рано, неосложненная. Осмотр эндокринолога Е34.3 Нанизм синдромальный. Иммунолог от 29.10.2024 D 80.9 Первичный иммунодефицит, комбинированный. Рецидивирующий бронхит (рис. 3). Назначено исследование KREC и TREC диагностика TREC 29,31 копий/10 × 5 (норма более 20) KREC 19,01 копий/10 × 5 (норма более 40). Лабораторное обследование: Уровень витамина D в крови 13,2 нг/мл (РИ: 30,00-100,00 нг/мл). Биохимический анализ крови: уровень фосфора в крови 1,88 ммоль/л (РИ: 1,45-1,78).

Сделана рентгенограмма кистей рук от 30.10.2024. Заключение: Взаимоотношение костей в суставах не нарушено. Форма костей обычная. Контуры ровные и четкие. Замыкательные пластинки не изменены. На рентгене суставные щели не сужены. Определяются ядра оссификации 7 костей запястья без гороховидной кости и ядра оссификации дистальных эпифизов локтевых костей. Таким образом, костный возраст ребенка соответствует 6-6,5 годам. Пациентка была осмотрена генетиком. Ребенку было проведено генетическое исследование. Выявлена мутация 5741G>A, в гене NBAS в гомозиготном состоянии. Генетик выставил диагноз: Q87.1 синдром врожденных аномалий, проявляющийся преимущественно карликовостью. SOPH-синдром.

Первичный иммунодефицит. Частичная атрофия зрительных нервов на фоне нанизма. Пельгеровская аномалия лимфоцитов. Нанизм синдромальный. Первичный иммунодефицит. Дефицит витамина D.

С 18.11.2024 по 03.12.2024 находилась на обследовании в отделении иммунологии НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева Минздрава РФ. Пациентке была назначена регулярная заместительная терапия иммуноглобулином человеческим нормальным для подкожного введения, препарат Cutaquig в ежемесячной дозе 0,5-0,6 г/кг/мес по схеме 4 грамма каждые 10 дней, в две точки введения подкожно.

В данное время пациентка находится на диспансерном наблюдении, имеет инвалидность и получает заместительную терапию препаратом Cutaquig в ежемесячной дозе 0,5-0,6 г/кг/мес, по схеме 4 грамма каждые 10 дней, в две точки введения подкожно. Также на диспансерном на-

блюдении в МГЦ находится семья пациентки, рекомендована ранняя инвазивная пренатальная диагностика в 10 недель.

В статье представлены два случая, сходные по клиническому течению и фенотипу. Оба ребенка прошли исследование KREC и TREC и генетическое исследование. У обоих детей выявлена мутация 5741G>A в гене NBAS в гомозиготном состоянии. Данные случаи представляют интерес для практикующих врачей и ученых, так как имеется сходство генотипов брата и сестры.

Выводы

1. Описание клинического течения всех случаев SOPH-синдрома необходимо для составления клинических рекомендаций.

2. Формирование регистра SOPH-синдрома Республики Саха (Якутия) поможет в обеспечении лекарствами и медицинской помощью детей с данным видом первичного иммунодефицита.

Список литературы / References

1. Вербицкая Л.И., Григорьева А.Н., Павлова Т.Ю., Пузырев В.П., Степанов В.А., Назаренко Л.П., Кучер А.Н., Харьков В.Н., Конева Л.А., Конев А.В., Трифонова Е.А., Томский М.И., Максимова Н.Р., Сухомьясова А.Л., Ноговицына А.Н., Матвеева Н.П., Гурьева П.И., Павлова К.К., Тапыев Е.В., Гуринова Е.Е., Николаева И.А., Степанова С.К., Коротов М.Н., Куртанов Х.А., Варламова М.А., Захарова В.А., Готовцева Л.В., Данилова А.Л., Соловьева Н.А., Александрова В.В., Бурцева Е.К., Иванова Р.Н. Генетические исследования населения Якутии. Якутск: Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, 2014. 336 с. [Verbitskaya L.I., Grigorieva A.N., Pavlova T.Yu., Puzyrev V.P., Stepanov V.A., Nazarenko L.P., Kucher A.N., Kharkov V.N., Koneva L.A., Konev A.V., Trifonova E.A., Tomsky M.I., Maksimova N.R., Sukhomyasova A.L., Nogovitsyna A.N., Matveeva N.P., Guryeva P.I., Pavlova K.K., Tapyev E.V., Gurinova E.E., Nikolaeva I.A., Stepanova S.K., Korotov M.N., Kurtanov H.A., Varlamova M.A., Zakharova V.A., Gotovtseva L.V., Danilova A.L., Solovyova N.A., Alexandrova V.V., Burtseva E.K., Ivanova R.N. Genetic studies of the population of Yakutia]. Yakutsk: Yakut Scientific Center for Complex Medical Problems, 2014. 336 p.
2. Жожиков Л.Р., Васильев Ф.Ф., Максимова Н.Р. Популяционная частота и возраст мутации G5741 A в гене NBAS, являющейся причиной SOPH-синдрома в Республике Саха (Якутия) // Генетика, 2023, Т. 59, № 4. С. 371-380. [Zhozhikov L.R. Vasiliev F.F., Maksimova N.R. Population frequency and age of the G5741 A mutation in the NBAS gene, which is the cause of SOPH syndrome in the Republic of Sakha (Yakutia). *Genetika = Russian Journal of Genetics*, 2023, Vol. 59, no. 4, pp. 371-380. (In Russ.)]
3. Максимова Н.Р., Ноговицына А.Н., Куртанов Х.А., Алексеева Е.И. Популяционная частота и возраст мутации G5741 A в гене NBAS, являющейся причиной SOPH-синдрома в Республике Саха (Якутия). Генетика, 2016. Т. 52, № 10. С. 1194-1201. [Maksimova N.R., Nogovitsyna A.N., Kurtanov Kh.A., Alekseeva E.I. Population frequency and age of the G5741 A mutation in the NBAS gene, which is the cause of Soph syndrome in the Republic of Sakha (Yakutia). *Genetika = Russian Journal of Genetics*, 2016, Vol. 52, no. 10, pp. 1194-1201. (In Russ.)]
4. Саввина М.Т., Максимова Н.Р., Сухомьясова А.Л., Лебедев И.Н. Наследственные болезни и программы молекулярно-генетического скрининга в генетически изолированных популяциях // Медицинская генетика, 2022. Т. 21, № 1. С. 3-13. [Savvina M.T., Maksimova N.R., Sukhomyasova A.L., Lebedev I.N. Hereditary

diseases and carrier's screening programs in genetically isolated populations. *Meditinskaya genetika = Scientific and Practical Journal Medical Genetics*, 2022, Vol. 21, no. 1, pp. 3-13. (In Russ.)]

5. Zhozhikov L., Sukhomyasova A., Gurinova E., Nogovicina A., Vasilev F., Maksimova N. Origins of SOPH syndrome: A study of 93 Yakut patients with review of C-terminal phenotype. *Clin. Genet.*, 2023, Vol. 103, no. 6, pp. 625-635.

Авторы:

Иванова О.Н. – д.м.н., профессор кафедры педиатрии и детской хирургии Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», г. Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия

Иванова И.С. – студент Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», г. Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия

Authors:

Ivanova O.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Pediatrics and Pediatric Surgery, Medical Institute, M. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Republic of Sakha, Russian Federation

Ivanova I.S., Student, Medical Institute, M. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Republic of Sakha, Russian Federation

Поступила 15.04.2025

Отправлена на доработку 22.04.2025

Принята к печати 22.06.2025

Received 15.04.2025

Revision received 22.04.2025

Accepted 22.06.2025

ЛАБОРАТОРНЫЕ КРИТЕРИИ ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ДИАГНОСТИКИ АУТОИММУННОГО ГЕПАТИТА И БОЛЕЗНИ ВИЛЬСОНА У ДЕТЕЙ

**Жужула А.А.¹, Курбатова О.В.¹, Петричук С.В.¹, Фисенко А.П.¹,
Сновская М.А.¹, Мовсисян Г.Б.¹, Потапов А.С.^{1,2}, Семикина Е.Л.^{1,2}**

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства
здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФГАОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Резюме. Определение лабораторных критериев для совершенствования дифференциальной диагностики детей с аутоиммунным гепатитом (АИГ) и болезнью Вильсона (БВ) является актуальным в педиатрии. Одним из критериев постановки диагноза АИГ является повышение титров антинуклеарного фактора (АНФ) в сыворотке крови. Описаны случаи, когда БВ может клинически протекать по типу АИГ с выявлением неспецифических аутоантител, что затрудняет дифференциальную диагностику. Цель исследования – выявить особенности определения антинуклеарного фактора на клеточной линии Нер-2 и специфических аутоантител с использованием тройного субстрата у детей с АИГ и БВ. Обследовано 62 ребенка с БВ и 28 детей с АИГ. Определяли антинуклеарный фактор (АНФ) на клеточной линии Нер-2 (клетки аденокарциномы гортани человека, ANA-Нер-2, AESKUSLIDES®, Германия) и специфические аутоантитела с использованием тройного субстрата, полученного от грызунов, который включает образцы тканей почки, печени и желудка (LKS Mouse, separated, Германия) с помощью реакции непрямой флюоресценции с использованием автоматического анализатора HELIOS® (Германия). Проведенный анализ выявил положительные результаты исследования АНФ у 15 детей из 62 (24%) с БВ. Положительные результаты АНФ получены у 26 детей из 28 (93%) с АИГ, достоверно чаще АНФ выявляется у детей с АИГ по сравнению с БВ. При исследовании специфических аутоантител с использованием тройного субстрата были выявлены положительные результаты у 34 детей с БВ (55%) и у 26 детей с АИГ (93%), достоверно чаще специфические аутоантитела на тройном субстрате выявляются у детей с АИГ ($p < 0,001$), чем у детей с

Адрес для переписки:

Жужула Анастасия Андреевна
ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский
центр здоровья детей» Министерства
здравоохранения РФ
119991, Россия, Москва, Ломоносовский пр., 2, стр. 1.
Тел.: 8 (910) 562-30-83.
E-mail: anas-zh@inbox.ru

Address for correspondence:

Anastasia A. Zhuzhula
National Medical Research Center for Children's Health
2 Lomonosovsky Ave, Bldg 1
Moscow
119991 Russian Federation
Phone: +7 (910) 562-30-83.
E-mail: anas-zh@inbox.ru

Образец цитирования:

А.А. Жужула, О.В. Курбатова, С.В. Петричук,
А.П. Фисенко, М.А. Сновская, Г.Б. Мовсисян,
А.С. Потапов, Е.Л. Семикина «Лабораторные
критерии для совершенствования диагностики
аутоиммунного гепатита и болезни Вильсона у детей»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 971-978.
doi: 10.46235/1028-7221-17275-LCF

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

For citation:

A.A. Zhuzhula, O.V. Kurbatova, S.V. Petrichuk, A.P. Fisenko,
M.A. Snovskaya, G.B. Movsisyan, A.S. Potapov,
E.L. Semikina "Laboratory criteria for improving the diagnosis
of autoimmune hepatitis and Wilson's disease in children",
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 971-978.
doi: 10.46235/1028-7221-17275-LCF

© Zhuzhula A.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17275-LCF

БВ. При обследовании ребенка с подозрением на АИГ при выявлении гомогенного типа свечения на клеточной линии Нер-2 и при комбинации различных типов свечения на тройном субстрате нельзя исключать наличие у пациентов БВ.

Ключевые слова: дети, аутоиммунный гепатит, болезнь Вильсона, антинуклеарный фактор на клеточной линии Нер-2, тройной субстрат LKS Mouse, аутоантитела к микросомам печени и почек 1-го типа, аутоантитела к гладким мышцам, аутоантитела к митохондриям, аутоантитела к париетальным клеткам желудка

LABORATORY CRITERIA FOR IMPROVING THE DIAGNOSIS OF AUTOIMMUNE HEPATITIS AND WILSON'S DISEASE IN CHILDREN

Zhuzhula A.A.^a, Kurbatova O.V.^a, Petrichuk S.V.^a, Fisenko A.P.^a, Snovskaya M.A.^a, Movsisyan G.B.^a, Potapov A.S.^{a, b}, Semikina E.L.^{a, b}

^a National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

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

Abstract. Specification of laboratory criteria for improving differential diagnostics of children with autoimmune hepatitis (AIH) and Wilson's disease (WD) is a relevant task in pediatrics. Increased titers of antinuclear factor (ANF) in blood serum is among laboratory criteria for diagnostics of AIH. Some WD cases have been described which can manifest as autoimmune hepatitis (AIH) with detection of non-specific autoantibodies, thus complicating the differential diagnosis. The aim of our study was to identify the specific features for determination of antinuclear factor on the Hep-2 cell line and specific autoantibodies using a triple cell substrate in children with autoimmune hepatitis and WD. We have examined 62 pediatric patients with WD and 28 children with AIH. ANF was determined on the Hep-2 cell line (ANA-HEP-2, AESKUSLIDES[®], Germany). Specific autoantibodies were detected by means of a triple substrate obtained from rodents, which included samples of kidney, liver and stomach tissues (LKS Mouse, Germany) using indirect fluorescence reactions applying an automated analyzer HELIOS[®] (Germany). The analysis revealed ANF positivity in 15 out of 62 (24%) children with WD. Positive ANF results were obtained in 26 out of 28 children AIH (93%), being significantly more common in AIH compared with WD. The study of specific autoantibodies using a triple substrate revealed positive results in 34 children with WD (55%), versus 26 children with AIH (93%), Hence, the specific auto-antibodies on the triple substrate are more commonly found in children with AIH ($p < 0.001$) than in children with WD. In children with suspected AIH, when a homogeneous type of luminescence is detected on the Hep-2 cell line, and with a combination of different luminescence types on a triple substrate, the presence of Wilson's disease in patients cannot be excluded.

Keywords: children, autoimmune hepatitis, Wilson's disease, antinuclear factor, Hep-2 cell line, triple LKS murine substrate, autoantibodies to microsomes, LKM-1 antibodies, liver, kidneys, smooth muscle antibodies, mitochondrial autoantibodies, gastric parietal cell autoantibodies

Введение

Заболевания печени — группа наследственных и приобретенных заболеваний с разнообразной клинической картиной [9]. К одним из распространенных заболеваний печени у детей относят аутоиммунный гепатит (АИГ), болезнь Вильсона—Коновалова и другие.

Болезнь Вильсона (БВ) — тяжелое редкое наследственное заболевание, характеризующееся нарушением метаболизма меди и избыточным накоплением меди в различных органах и тканях, что приводит к сочетанному поражению преимущественно паренхиматозных органов (печень) и центральной нервной системы (в чечевидно-

бразных ядрах, в подкорковых ядрах и в коре головного мозга) [4, 9, 10]. Распространенность БВ колеблется от 1:30 000 до 1:100 000 человек [8, 10]. Чаще болезнь встречается у мужчин, чем у женщин [10].

БВ вызвана мутацией в гене *ATP7B*, который кодирует трансмембранную АТФазу, транспортирующую медь, из-за чего избыточно накапливается медь в гепатоцитах, разрушая их и повышая концентрацию свободной меди в сыворотке крови и увеличенной экскреции меди с мочой [4, 9, 10, 11].

БВ у детей отличается широким полиморфизмом клинической симптоматики: дебют заболевания начинается с поражением печени в 5-18 лет (40-45% случаев), в 30% случаев – с развитием неврологических и психических расстройств [4, 9]. БВ является трудно диагностируемым заболеванием печени из-за длительного латентного течения, особенно на начальных этапах заболевания [8]. Поэтому актуальным является изучение пациентов детского возраста с патологией печени неуточненной этиологии для подтверждения/исключения БВ [8].

Описаны случаи, когда БВ может клинически протекать по типу АИГ с выявлением неспецифических аутоантител, что затрудняет дифференциальную диагностику, при этом не исключает аутоиммунный компонент в патогенезе БВ [4]. Описаны случаи обнаружения антител к микросомам печени и почек 1-го типа (ЛКМ-1) у пациентов с БВ после эпизодов отторжения трансплантатов печени [7]. Тем не менее частота выявления наличия специфических аутоантител при БВ не изучена, поэтому следует проявлять настороженность при дифференциальной диагностике печеночной формы БВ и АИГ [13].

АИГ – тяжелое хроническое аутоиммунное воспалительное заболевание печени неизвестной этиологии, характеризующееся продукцией аутоантител к собственным гепатоцитам [1, 3, 7, 14]. АИГ является редким заболеванием, его распространенность в Европе и США колеблется 3-17 случаев на 100 000 человек [3]. В России в структуре хронических гепатитов у детей доля АИГ составляет 2%, лица женского пола болеют чаще [1].

В развитии АИГ одной из основных причин является нарушение иммунотолерантности организма у генетически предрасположенных лиц [1, 3]. Нарушения в иммунной системе могут проявляться дефектом функции регуляторных Т-клеток и наличием аутоантител в крови [1, 3].

Аутоантитела фиксируются на мембране гепатоцитов, способствуя их разрушению собственными лимфоцитами [1, 3].

Одним из критериев постановки диагноза АИГ является повышение титров антиядерного фактора (АНФ) в сыворотке крови [1]. У детей в зависимости от выявленных аутоантител выделяют 2 типа АИГ: АИГ 1-го типа, при котором выявляются специфические аутоантитела к гладкой мускулатуре (ASMA) и/или АНФ и АИГ 2-го типа, при котором выявляются специфические антитела к микросомам печени и почек 1-го типа (ЛКМ-1), и/или антитела к цитозольному антигену печени 1-го типа (LC-1) [1, 3, 7]. АИГ 2-го типа составляет 3-4% от всех случаев АИГ [1, 3]. Антитела к печеночному растворимому антигену (SLA) – аутоантитела, которые специфичны и обладают высокой диагностической значимостью при любом типе АИГ [1].

Определение лабораторных критериев для совершенствования дифференциальной диагностики детей с АИГ и БВ является актуальным в педиатрии.

Цель исследования – выявить особенности определения АНФ на клеточной линии Нер-2 и специфических аутоантител с использованием тройного субстрата у детей с АИГ и БВ.

Материалы и методы

В исследование было включено 62 ребенка с БВ и 28 детей с АИГ, находившиеся на обследовании в гастроэнтерологическом отделении в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Всем детям определяли АНФ на клеточной линии Нер-2 (клетки аденокарциномы гортани человека) с помощью реакции непрямой флюоресценции (РНИФ, AESKUSLIDES® ANA-Нер-2, Германия) с использованием автоматического анализатора HELIOS® (AESKU.GROUP, Германия) [2]. Данное исследование является «золотым стандартом» лабораторной диагностики выявления аутоантител в сыворотке крови [2, 3, 4]. Результат анализа представляет собой информацию о конечной титре и типе свечения ядра и цитоплазмы клеток Нер-2 [3]. Отрицательными значениями считали титры АНФ < 1/160, при титре 1/160 ответ считали низкопозитивным, 1/320-1/640 – умеренно позитивным, 1/1280 и выше – высокопозитивным [3]. Любой из выявленных типов свечений АНФ мы принимали за положительный результат [3].

Всем детям определяли специфические аутоантитела с использованием тройного субстрата, полученного от грызунов, который включает образцы тканей почки, печени и желудка (AESKUSLIDES® LKS Mouse, separated, Германия). Метод основан на РНИФ и позволяет выявить аутоантитела к микросомам печени и почек 1-го типа (LKM-1), к гладким мышцам (ASMA), к митохондриям (AMA), к париетальным клеткам желудка (PCA) [3]. Примеры типов свечения для выявления аутоантител с использованием тройного субстрата представлены на рисунке 1 (см. 3-ю стр. обложки).

Статистическая обработка проводилась в программе Microsoft Excel 2010 с расчетом ошибки среднего для доли варианта и достоверности по t-критерию.

Результаты и обсуждение

Проведенный анализ выявил положительные результаты исследования АНФ у 15 детей из 62 (24%) с БВ. Из них у 10 детей был низкопозитивный титр (1/160 – 16%), у 4 детей – умеренно позитивный титр (1/320–640 – 6%), у 1 ребенка – высокопозитивный титр (1/2560 – 2%). Положительные результаты АНФ получены у 26 детей из 28 (93%) с АИГ. Из них у 5 детей был низкопозитивный титр (18%), у 10 детей – умеренно позитивный титр (36%), у 11 детей – высокопозитивный титр (1/1280–5120 – 39%). Таким образом, получено, что достоверно чаще АНФ выявляется у детей с АИГ по сравнению с БВ ($p < 0,001$; табл. 1).

Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что титры свечения АНФ выше при АИГ, чем при БВ, согласуются с данными литературы [3, 4]. Сообщения о выявлении аутоантител при БВ у детей, представленные клиническими случаями, подтверждаются нашими данными, полученными на большой выборке [4, 9].

При анализе типов свечения АНФ у детей с БВ чаще встречались: гомогенный (33%), гранулярный (27%) и комбинации типов свечения, преимущественно гомогенного и цитоплазматического (13%) (табл. 1). У детей с АИГ чаще встречались комбинации типов свечения, преимущественно гомогенного и цитоплазматического (62%), тогда как гомогенный и гранулярный типы свечения выявлялись в 12% случаев каждый.

Сравнительный анализ типов свечения АНФ у детей с БВ и АИГ показал, что при БВ достоверно чаще встречаются гомогенный ($p < 0,02$) тип свечения. Однако различные комбинации типов

свечения достоверно чаще встречаются при АИГ ($p < 0,001$).

Сопоставление полученных данных о преобладающих типах свечения АНФ у детей при БВ частично согласуется с данными литературы о выявлении преимущественно гранулярного типа свечения, а также гомогенного и комбинации гомогенного и цитоплазматического типов свечения [4].

При исследовании специфических аутоантител с использованием тройного субстрата были выявлены положительные результаты у 34 детей с БВ (55%) и у 26 детей с АИГ (93%). У детей с БВ чаще выявлялись антитела к AMA в 41%, к ASMA в 18%, а также к комбинациям типам свечения, преимущественно к AMA и ASMA – 26%. У детей с АИГ чаще выявлялись антитела к ASMA – 54%, к AMA – 23%, к LKM-1 – 12%. Анализ данных показал, что достоверно чаще специфические аутоантитела на тройном субстрате выявляются у детей с АИГ ($p < 0,001$), чем у детей с БВ.

Сравнительный анализ типов свечения специфических аутоантител на тройном субстрате у детей с БВ и АИГ показал, что при БВ достоверно чаще выявляются комбинации разных типов свечения специфических аутоантител ($p < 0,001$), а при АИГ достоверно чаще встречаются антитела к ASMA ($p < 0,001$).

Аутоантитела у детей с БВ выявляются в 55% случаев, хотя для них характерны менее низкопозитивные титры свечения, как на клеточной линии НЕр-2, так и на тройном субстрате. Аутоантитела у детей с БВ чаще выявляются на тройном субстрате, чем на линии НЕр-2, в связи с тем, что учитываются более низкие титры свечения образца, включая титры 1/20.

Полученные результаты выявления аутоантител у детей с АИГ и БВ согласуются с данными литературы о повышении содержания провоспалительных Th17-лимфоцитов, что характерно для аутоиммунных заболеваний [4, 5].

В настоящий момент продолжается поиск дополнительных специфических маркеров для лабораторной диагностики АИГ и других заболеваний печени. Потенциальным маркером может являться полиреактивный IgG [12].

Заключение

Таким образом, при обследовании ребенка с подозрением на АИГ при выявлении гомогенного типа свечения на клеточной линии НЕр-2 и при комбинации различных типов свечения на тройном субстрате нельзя исключать наличие у пациентов БВ.

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТИПОВ СВЕЧЕНИЯ У ДЕТЕЙ ПРИ БВ И АИГ

TABLE 1. COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE TYPES OF LUMINESCENCE IN CHILDREN WITH WD AND AIH

Типы свечения Types of glow	БВ (n, %) WD (n, %)	АИГ (n, %) AIH (n, %)	Достоверные различия, p Significant difference, p
АНФ на клеточной линии HEp-2 ANF on the HEp-2 cell line			
Гомогенный (h) Homogeneous	5; 33% ±5,9	3; 12% ±6,1	p < 0,02
Гранулярный (sp) Speckled	4; 27% ±5,6	3; 12% ±6,1	–
Цитоплазматический (cytopl) Cytoplasmic	1; 6,5% ±3,1	–	–
Центромерный (centr) Centromere	1; 6,5% ±3,1	–	–
Смешанный Mixed: – h + cytopl – h + sp + cytopl – nucl + cytopl – sp + cytopl – h + sp	4; 27% ±5,6 2; 13% ±4,3 1; 7% ±3,2 1; 7% ±3,2 – –	20; 76% ±8 16; 62% ±9,2 1; 3,5% ±3,5 – 2; 7% ±4,8 1; 3,5% ±3,5	p < 0,001
Всего Total	15; 24% ±5,4	26; 93% ±4,8	p < 0,001
Определение специфических аутоантител на тройном субстрате Determination of specific autoantibodies on a triple substrate			
ASMA	6; 18% ±4,9	14; 54% ±9,4	p < 0,001
AMA	14; 41% ±6,2	6; 23% ±8	–
LKM-1	–	3; 12% ±6,1	–
PCA	1; 3% ±2,2	1; 4% ±3,7	–
Смешанный Mixed: – AMA + ASMA – AMA + PCA – ASMA + PCA – LKM-1 + PCA – ASMA + LKM-1	13; 38% ±6,1 9; 26% ±5,6 2; 6% ±3 1; 3% ±2,2 1; 3% ±2,2 –	2; 7% ±4,8 – – – – 2; 7% ±4,8	p < 0,001
Всего Total	34; 55% ±6,32	26; 93% ±4,8	p < 0,001

Список литературы / References

1. Григорьев К.И., Выхристюк О.Ф. Аутоиммунный гепатит у детей // Лечебное дело, 2022. № 3-4. С. 4-13. [Grigoriev K.I., Vykhristyuk O.F. Autoimmune hepatitis in children. *Lechebnoe delo = Medicine*, 2022, no. 3-4, pp. 4-13. (In Russ.)]
2. Жужула А.А., Курбатова О.В., Сновская М.А., Фисенко А.П., Петричук С.В., Коноплева Т.Н., Семикина Е.Л. Специфические антиядерные антитела при разных типах свечения антиядерного фактора на клеточной линии НЕР-2 у детей с аутоиммунными заболеваниями // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 2. С. 247-254. [Zhuzhula A.A., Kurbatova O.V., Snovskaya M.A., Fisenko A.P., Petrichuk S.V., Konopleva T.N., Semikina E.L. Specific antinuclear antibodies in different fluorescence patterns of antinuclear factor on the НЕР-2 cell line in children with autoimmune diseases. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2025, Vol. 28, no. 2, pp. 247-254. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-17038-SAA.
3. Жужула А.А., Курбатова О.В., Петричук С.В., Парахина Д.В., Сновская М.А., Мовсисян Г.Б., Семикина Е.Л., Потапов А.С., Фисенко А.П. Диагностическая значимость определения антиядерных антител у детей с аутоиммунным гепатитом // Аллергология и иммунология в педиатрии, 2024. № 1. С. 36-40. [Zhuzhula A.A., Kurbatova O.V., Petrichuk S.V., Parakhina D.V., Snovskaya M.A., Movsisyan G.B., Semikina E.L., Potapov A.S., Fisenko A.P. Diagnostic significance of the determination of antinuclear antibodies in children with autoimmune hepatitis. *Allergologiya i immunologiya v pediatrii = Allergology and Immunology in Paediatrics*, 2024, no. 1, pp. 36-40. (In Russ.)]
4. Курбатова О.В., Жужула А.А., Лапин С.В., Сновская М.А., Козлова Д.И., Петричук С.В., Купцова Д.Г., Кузнецова Д.А., Мовсисян Г.Б., Комарова А.Д., Радыгина Т.В., Гуслев А.Б., Холопова И.В., Семикина Е.Л., Макарова С.Г., Потапов А.С., Фисенко А.П. Антиядерные антитела у детей с болезнью Вильсона // Аллергология и иммунология в педиатрии, 2024. № 1. С. 48-52. [Kurbatova O.V., Zhuzhula A.A., Lapin S.V., Snovskaya M.A., Kozlova D.I., Petrichuk S.V., Kuptsova D.G., Kuznetsova D.A., Movsisyan G.B., Komarova A.D., Radygina T.V., Guslev A.B., Kholopova I.V., Semikina E.L., Makarova S.G., Potapov A.S., Fisenko A.P. Antinuclear antibodies in children with Wilson's disease. *Allergologiya i immunologiya v pediatrii = Allergology and Immunology in Paediatrics*, 2024, no. 1, pp. 48-52. (In Russ.)]
5. Курбатова О.В., Мовсисян Г.Б., Петричук С.В., Купцова Д.Г., Демьянов Д.С., Парахина Д.В., Радыгина Т.В., Семикина Е.Л., Потапов А.С., Анушенко А.О., Фисенко А.П. Показатели клеточного иммунитета и метаболизм лимфоцитов у детей с аутоиммунным гепатитом первого типа при разных стадиях фиброза печени // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2024. № 2. С. 75-83. [Kurbatova O.V., Movsesyan G.B., Petrichuk S.V., Kuptsova D.G., Demyanov D.S., Parakhina D.V., Radygina T.V., Semikina E.L., Potapov A.S., Anushenko A.O., Fisenko A.P. Indicators of cellular immunity and lymphocyte metabolism in children with type I autoimmune hepatitis at different stages of liver fibrosis. *Immunopathology, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2024, no. 2, pp. 75-83. (In Russ.)]
6. Курбатова О.В., Мовсисян Г.Б., Петричук С.В., Парахина Д.В., Демьянов Д.С., Купцова Д.Г., Радыгина Т.В., Семикина Е.Л., Потапов А.С., Фрейдлин Е.В. Информативность лабораторных маркеров в оценке стадии фиброза печени у детей с аутоиммунным гепатитом первого типа // Аллергология и иммунология в педиатрии, 2023. № 1. С. 53-55. [Kurbatova O.V., Movsisyan G.B., Petrichuk S.V., Parakhina D.V., Demyanov D.S., Kuptsova D.G., Radygina T.V., Semikina E.L., Potapov A.S., Freidlin E.V. Informative value of laboratory markers in assessing the stage of liver fibrosis in children with type 1 autoimmune hepatitis. *Allergologiya i immunologiya v pediatrii = Allergology and Immunology in Paediatrics*, 2023, no. 1, pp. 53-55. (In Russ.)]
7. Рекомендации EASL по лечению аутоиммунного гепатита // Journal of Hepatology. Русское издание, 2015. Т. 1, № 5. С. 111-150. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://easl.eu/wp-content/uploads/2018/10/2015-AIH_RU.pdf. [EASL recommendations for the treatment of autoimmune hepatitis. *Journal of Hepatology. Russian edition*, 2015, Vol. 1, no. 5, pp. 111-150. [Electronic resource]. Available at: https://easl.eu/wp-content/uploads/2018/10/2015-AIH_RU.pdf. (In Russ.)]
8. Нарушения обмена меди (болезнь Вильсона): клинические рекомендации. М., 2014. 79 с. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/376_3. [Copper metabolism Disorders (Wilson's disease): Clinical Guidelines. Moscow, 2014. 79 p. [Electronic resource]. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/376_3.
9. Фисенко А.П., Сурков А.Н., Потапов А.С., Анушенко А.О., Батырова А.С., Дворяковский И.В., Журкова Н.В., Кулебина Е.А., Кустова О.В., Лазуренко С.Б., Мовсисян Г.Б., Свиридова Т.В., Туманова Е.Л., Четкина Т.С. Болезнь Вильсона у детей. М.: НМИЦ здоровья детей, 2019. 84 с. [Fisenko A.P., Surkov A.N., Potapov A.S., Anushenko A.O., Batoryova A.S., Dvoryakovskiy I.V., Zhurkova N.V., Kulebina E.A., Kustova O.V., Lazurenko S.B., Movsisyan G.B., Sviridova T.V., Tumanova E.L., Chetkina T.S. Wilson's disease in children. М.: НМИЦ здоровья детей, 2019. 84 p. (In Russ.)]

Potapov A.S., Anushenko A.O., Batyrova A.S., Dvoryakovskiy I.V., Zhurkova N.V., Kulebina E.A., Kustova O.V., Lazurenko S.B., Movsisyan G.B., Sviridova T.V., Tumanova E.L., Chetkina T.S. Wilson's disease in children]. Moscow: National Medical Research Center for Children's Health, 2019. 84 p.

10. Циммерман Я.С. Болезнь Вильсона – гепатоцеребральная дистрофия // Клиническая медицина, 2017. Т. 95, № 4. С. 310-315. [Tsimmerman Ya.S. Wilson's disease – hepatocerebral dystrophy. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*, 2017, Vol. 95, no. 4, pp. 310-315. (In Russ.)]

11. Юсупов Ф.А., Юлдашев А.А. Болезнь Вильсона-Коновалова: обзор литературы и случаи из практики // Бюллетень науки и практики, 2023. Т. 9, № 3. С. 194-210. [Yusupov F.A., Yuldashev A.A. Wilson-Konovalov disease: case practices do not decrease literature review. *Byulleten nauki i praktiki = Bulletin of Science and Practice*, 2023, Vol. 9, no. 3, pp. 194-210. (In Russ.)]

12. Engel B., Diestelhorst J., Hupa-Breier K.L., Kirchner T., Henjes N., Loges S., Yuksel M., Janczyk W., Lalanne C., Zachou K., Oo Y.H., Gournay J., Pape S., Drenth J.P.H., Renand A., Dalekos G.N., Muratori L., Socha P., Ma Y., Arikian C., Baumann U., Manns M.P., Wedemeyer H., Junge N., Jaeckel E., Taubert R. Detection of polyreactive immunoglobulin G facilitates diagnosis in children with autoimmune hepatitis. *Hepatology*, 2024, Vol. 18, no. 4, pp. 1214-1226.

13. Gromadzka G., Czerwińska J., Krzemińska E., Przybyłkowski A., Litwin T. Wilson's disease-crossroads of genetics, inflammation and immunity/autoimmunity: clinical and molecular issues. *Int. J. Mol. Sci.*, 2024, Vol. 25, no. 16, 9034. doi: 10.3390/ijms25169034.

14. Klotz W., Herold M. How to test antinuclear antibodies to diagnose autoimmune hepatitis. *J. Hepatology*, Vol. 79, no. 5, pp. e206-e207.

Авторы:

Жужула А.А. — младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Курбатова О.В. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Петричук С.В. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Фисенко А.П. — д.м.н., профессор, директор ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Сновская М.А. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Zhuzhula A.A., Junior Researcher, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Kurbatova O.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Petrichek S.V., PhD, MD (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Fisenko A.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Snovskaya M.A., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Мовсисян Г.Б. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории редких наследственных болезней, врач-гастроэнтеролог гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Потапов А.С. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории научных основ детской гастроэнтерологии и гепатологии, заведующий гастроэнтерологическим отделением с гепатологической группой ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ; профессор кафедры педиатрии и детской ревматологии ФГАОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Семикина Е.Л. — д.м.н., руководитель лабораторного отдела ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ; профессор кафедры педиатрии и детской ревматологии ФГАОУ «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия

Movsisyan G.B., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Rare Hereditary Diseases; Gastroenterologist, Gastroenterology Department with the Hepatological Group, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russian Federation

Potapov A.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Scientific Foundations of Pediatric Gastroenterology and Hepatology, Head of Gastroenterology Department with Hepatology Group, National Medical Research Center of Children's Health; Professor, Department of Pediatrics and Pediatric Rheumatology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Semikina E.L., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory Department, National Medical Research Center of Children's Health; Professor, Department of Pediatrics and Pediatric Rheumatology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Поступила 29.04.2025
Отправлена на доработку 06.05.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 29.04.2025
Revision received 06.05.2025
Accepted 22.06.2025

Т-ЛИМФОЦИТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ОЖГОВОЙ ТРАВМЕ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Костоломова Е.Г., Сахаров С.П., Полянских Е.Д., Лозовая П.Б.

*ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Тюмень, Россия*

Резюме. Механизмы иммунной защиты начинают подавляться при ожоговых травмах при поражении общей площади поверхности тела от 25%. Обследован 31 больной, получавший лечение в ожоговом центре г. Тюмени, из них 19 мальчиков и 12 девочек в возрасте от 1 года до 3 лет, с площадью ожоговых ран II-IIIАБ степени от 7% до 70% поверхности тела. В 100% случаев ожог получен горячими жидкостями. Контрольную группу составили 30 условно здоровых детей в возрасте от 1 года до 3 лет. Венозную кровь получали путем пункции периферической вены и собрали в 2 вакуумные пробирки с К₃ЭДТА в первые 24 часа на 7-е и 20-е сутки после получения травмы, что соответствовало токсической и септикотоксической стадиям ожоговой болезни. Иммунофенотипирование проводили методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD25 и HLA-DR. β 2-микроглобулин (β 2-m) в сыворотке крови определяли методом ИФА. Наблюдалось статистически значимое снижение абсолютного количества CD3-положительных клеток ($p < 0,001$) и соотношения CD4/CD8 ($p < 0,05$) в первые 24 часа по сравнению с контролем. Абсолютное количество клеток CD3⁺ увеличивалось к 20-му дню заболевания ($p < 0,05$). Коэкспрессия CD25 на Т-лимфоцитах незначительно достоверно увеличивается после ожога. Относительное количество CD3⁺HLA-DR⁺ клеток увеличивается уже после 24 часов, после травмы, тогда как абсолютное значение возрастает только через 20 дней ($p < 0,001$). Кроме того, была значительная корреляция между средними значениями β 2-m и значениями экспрессии CD25 ($r = 0,58$) в первые 24 часа после полученной травмы. Значительные отрицательные корреляции были обнаружены между средними значениями β 2-m и абсолютным количеством CD3⁺ клеток в после 24 часов и 7 дней заболевания. Уровень β 2-m в течение всего исследования был значительно выше у пациентов с ожогами, чем у контрольной группы, но без достоверных различий между измерениями через 24 часа, 7 и 20 дней. Полученные данные свидетельствуют о постоянной активации Т-лимфоцитов в течение двадцати дней после сильных ожогов. Раннее выделение β 2-m связано с активацией лимфоцитов и увеличением их восприимчивости к апоптозу, что свидетельствует об измененном иммунном ответе и необходимости поддерживать иммунную систему пациентов в первые часы после сильных ожогов.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, периферическая кровь, Т-лимфоциты, активационные маркеры

Адрес для переписки:

Костоломова Елена Геннадьевна
ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения РФ
625023, Россия, г. Тюмень, ул. Одесская, 54.
Тел.: 8 (3452) 20-00-61.
E-mail: lenakost@mail.ru

Address for correspondence:

Elena G. Kostolomova
Tyumen State Medical University
54 Odesskaya St
Tyumen
625023 Russian Federation
Phone: +7 (3452) 20-00-61.
E-mail: lenakost@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Г. Костоломова, С.П. Сахаров, Е.Д. Полянских,
П.Б. Лозовая «Т-лимфоциты периферической крови
при ожоговой травме у детей раннего возраста»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 979-982.
doi: 10.46235/1028-7221-17259-PBT

© Костоломова Е.Г. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.G. Kostolomova, S.P. Sakharov, E.D. Polyanskiy,
P.B. Lozovaya "Peripheral blood T lymphocytes in burn injury
in young children", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 979-982.
doi: 10.46235/1028-7221-17259-PBT

© Kostolomova E.G. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17259-PBT

PERIPHERAL BLOOD T LYMPHOCYTES IN BURN INJURY IN YOUNG CHILDREN

Kostolomova E.G., Sakharov S.P., Polyanskih E.D., Lozovaya P.B.

Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Abstract. In our study 31 patients were observed and treated at the burn center of Tyumen city, including 19 boys and 12 girls, aged 1 year to 3 years, with the area of burn wounds of II-IIIAB degree from 7% to 70% of the body surface. Flow cytometry method with monoclonal antibodies CD3, CD4, CD8, CD25 and HLA-DR was used for immunophenotyping of blood lymphocytes. β 2-microglobulin (β 2-MG) was determined in blood serum using ELISA technique. The venous blood samples conserved with EDTA were taken and analyzed at 24 hours, 7 and 20 days after the injury, thus corresponding to toxic and septic/toxic phase of the disease. Results: There was a statistically significant decrease in the absolute numbers of CD3-positive cells ($p < 0.001$) and the ratio of CD4/CD8 ($p < 0.05$) within 24 hours after burn against reference values. The absolute number of CD3⁺ cells was increased by day 20 of the disease ($p < 0.05$), yet being under control counts. The number of CD25-expressing T cells did not significantly increase after a burn. Meanwhile, The absolute counts of HLA-DR significantly increase after 20 days ($p < 0.001$). In addition, there was a significant correlation between the mean values of β 2-MG and the levels of CD25 expressing cells ($r = 0.58$) in the first 24 hours after the injury. Significant negative correlations were found between the average values of β 2-MG and the absolute numbers of CD3⁺ and CD4⁺ cells after 24 hours and 7 days of illness. The average values of β 2-m throughout the duration of the study were significantly higher in patients with burns than in control group, but without significant differences between measurements at 24 hours, 7 or 20 days. The data obtained indicate a constant activation of T cells twenty days after severe burns. Early release of β 2-MG is associated with activation of lymphocytes increasing their susceptibility to apoptosis, thus suggesting an altered immune response and a need to support the immune system of patients during first hours after severe burns.

Keywords: burn disease, peripheral blood, T lymphocytes, activation markers

Введение

При ожоговой травме инфекционные осложнения по-прежнему являются важной причиной заболеваемости и смертности. Механизмы иммунной защиты начинают подавляться при ожоговых травмах при поражении общей площади поверхности тела от 25%. В научной литературе факт антиген-неспецифической активации Т-лимфоцитов активно обсуждается с позиций физиологической и иммунопатологической модуляции активности иммунного ответа [1, 2, 3]. На основании исследований *in vitro* маркеры активации Т-лимфоцитов были классифицированы как ранние (CD25), поздние (HLADR) в зависимости от их экспрессии во времени после активации [5]. В связи с этим, логичным является выяснение роли активированных Т-лимфоцитов в патогенезе ожоговой болезни, предполагается, что антигены HLA могут модулировать функцию лимфоцитов путем ингибирования через блокаду их рецепторов или путем индукции апоптоза, вызывая тем самым послеожоговый иммунодефицит [6].

Цель работы – изучить иммунологические показатели, оценить уровень экспрессии активаци-

онных маркеров CD25 и HLA-DR Т-лимфоцитами и их связь с β 2-микроглобулином (β 2-m) у детей раннего возраста с ожоговой болезнью.

Материалы и методы

Были обследованы 31 больной, лечившийся в ожоговом центре г. Тюмени, из них 19 мальчиков и 12 девочек в возрасте от 1 года до 3 лет, с площадью ожоговых ран II-IIIAB степени от 7% до 70% поверхности тела. В 100% случаев ожог получен горячими жидкостями. Венозную кровь получали путем пункции периферической вены и собрали в 2 вакуумные пробирки с K₃ЭДТА в первые 24 часа на 7-е и 20-е сутки после получения травмы, что соответствовало токсической и септикотоксической стадиям ожоговой болезни. Контрольную группу составили 30 условно здоровых детей в возрасте от 1 года до 3 лет. Все исследования выполнены в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2013). Общий анализ крови выполняли с использованием автоматического анализатора Mindray BC 5500 (Китай). Подготовку образцов периферической крови и настройку проточного цитофлуориметра проводили с учетом рекомендаций Хайдукова с соавторами [4]. Анализ субпо-

пуляционного состава проводили методом многоцветной проточной цитометрии на приборе Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США) с применением программного обеспечения СХР 2.0. Для окрашивания клеток цельной крови использовали моноклональные антитела CD4, CD8, CD3, CD25, HLA-DR (Beckman Coulter, США). Лизис эритроцитов проводили с использованием лизирующего раствора VersaLyze (Beckman Coulter, США). Обнаружение $\beta 2$ -m проводили с использованием набора для иммуноферментного анализа (ORGENTEC Diagnostika, США). Регистрацию результатов проводили на фотометре Multiskan (Labsistem, Финляндия).

Статистическую обработку проводили при помощи программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США). Сравнительные исследования проводились с использованием t-критерия Стьюдента. Корреляции между количественными переменными были выполнены с использованием корреляции Пирсона.

Результаты и обсуждение

При анализе субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у детей раннего возраста с ожоговой болезнью наблюдалось статистически значимое снижение относительного ($40,7 \pm 7,0$ и $66,8 \pm 6,3$ соответственно ($p < 0,05$)) и абсолютного ($5,8 \pm 1,3$ и $19,5 \pm 1,2$ соответственно ($p < 0,001$)) количества CD3⁺ клеток и соотношения CD4/CD8 ($p < 0,05$) в первые 24 часа по сравнению с контрольной группой. Абсолютное и относительное количество CD3⁺ клеток увеличивалось к 20-му дню заболевания ($58,5 \pm 5,1$ и $66,8 \pm 6,3$ соответственно) и абсолютного ($12,3 \pm 3,9$ и $19,5 \pm 1,2$ соответственно ($p < 0,05$)), но все еще оставалось меньше контрольных цифр. Однако соотношение CD4/CD8, достоверно снижаясь в первые 24 часа, в последующем не отличалось от показателей контрольной группы на протяжении всего периода исследования.

Относительное количество CD25 позитивных Т-лимфоцитов после ожога увеличивалось только к 20-му дню заболевания ($12,7 \pm 4,1$ и $5,3 \pm 2,5$ соответственно ($p < 0,001$)). Однако ко-экспрессия позднего активационного маркера HLA-DR на Т-лимфоцитах обнаруживалась уже через 24 часа после полученной травмы ($7,3 \pm 1,7$ и $3,1 \pm 1,2$ в контрольной группе ($p < 0,05$)). Количество CD3⁺ HLA-DR⁺ лимфоцитов последовательно достоверно возрастало на 7-й ($p < 0,01$) и 20 ($p < 0,001$) день заболевания. Абсолютное количество CD25⁺Т-клеток у пациентов с ожогами было ниже ($p < 0,05$), чем в контрольной группе в течение всего периода исследования, тогда как количество HLA-DR⁺Т-лимфоцитов достоверно увеличилось на 20-й день после полученной

травмы ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Средние значения $\beta 2$ -m в течение всей продолжительности исследования были значительно выше у пациентов с ожогами, чем у контрольной группы ($2,8 \pm 1,3$ мг/л; $2,9 \pm 0,7$ мг/л; $3,3 \pm 1,2$ мг/л и $0,7 \pm 0,1$ мг/л соответственно ($p < 0,001$)), но без существенных различий между измерениями через 24 часа, 7 или 20 дней. Значительные отрицательные корреляции были обнаружены между $\beta 2$ -m и абсолютными значениям CD3⁺ клеток через 24 часа ($r = -0,71$) и через 7 дней ($r = -0,63$) после начала заболевания. Кроме того, была значительная положительная корреляция между показателями средних значений $\beta 2$ -m и значений экспрессии CD25 ($r = 0,58$) через 24 часа после ожога.

Иммунодефицит после ожоговой травмы может быть вызван значительным уменьшением абсолютного количества CD3⁺ и снижением иммунорегуляторного индекса CD4/CD8 на первой неделе после ожога, что объясняет и присоединение бактериальной коинфекции, и увеличение числа случаев сепсиса. Ожоговый токсин, характеризующийся как полимеризованный комплекс липидных белков клеточной мембраны, возможно, ингибирует пролиферацию нормальных Т-лимфоцитов в ответ на стимуляцию. Обширная деструкция тканей по механизму некроза может быть одной из причин повышения уровня $\beta 2$ m в сыворотке крови, что приводит к значительному уменьшению количества лимфоцитов. Увеличение $\beta 2$ -m в крови пациентов с ожоговой травмой может быть следствием активации клеток, участвующих в компенсаторных механизмах после ожоговой травмы, таких как повышение экспрессии HLA-DR на Т-лимфоцитах уже через 24 часа. Значительная положительная корреляция между показателями $\beta 2$ -m и экспрессией CD25 через 24 часа позволяет предположить, что синтез $\beta 2$ -m в первые дни заболевания вызывает гибель CD4⁺ лимфоцитов, что подтверждается достоверным снижением соотношения CD4/CD8 в первые 24 часа. Значительная отрицательная корреляция между $\beta 2$ -m и абсолютными значениям CD3⁺ лимфоцитов через 24 часа и через 7 дней после полученной термической травмы говорит о возможности $\beta 2$ -m ингибировать функцию Т-клеток за счет блокады рецепторов или индукции апоптоза.

Выводы

Нарушение функций Т-лимфоцитов, регулирующих иммунный ответ, и их гибель может являться важным следствием системной иммуносупрессии при ожоговой болезни. Полученные данные свидетельствуют о постоянной активации Т-лимфоцитов через две недели после

сильных ожогов, тогда как раннее выделение $\beta 2$ -m усиливает активацию лимфоцитов, увеличивая их восприимчивость к апоптозу, что свидетельствует об измененном иммунном ответе. Результаты исследования позволяют предположить, что поддержка иммунной системы гораздо важнее в первые часы после ожоговой трав-

мы. Контроль за иммунологическим состоянием пациентов наряду со специфической антимикробной терапией, а также гемодинамическим и электролитным балансом позволит избежать бактериальной коинфекции с ожидаемым более быстрым заживлением ран или успешной трансплантацией кожи.

Список литературы / References

1. Жданова Е.В., Костоломова Е.Г., Волкова Д.Е., Зыков А.В. Клеточный состав и цитокиновый профиль синовиальной жидкости при ревматоидном артрите // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 5. С. 1017-1026. [Zhdanova E.V., Kostolomova E.G., Volkova D.E., Zykov A.V. Cellular composition and cytokine profile of synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, Vol. 24, no. 5, pp. 1017-1026. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-ССА-2520.
2. Костоломова Е.Г., Суховой Ю.Г., Унгер И.Г., Акунеева Т.В., Кривоносова О.А., Зенкова Т.В., Макеева О.В., Швец О.Ю. Цитометрический анализ экспрессии маркеров активации на CD4 Т-лимфоцитах при ревматоидном артрите // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 2. С. 332-334. [Kostolomov E.G., Sukhovey Yu.G., Unger I.G., Akuneeva T.V., Krivonosova O.A., Zenkova T.V., Makeeva O.V., Shvets O.Yu. Cytometric analysis of the expression of activation markers on CD4 T-lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13 (22), no. 2, pp. 332-334. (In Russ.)] doi: 10.31857/S102872210006618-4.
3. Костоломова Е.Г., Стрелин С.А., Суховой Ю.Г., Унгер И.Г., Акунеева Т.В., Марков А.А., Полянских Е.Д. Функция Т-лимфоцитов кожи человека в заживлении ран в эксперименте *in vitro* // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 2. С. 115-122. [Kostolomova E.G., Strelin S.A., Sukhovei Y.G., Unger I.G., Akuneeva T.V., Markov A.A., Polyanskikh E.D. Function of human skin T cells in wound healing in the *in vitro* experimental setting. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no. 2, pp. 115-122. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-12430-FOH.
4. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (проект) // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaydukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolyan A.A. Standardized technology “Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorimeter analyzers” (project). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.
5. Moore T.L. Immune complexes in juvenile idiopathic arthritis. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 177. doi: 10.3389/fimmu.2016.00177.
6. Puppo F., Contini P., Ghio M., Brenci S., Scudeletti M., Filaci G., Ferrone S., Indiveri F. Soluble human MHC class I molecules induce soluble Fas ligand secretion and trigger apoptosis in activated CD8(+) Fas (CD95) (+) T lymphocytes. *Int. Immunol.* 2000, Vol. 12, no. 2, pp. 195-203.

Авторы:

Костоломова Е.Г. — к.б.н., доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Сахаров С.П. — к.м.н., доцент, заведующий кафедрой мобилизационной подготовки здравоохранения и медицины катастроф ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Полянских Е.Д. — студент Института материнства и детства ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Лозовая П.Б. — студент Института клинической медицины ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

Authors:

Kostolomova E.G., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Sakharov S.P., PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Mobilization Training of Health Care and Disaster, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Polyanskikh E.D., Student, Institute of Motherhood and Childhood, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Lozovaya P.B., Student, Institute of Clinical Medicine, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

РЕКОНСТРУКТИВНОЕ ИММУНОМОДУЛИРОВАНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТИМИЧЕСКОГО ГЕКСАПЕПТИДА КОЛИЧЕСТВА И ФЕНОТИПА СУБПОПУЛЯЦИЙ CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ И CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ДЕСТРУКТИВНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ АССОЦИИРОВАНО С ПОЗИТИВНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ

Нестерова И.В.^{1,2}, Чудилова Г.А.¹, Сафонцева А.Д.¹, Чапурина В.Н.¹,
Лягуша Д.Э.³, Барова Н.К.^{1,3}

¹ ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Краснодар, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

³ ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница», г. Краснодар, Россия

Резюме. Дисфункции нейтрофильных гранулоцитов (НГ) являются решающими факторами в развитии и прогрессировании нетипично протекающих гнойно-воспалительных заболеваний, в том числе острой деструктивной пневмонии (ОДП) у детей. Включение в комплексное лечение иммунокорректирующей терапии, способствующей восстановлению функций НГ, является перспективным. Цель — на базе уточнения особенностей дефектного функционирования НГ, связанных с изменением соотношения и фенотипа субпопуляций CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻НГ и CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺НГ детей с ОДП, оценить клинико-иммунологическую эффективность применения в комплексном послеоперационном лечении иммуномодулирующей терапии с использованием фармпрепарата, действующей субстанцией которого является синтетический тимический гексапептид. Исследованы дети 2-4 лет: с диагнозом ОДП (n = 21) — группа исследования (ГИ) до комплексного лечения и группа после лечения (ГИ1) с включением гексапептида (фпГП),

Адрес для переписки:

Нестерова Ирина Вадимовна
ФГАОУ ВО «Российский университет
дружбы народов имени Патриса Лумумбы»
117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.
Тел.: 8 (916) 187-73-41.
E-mail: inesterova1@yandex.ru

Address for correspondence:

Irina V. Nesterova
P. Lumumba Peoples' Friendship University of Russia
6 Miklouho-Maclay St
Moscow
117198 Russian Federation
Phone: +7 (916) 187-73-41.
E-mail: inesterova1@yandex.ru

Образец цитирования:

И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, А.Д. Сафонцева,
В.Н. Чапурина, Д.Э. Лягуша, Н.К. Барова
«Реконструктивное иммуномодулирование под
влиянием тимического гексапептида количества
и фенотипа субпопуляций CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻
и CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ нейтрофильных
гранулоцитов у детей с острыми деструктивными
пневмониями ассоциировано с позитивной клинической
эффективностью» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 983-992.
doi: 10.46235/1028-7221-17283-RIU

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

For citation:

I.V. Nesterova, G.A. Chudilova, A.D. Safontseva,
V.N. Chapurina, D.E. Lyagusha, N.K. Barova
“Reconstructive immunomodulation under the influence
of thymic hexapeptide of number and phenotype
of subsets CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ and
CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ of neutrophilic granulocytes
in children with acute destructive pneumonia, is associated with
positive clinical efficacy”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4,
pp. 983-992.
doi: 10.46235/1028-7221-17283-RIU

© Nesterova I.V. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-17283-RIU

20 условно здоровых детей – группа сравнения (ГС), 20 детей с ОДП – архивная группа сравнения (аГС). Функции НГ оценивали по содержанию субпопуляций CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ и CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ (FC500, Beckman Coulter, США), показателям, характеризующим фагоцитоз (%ФАН, ФЧ, ФИ, %П, ИП), активность NADPH-оксидаз (%ФПК, СЦИ) в NBT-тесте. Установлено, что при ОДП у иммунокомпрометированных детей происходит трансформация фенотипа физиологической субпопуляции на CD16^{dim}CD62L^{dim}CD11b^{bright}CD63⁻ НГ с неполноценными иммунными свойствами, увеличение в 3 раза содержания НГ-субпопуляции с гиперактивированным фенотипом CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{bright}CD63^{bright} ($p < 0,05$), дефектом фагоцитарной функции, но повышением оксидазной активности ($p_{1,2} < 0,05$). После комплексного лечения с включением фпГП отмечалась нормализация эффекторных функций НГ, ассоциированная с ремоделированием фенотипов и восстановлением соотношения субпопуляций. Выявлена позитивная клиническая динамика относительно аГС, получавших традиционное лечение: высокая величина эффекта снижения длительности лихорадки ($|\delta| = 0,98$), дыхательной недостаточности ($|\delta| = 0,99$), более быстрая регрессия плеврального выпота ($|\delta| = 0,96$) и раннее удаление дренажей ($|\delta| = 1,00$). Полученные результаты свидетельствуют о выраженной позитивной клинико-иммунологической эффективности применения фпГП в комплексном лечении детей с ОДП.

Ключевые слова: дети, острая деструктивная пневмония, гексапептид, нейтрофильные гранулоциты, субпопуляции, эффекторные функции, иммунотерапия

RECONSTRUCTIVE IMMUNOMODULATION UNDER THE INFLUENCE OF THYMIC HEXAPEPTIDE OF NUMBER AND PHENOTYPE OF SUBSETS CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ AND CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN CHILDREN WITH ACUTE DESTRUCTIVE PNEUMONIA, IS ASSOCIATED WITH POSITIVE CLINICAL EFFICACY

Nesterova I.V.^{a,b}, Chudilova G.A.^a, Safontseva A.D.^a, Chapurina V.N.^a, Lyagusha D.E.^c, Barova N.K.^{a,c}

^a Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

^b P. Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

^c Children's Regional Clinical Hospital, Krasnodar, Russian Federation

Abstract. Dysfunction of neutrophilic granulocytes (NG) is a decisive factor in the development and progression of atypical purulent-inflammatory diseases, including acute destructive pneumonia (ADP) in children. A promising approach is to include immunocorrective therapy in complex treatment, thus promoting recovery of NG functions. The objective of this study was to assess the features of defective NG functioning associated with changes in relative contents and phenotype of CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ and CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ neutrophil subsets in children with ADP, to evaluate clinical and immunological effectiveness of immunomodulatory therapy in complex postoperative treatment using a pharmaceutical drug with a synthetic thymic hexapeptide (pdHP) being the active substance. The study included 21 children aged 2-4 years: with a diagnosis of ADP (study group, SG) before complex treatment, and a group after treatment with hexapeptide (SG1). The comparison group included 20 conditionally healthy children (CG), Twenty children treated for ADP comprised the archival comparison group (aCG). The functions of NG were assessed by the content of CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ and CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ subsets using FC500 (Beckman Coulter) device. We also determined indices characterizing phagocytosis (%PAN, PN, PI, %D, ID), NADPH oxidase activity (%PPC, MCI) in the NBT test. We have found a phenotypic transformation

of physiological subset to CD16^{dim}CD62L^{dim}CD11b^{bright}CD63⁻ NG with defective immune properties, a 3-fold increase in the content of NG subset with hyperactivated phenotype CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{bright}CD63^{bright} ($p < 0.05$), a defect in phagocytic function, but increased oxidase activity ($p_{1,2} < 0.05$) in immunocompromised children with ADP. After complex treatment with the inclusion of hexapeptide, we observed normalization of NG effector functions associated with phenotype remodeling and restoration of the subpopulation ratio. Positive clinical dynamics was revealed when compared with aCG children receiving conventional therapy, i.e., a significant reduction in fever duration ($|\delta| = 0.98$), respiratory failure ($|\delta| = 0.99$), more rapid regression of pleural effusion ($|\delta| = 0.96$) and early removal of drainages ($|\delta| = 1.00$). The obtained results indicate a pronounced positive clinical and immunological efficiency of pdHP usage in complex treatment of children with ADP.

Keywords: children, acute destructive pneumonia, hexapeptide, neutrophilic granulocytes, subsets, effector functions, immunotherapy

Работа выполнена в рамках государственного задания (проект тематик научных исследований № 1024021500107-5 от 15.02.2024).

Введение

В настоящее время результаты многочисленных исследований, составляют большую базу новых убедительных данных, подтверждающих важную роль мультивариантных дефектов, функционирующих нейтрофильных гранулоцитов (НГ) в иммунопатогенезе нетипично протекающих инфекционно-воспалительных, в том числе гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) [1]. НГ проявляют мощные антимикробные функции, включая фагоцитоз, продукцию активных форм кислорода, формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET). Признано, что НГ являются транскрипционно активными сложными клетками, которые продуцируют цитокины, модулируют активность других соседних клеток и способствуют разрешению воспаления [5, 11]. Множество функциональных реакций НГ индуцируется активацией транскрипции и изменениями плотности экспрессии поверхностных молекул, в частности CD11b, CD16, CD32, CD64, CD62L-молекул и повышением или снижением активности [9, 14].

Современные методы проточной цитометрии позволяют оценить плотность экспрессии поверхностных мембранных рецепторов, зарегистрировать поляризацию фенотипа в определенную субпопуляцию НГ в ответ на индуцирующие сигналы при ГВЗ и определить взаимосвязь с эффекторным функциональным потенциалом НГ [5]. Различные субпопуляции НГ способны оказывать как позитивное влияние на течение инфекционно-воспалительного процесса – способствовать его регрессии, так и обладать негативным супрессирующим влиянием на иммунную систему (ИС), что приводит к утяжелению гнойно-воспалительных процессов или к возникновению рецидивирующих нетипично протекающих ГВЗ, не поддающихся традиционному

лечению, предусмотренному клиническими рекомендациями [6, 13].

Внебольничная пневмония является одной из ведущих тяжелых инфекций у детей, особенно среди детей в возрасте до пяти лет, вызывая в глобальном масштабе 14% летальных исходов в этой возрастной группе [12]. Легочные, легочно-плевральные и системные осложнения развиваются у 7-10% заболевших [7]. Острая деструктивная пневмония (ОДП) – наиболее тяжелое заболевание у детей, характеризуется некрозом с последующим гнойным расплавлением легочной ткани. Основными возбудителями, ассоциированными с деструкцией легких у детей, считаются *S. pneumoniae*, *S. aureus*, нередко MRSA [2, 7]. Несмотря на совершенствование методов диагностики и возможности использования антибиотиков широкого спектра действия на старте терапии и различных хирургических пособий, частота гнойно-деструктивных осложнений остается высокой [2].

Дефекты функционирования иммунной систем (ИС) и, в первую очередь, НГ являются неоспоримым фактором развития, тяжести течения, распространенности гнойно-воспалительного процесса [6]. Оперативные вмешательства, стресс, воздействие высокоинтенсивной антибиотикотерапии у детей с ОДП, в свою очередь, приводят к усугублению имеющихся дисфункций ИС и иммунопатологических состояний [3, 8].

Несмотря на значительный опыт как отечественных, так и зарубежных исследователей в применении различных методов лечения ОДП, на сегодняшний день отсутствует единый консенсус по ведению детей с этим заболеванием. Особая актуальность принадлежит методологии междисциплинарного, патогенетически обоснованного подхода в комплексной терапии, соединяющий хирургические и консервативные методы лечения, направленные на устранение инфекционного агента, удаление токсических веществ, купированию дыхательных нарушений, а также восстановлению нормального функцио-

нирования ИС. Перспективным направлением в решении этих задач является внедрение иммунокорректирующей терапии в комплекс лечебных мероприятий [8].

Цель исследования — на базе уточнения особенностей дефектного функционирования НГ, связанных с изменением соотношения и фенотипа субпопуляций CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻НГ и CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺НГ детей с острыми деструктивными пневмониями, оценить клинико-иммунологическую эффективность применения в комплексном послеоперационном лечении иммуномодулирующей терапии с использованием фармпрепарата, действующей субстанцией которого является синтетический тимический гексапептид.

Материалы и методы

В группу исследования вошли дети 2-4 лет: с диагнозом ОДП (n = 21, 11 мальчиков и 10 девочек) — группа исследования (ГИ), 20 условно здоровых детей (10 мальчиков и 10 девочек) — группа сравнения (ГС). «Критерии включения в ГИ: клинические признаки вторичного иммунодефицита (острые респираторные вирусные инфекции более 10 раз в год, длительностью более 2 недель, которые часто осложнялись присоединением острой или обострением хронической бактериальной инфекции респираторного тракта и ЛОР-органов); снижение чувствительности к стандартной антибактериальной терапии». Исследование получило одобрение локального этического комитета ФГБОУ ВО «КубГМУ» Министерства здравоохранения России.

Для подтверждения клинической эффективности применения фармацевтического препарата гексапептид в комплексной терапии детей с ОДП были проанализированы данные ретроспективного исследования показателей детей, получавших традиционное лечение — архивная группа для сравнения (n = 20, аГС).

Детям ГИ с ОДП с 1-х суток послеоперационного периода в комплексную терапию был включен фармпрепарат «Имунофан», с действующим веществом — аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин диацетат (гексапептид, фпГП). Препарат разрешен для использования у детей с 2 лет в комплексной терапии вторичных иммунодефицитных и токсических состояний. Применение фармпрепарата основывается на признанных и подтвержденных эффектах иммунорегуляции, включая влияние на количество и активность НГ, Т-лимфоцитов, а также уровень иммуноглобулинов [15]. Также следует отметить его детоксикационные и гепатопротективные свойства, а также способность к инактивации

свободнорадикальных и перекисных соединений [4].

Оценка эффективности иммулотропной терапии фпГП до (ГИ) и после лечения (ГИ1) осуществлялась детекцией содержания НГ 2 субпопуляций, определяющих процессы активации микробцидных функций: CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ и CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺, плотности экспрессии (MFI) поверхностных мембранных рецепторов CD16 (FcγRIII), CD62L (L-селектин), CD11b (Mac-1, CR3A, CD63 (тетраспанин-3) (Cytometer FC 500, Beckman Coulter, США). Функции НГ тестировали по показателям фагоцитоза: %ФАН — доля активно фагоцитирующих НГ, ФЧ, ФИ отражающие способность захвата *S. aureus*, завершенность фагоцитоза — %П, ИП). В NBT-тесте (спонтанном и стимулированном *S. aureus*) определяли NADPH-оксидазную активность, по доле формазан-позитивных клеток (%ФПК) и среднему цитохимическому индексу (СЦИ).

Статистическая обработка проведена в программе IBM SPSS Statistic 20. Нормальность распределения данных в исследуемых выборочных совокупностях определена по критерию Шапиро—Уилка. Различия между независимыми выборками устанавливались по непараметрическому критерию Манна—Уитни. Результаты представлены медианой и квартильным диапазоном (Me (Q_{0,25}–Q_{0,75})). Статистически значимыми определены различия при p < 0,05. Для корректировки значения p с учетом множественных сравнений применялась поправка Холма—Бонферрони. Для определения размера эффекта рассчитывалось значение дельты Клиффа.

Результаты и обсуждение

Анализ иммунологических показателей детей ГИ выявил повышение общего количества лейкоцитов до 13,3 (9,9–16,0) × 10⁹/л относительно 6,3 (5,7–7,0) × 10⁹/л в ГС (p < 0,05), увеличение количества НГ до 56,0 (49,0–66,0) % и доли палочкоядерных форм (ПЯЛ) — 7,5 (4,0–9,5) %, относительно 44,3 (39,9–47,3) %, ПЯЛ — 2,0 (1,0–3,0) % в ГС (p_{1,2} < 0,05).

Фенотипирование в ПК НГ детей ГС и ГИ выявило две субпопуляции НГ — CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ и CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ характеризующиеся разным уровнем экспрессии рецепторов по MFI.

Так, в ГС доля субпопуляции CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻НГ составила 94,9 (93,5–96,8) %, а CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ — 3,5 (1,5–4,5) %. Данные субпопуляции имели схожую плотность экспрессии CD16 и CD11b рецепторов (p_{1,2} > 0,05). Тем не менее субпопуляция CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺, экспресси-

ТАБЛИЦА 1. СООТНОШЕНИЕ И ФЕНОТИП СУБПОПУЛЯЦИЙ CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ И CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ДЕТЕЙ С ОСТРОЙ ДЕСТРУКТИВНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. RATIO AND PHENOTYPE OF CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ AND CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ NEUTROPHIL GRANULOCYTES SUBSETS IN CHILDREN WITH ACUTE DESTRUCTIVE PNEUMONIA BEFORE AND AFTER TREATMENT, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Indicators	Группа сравнения Comparison group	Группа исследования до лечения, (ГИ) Study group before treatment (SG)	Группа исследования после лечения, (ГИ1) Study group after treatment (SG1)
CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻НГ CD16 ⁺ CD62L ⁺ CD11b ⁺ CD63 ⁻ NG			
	CD16 ^{bright} CD62L ^{bright} CD11b ^{mid} CD63 ⁻	CD16 ^{dim} CD62L ^{dim} CD11b ^{bright} CD63 ⁻	CD16 ^{bright} CD62L ^{bright} CD11b ^{mid} CD63 ⁻
НГ, % NG, %	94,9 (93,5-96,8)	88,6 (83,5-91,0)*	94,2 (93,4-97,7) [^]
MFI CD16	129,5 (115,7-131,7)	83,4 (63,2-104,0) *	120 (91,7-193,0)
MFI CD62L	7,1 (6,4-9,3)	5,8 (4,5-6,2)*	11,4 (7,7-19,8) [^]
MFI CD11b	16,4 (9,6-20,9)	25,6 (21,6-34,7)*	26,5 (15,2-32,3)
CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺НГ CD16 ⁺ CD62L ⁺ CD11b ⁺ CD63 ⁺ NG			
	CD16 ^{bright} CD62L ^{bright} CD11b ^{mid} CD63 ^{dim}	CD16 ^{bright} CD62L ^{bright} CD11b ^{bright} CD63 ^{bright}	CD16 ^{bright} CD62L ^{bright} CD11b ^{bright} CD63 ^{dim}
НГ, % NG, %	3,5 (1,5-4,5)	11,7 (6,6-14,6)*	3,1 (2,0-4,3) [^]
MFI CD16	127,0 (112,7-130,0)	124,5 (65,5-153,2)	104,9 (47,5-175,8)
MFI CD62L	4,5 (3,5-6,8)	7,5 (7,3-11,0)*	6,7 (6,8-17,4)
MFI CD11b	15,4 (14,9-15,9)	26,5 (16,6-32,8)*	24,6 (17,7-35,2)*
MFI CD63	2,2 (1,7-3,2)	3,6 (3,4-4,9)*	3,0 (2,2-3,3)*

Примечание. * – различия показателей ГИ и ГИ1 относительно ГС, p < 0,05; ^ – различия между показателями ГИ и ГИ1, p < 0,05.

Note. *, differences in indicators of the study groups with acute destructive pneumonia relativity from the indicators of conditionally healthy children, p < 0.05; ^, differences between study groups, p < 0.05.

рующая CD63 с плотностью по MFI 2,2 (1,7-3,2) характеризовалась более низким уровнем молекул CD62L – 4,5 (3,5-6,8) против 7,1 (6,4-9,3) (p > 0,05) (табл. 1).

В ГИ при ОДП отмечено снижение в ПК количества НГ субпопуляции CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ до 88,6 (83,5-91,0) % (p < 0,05) относительно ГС и изменение их фенотипа: уменьшение плотности экспрессии CD16 – 83,4 (63,2-104,0) (p < 0,05)

и CD62L до 5,8 (4,5-6,2) (p < 0,05) и повышение MFI CD11b (p < 0,05) относительно ГС. Такая трансформация фенотипа НГ из CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{mid}CD63⁻НГ, который характерен для функционально-зрелых клеток на CD16^{dim}CD62L^{dim}CD11b^{bright}CD63⁻, описанный в литературе для НГ с неполноценными иммунными свойствами [9, 10]. Помимо этого, установлено, что содержание НГ субпопуляции CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺ увеличилось в 3

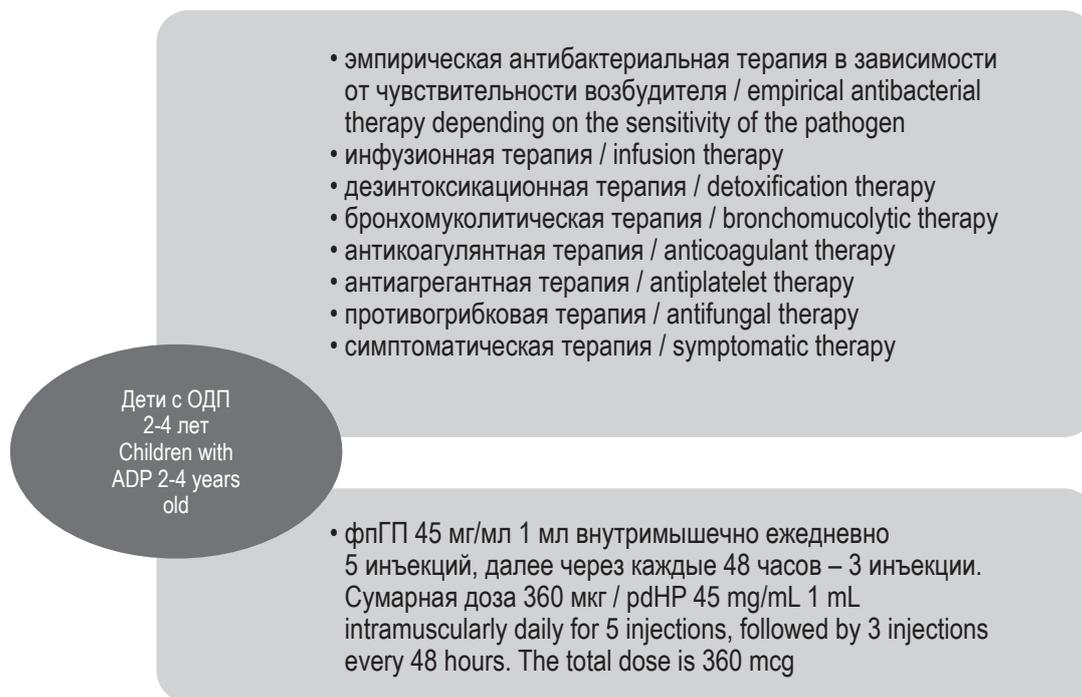


Рисунок 1. Программа комплексной терапии в лечении детей 2-4 лет с острыми деструктивными пневмониями

Figure 1. Complex therapy program for the treatment of children 2-4 years old with acute destructive pneumonia

раза относительно ГС ($p < 0,05$). Субпопуляции характеризовались активированным фенотипом – $CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{bright}CD63^{bright}$, что связано с повышенной плотностью экспрессии рецепторов – $CD11b$ (в 1,7 раза, $p < 0,05$) и $CD63$ (в 1,6 раза, $p < 0,05$).

Изменение содержания, а также перераспределение соотношения исследуемых субпопуляций НГ и изменение их фенотипов сопровождалось снижением их фагоцитарной активности. Было установлено неадекватное для тяжелого воспалительного процесса при ОДП повышение %ФАН до 59,0 (50,0-64,0) % относительно показателей в ГС (55,8 (54,8-58,8) %, $p > 0,05$), снижение значений ФЧ – 2,8 (2,6-2,9) относительно 4,0 (3,7-4,3) ($p < 0,05$) и ФИ 1,8 (1,4-1,9) относительно 2,5 (1,8-3,3) в ГС ($p > 0,05$), отражающих процессы захвата, а также переваривающей способности: %П – 44,2 (39,4-49,0) % относительно 60,0 (57,9-62,9) % и ИП – 0,8 (0,6-0,9) относительно 1,3 (1,2-1,4) в ГС ($p_{1,2} < 0,05$). Вместе с тем в ГИ регистрировалось повышение NADPH-оксидазной активности как в NBT спонтанном, так и в NBT стимулированном тесте (%ФПКсп – 6,0 (5,5-14,0) % относительно 3,5 (3,0-4,0) % в ГС, СЦИсп – 0,15 (0,1-0,3) относительно 0,07 (0,01-0,08) в ГС; $p_{1,2} < 0,05$); %ФПКст – 15,5 (7,0-19,9) % относительно 4,5 (4,0-8,0) % в ГС, СЦИст – 0,6 (0,22-1,0) относительно 0,17 (0,1-0,2) в ГС ($p_1 < 0,05$, $p_2 > 0,05$).

Учитывая установленные дефекты НГ, касающиеся изменений фенотипа исследуемых субпопуляций, а также их количественного содержания и соотношения, сопровождающиеся снижением миграции НГ в очаг воспаления, адгезивных и фагоцитарных функций и, напротив, усилением активации NADPH-оксидазной активности, была предложена программа иммуномодулирующей терапии с включением фпГП (рис. 1).

В до- и послеоперационный период детям с ОДП назначалось комплексное лечение, которое обязательно включало эмпирическую антибактериальную терапию на начальном этапе, с дальнейшей корректировкой курса в соответствии с чувствительностью определенного возбудителя, объемную сопроводительную поддержку (рис. 1).

После лечения (ГИ1) выявлено увеличение содержания НГ субпопуляции $CD16^{+}CD62L^{+}CD11b^{+}CD63^{-}$ до 94,2 (93,4-97,7) % относительно 88,6 (83,5-91,0) до лечения ($p < 0,05$). В данной субпопуляции наблюдалось увеличение плотности экспрессии $CD16$ и $CD62L$ ($p_{1,2} < 0,05$) до значений ГС и снижение MFI $CD11b$ ($p > 0,05$) (табл. 1), что отражает фенотип – $CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{mid}CD63^{-}$ НГ. Кроме того, наблюдалось снижение уровня НГ субпопуляции $CD16^{+}CD62L^{+}CD11b^{+}CD63^{+}$ в 3,8 раза по сравнению с показателями до начала лечения ($p < 0,05$), а также изменение фенотипа на $CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{bright}CD63^{dim}$. В данной

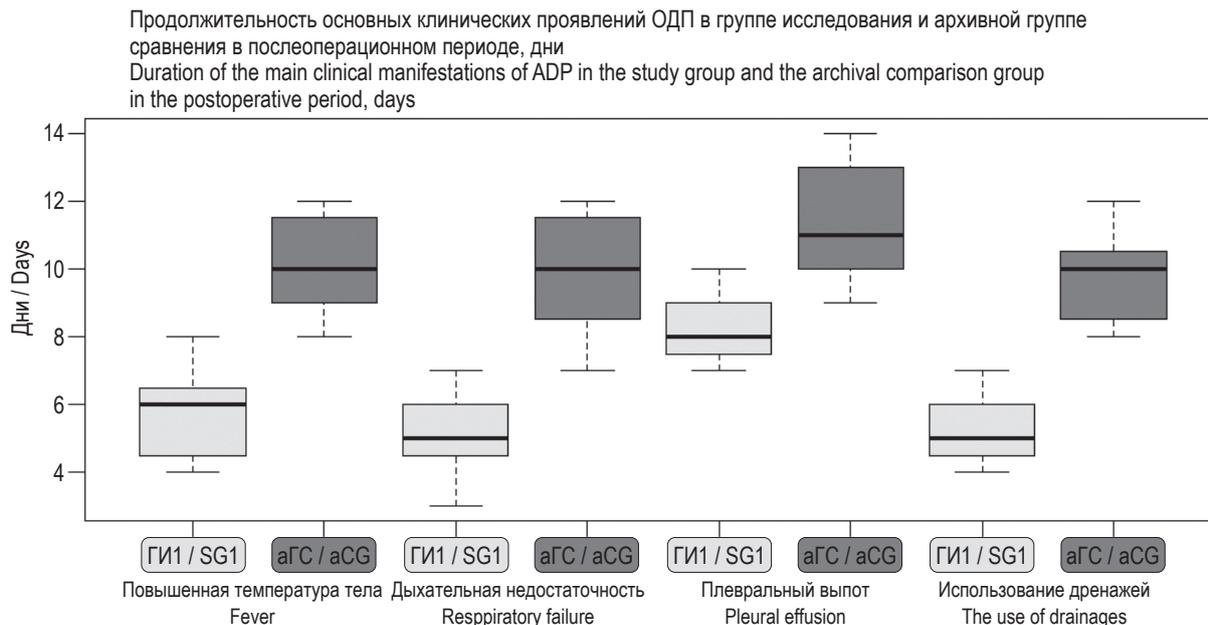


Рисунок 2. Клиническая эффективность иммуномодулирующей терапии у детей 2-4 лет с острой деструктивной пневмонией

Figure 2. Clinical efficacy of immunomodulatory therapy in children aged 2-4 years with acute destructive pneumonia

субпопуляции выявлено снижение MFI молекул CD63 до показателей ГС ($p_{1,2} < 0,05$), в то время как MFI рецепторов CD62L и CD11b сохранились на значениях, предшествующих лечению. Выявленная реконструкция рецепторного аппарата НГ способствовала восстановлению эффекторного функционального потенциала НГ.

В GI1 в результате проведенной иммунотерапии отмечалось повышение фагоцитарной и микробицидной активности НГ. Отмечено повышение киллинговой и переваривающей активности НГ: %П – 55,3 (50,8-54,7) % относительно 44,2 (39,4-49,0) % до лечения и ИП 1,3 (1,0-1,2) относительно 0,8 (0,6-0,9) до лечения ($p_{1,2} < 0,05$), усиление процессов захвата ФЧ – 3,1 (3,0-3,7) ($p < 0,05$); ФИ – 2,0 (1,7-2,3) ($p > 0,05$) в сравнении с данными до лечения, при не меняющемся %ФАН ($p > 0,05$). Кроме того, происходит восстановление баланса NADPH-оксидаз в спонтанном и стимулированном NBT-тесте. Отмечалось снижение показателей %ФПКсп и СЦИ сп ($p_{1,2} < 0,05$) до значений ГС, %ФПКст и СЦИст ($p_{1,2} > 0,05$), до уровня, свидетельствующего о сохранении резервного микробицидного потенциала КМ – 4,1 (4,05-5,3).

Позитивные изменения иммунологических показателей, характеризующих восстановление функционирования НГ, сопровождались выраженными клиническими эффектами.

Анализ эффективности использования иммуномодулирующей терапии фпГП в комплексном лечении детей 2-4 лет с ОДП выявил значимые положительные эффекты. Так, в группе пациентов, получавших в комплексной терапии фпГП, было выявлено статистически значимое снижение длительности лихорадки ($p = 0,00000591$, $|\delta| = 0,98$ (ДИ: 0,96-1,00)), дыхательной недостаточности ($p = 0,00000572$, $|\delta| = 0,99$ (ДИ: 0,97-1,00)), наличия гнойного плеврального выпота ($p = 0,00000591$, $|\delta| = 0,96$ (ДИ: 0,91-1,00)) и дренирования ($p = 0,00000591$, $|\delta| = 1,00$ (ДИ: 1,00-1,00)) относительно группы пациентов, получавших стандартное лечение, что свидетельствует о выраженной клинической эффективности использования фпГП в комплексном лечении в послеоперационном периоде (рис. 2).

На основе обобщения и анализа полученных данных было установлено наличие статистически значимых положительных клинико-иммунологических эффектов, ассоциированных с включением фармпрепарата гексапептида в программу комплексной терапии детей с ОДП, что подтверждает целесообразность данного подхода.

Выводы

1. В результате исследования у детей с ОДП выделены две субпопуля-

ции НГ: CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁻ и CD16⁺CD62L⁺CD11b⁺CD63⁺.

2. Выявлена трансформация фенотипа НГ, характеризующего зрелые функционально-полноценные клетки, CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{mid}CD63⁻ на CD16^{dim}CD62L^{dim}CD11b^{bright}CD63⁻, которая обладает неполноценными иммунными свойствами, а также показано значительное увеличение содержания гиперактивированной субпопуляции НГ с фенотипом CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{bright}CD63^{dim}, обладающей высоким цитотоксическим и протеолитическим потенциалом и способностью повреждать ткани при ОДП.

3. Определение повышенного уровня гиперактивированной субпопуляции НГ в периферической крови детей с ОДП, имеющих фенотип CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{bright}CD63^{dim} с высоким цитотоксическим и протеолитическим потенциалом и способностью повреждать легочную ткань, имеет важное значение, поскольку сопряжено с тяжестью гнойно-воспалительного процесса.

4. Включение иммуотропной терапии препаратом «Имунофан» демонстрирует эффект реконструктивного иммуномодулирования изучаемых субпопуляций НГ: повышение количества и нормализацию фенотипа субпопуляции CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{mid}CD63⁻ и регрессию количества и активности фенотипа субпопуляции CD16^{bright}CD62L^{bright}CD11b^{bright}CD63^{dim}, а также восстановление их эффекторной функции.

5. На фоне восстановления баланса количественного соотношения и фенотипов изучаемых субпопуляций наблюдается выраженная позитивная клиническая динамика: снижение длительности лихорадки, дыхательной недостаточности, более быстрое уменьшение объема гнойного плеврального выпота и длительности дренирования относительно группы пациентов, получавших стандартное лечение, что свидетельствует о выраженной клинической эффективности использования фпГП в комплексном лечении ОДП в послеоперационном периоде.

Список литературы / References

1. Белокрылов Н.М., Щепалов А.В., Антонов Д.В., Белокрылов А.Н., Жужгов Е.А. К вопросу об остеомиелите и его последствиях у детей: обзор литературы // Пермский медицинский журнал, 2020. Т. 37, № 3. С. 40-57. [Belokrylov N.M., Schepalov A.V., Antonov D.V., Belokrylov A.N., Zhuzhgov E.A. On the question of osteomyelitis and its consequences in children: literature review. *Permskiy meditsinskiy zhurnal = Perm Medical Journal*, 2020, Vol. 37, no. 3, pp. 40-57. (In Russ.)]
2. Вечеркин В.А., Тома Д.А., Птицын В.А., Коряшкин П.В. Деструктивные пневмонии у детей // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии, 2019. Т. 9, № 3. С. 108-115. [Vecherkin V.A., Toma D.A., Ptitsyn V.A., Koryashkin P.V. Destructive pneumonias in children. *Rossiyskiy vestnik detskoy khirurgii, anesteziologii i reanimatologii = Russian Journal of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care*, 2019, Vol. 9, pp. 108-115. (In Russ.)]
3. Киселевский М.В., Ситдикова С.М., Абдуллаев А.Г., Шляпников С.А., Чикилева И.О. Иммуносупрессия при сепсисе и возможности ее коррекции // Вестник хирургии имени И.И. Грекова, 2018. Т. 177, № 5. С. 105-107. [Kiselevskii M.V., Sitdikova S.M., Abdullaev A.G., Shlyapnikov S.A., Chikileva I.O. Immunosuppression in sepsis and possibility of its correction. *Vestnik khirurgii imeni I.I. Grekova = Grekov's Bulletin of Surgery*, 2018, Vol. 177, no. 5, pp. 105-107. (In Russ.)]
4. Маркова Т.П., Чувилов Д.Г. Имунофан в комплексном лечении детей с повторными респираторными заболеваниями и микоплазменной инфекцией // Эффективная фармакотерапия, 2022. Т. 18, № 12. С. 12-18. [Markova T.P., Chuvirov D.G. Immunofan in the complex treatment of children with recurrent respiratory diseases and mycoplasma infection. *Effektivnaya farmakoterapiya = Effective Pharmacotherapy*, 2022, Vol. 18, no. 12, pp. 12-18. (In Russ.)]
5. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2 // Инфекция и иммунитет, 2018. Т. 8, № 1. С. 7-18. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtatidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevsky A.A., Nguyen T.D.L. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 2. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2018, Vol. 8, no. 1, pp. 7-18. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
6. Образцов И.В., Рябов А.Ю., Цуранова Н.С., Балыкова Е.В., Парамонов А.И. Функциональная активность нейтрофилов у пациентов с послеоперационными инфекционно-септическими осложнениями // Российский иммунологический журнал, 2019. Т. 13 (22), № 4. С. 1393-1402. [Obraztsov I.V., Ryabov A.Yu., Tsuranova N.S., Balykova E.V., Paramonov A.I. Neutrophil function in patients with postsurgery infectious septic complications. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2019, Vol. 13 (22), no. 4, pp. 1393-1402. (In Russ.)] doi: 10.31857/S102872210007042-1.

7. Толстова Е.М., Беседина М.В., Елькина М.А., Зайцева О.В., Яцышина С.Б., Зайцева Н.С., Кузина С.Р., Хаспеков Д.В., Турищев И.В., Беляева Т.Ю. Этиология и клиническая характеристика деструктивных пневмоний у детей // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение, 2024. Т. 13, № 1. С. 42-51. [Tolstova E.M., Besedina M.V., Elkina M.A., Zaytseva O.V., Yatsyshina S.B., Zaitseva N.S., Kuzina S.R., Khaspekov D.V., Turishchev I.V., Belyaeva T.Yu. Etiology and clinical characteristics of necrotizing pneumonia in children. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2024, Vol. 13, no. 1, pp. 42-51.
8. Чапурина В.Н., Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ковалева С.В., Лягуша Д.Э., Тетерин Ю.В., Барова Н.К., Тараканов В.А. Эффективность комплексного послеоперационного лечения с включением терапии иммуномодулирующим гексапептидом у детей с острой деструктивной пневмонией // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 4. С. 671-678. [Chapurina V.N., Nesterova I.V., Chudilova G.A., Kovaleva S.V., Lyagusha D.E., Teterin Yu.V., Barova N.K., Tarakanov V.A. Efficiency of combined postoperative treatment including an immunomodulatory hexapeptide in children with acute destructive pneumonia. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no. 4, pp. 671-678. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-13954-EOC.
9. Cortjens B., Ingelse S.A., Calis J.C., Vlaar A.P., Koenderman L., Bem R.A., van Woensel J.B. Neutrophil subset responses in infants with severe viral respiratory infection. *Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 176, pp. 100-106.
10. Kamp V.M., Pillay J., Lammers J.-W.J., Pickkers P., Ulfman L.H., Koenderman L. Human suppressive neutrophils CD16bright /CD62Ldim exhibit decreased adhesion. *J. Leukoc. Biol.*, 2012, Vol. 92, no. 5, pp. 1011-1020.
11. Ley K., Hoffman H.M., Kubes P., Cassatella M.A., Zychlinsky A., Hedrick C.C., Catz S.D. Neutrophils: New insights and open questions. *Sci. Immunol.*, 2018, Vol. 3, no. 30, eaat4579. doi: 10.1126/sciimmunol.aat4579.
12. Roh E.J., Shim J.Y., Chung E.H. Epidemiology and surveillance implications of community-acquired pneumonia in children. *Clin. Exp. Pediatr.*, 2022, Vol. 5, no. 12, pp. 563-573.
13. Scapini P., Marini O., Tecchio C. Cassatella M.A. Human neutrophils in the saga of cellular heterogeneity: insights and open questions. *Immunol. Rev.*, 2016, Vol. 273, pp. 48-60.
14. Ugonotti J., Chatterjee S., Thaysen-Andersen M. Structural and functional diversity of neutrophil glycosylation in innate immunity and related disorders. *Mol. Aspects Med.*, 2021, Vol. 79, 100882. doi: 10.1016/j.mam.2020.100882.
15. Wei X., Zhang L., Zhang R., Wu R., Petite J.N., Hou Y., Si D., Ahmad B., Guo H., Zhang M., Cheng Q., Tong Y. Targeting the TLR2 receptor with a novel thymopentin-derived peptide modulates immune responses. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 620494. doi: 10.3389/fimmu.2021.620494

Авторы:

Нестерова И.В. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела клинико-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар; профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и адаптологии факультета непрерывного медицинского образования Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Чудилова Г.А. — д.б.н., доцент, заведующая отделом клинико-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Сафонцева А.Д. — аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Authors:

Nesterova I.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Researcher, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Scientific Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar; Professor, Department of Clinical Immunology, Allergology and Adaptology, Faculty of Continuing Medical Education, Medical Institute, P. Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

Chudilova G.A., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head of the Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Research Laboratory, Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Safontseva A.D., Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Чапурина В.Н. — к.м.н., ассистент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики, научный сотрудник отдела клинико-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Лягуша Д.Э. — врач-педиатр хирургического отделения № 1 ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница», г. Краснодар, Россия

Барова Н.К. — к.м.н., доцент, заведующая кафедрой хирургических болезней детского возраста ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия заведующая хирургическим отделением № 1 ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница», г. Краснодар, Россия

Chapurina V.N., PhD (Medicine), Assistant Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Researcher of the Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology, Central Scientific Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Lyagusha D.E., Pediatrician, Surgical Department No. 1, Children's Regional Clinical Hospital, Krasnodar, Russian Federation

Barova N.K., PhD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Surgical Diseases of Childhood, Kuban State Medical University, Krasnodar; Head, Surgical Department No. 1, Children's Regional Clinical Hospital, Krasnodar, Russian Federation

Поступила 14.06.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 14.06.2025
Accepted 22.06.2025

JAК/STAT-СИГНАЛИНГ: НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ В ДИАГНОСТИКЕ ОЖИРЕНИЯ

Кулакова А.С.

*ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел, Россия
Медицинский центр «Мой доктор», г. Брянск, Россия*

Резюме. Проблема ожирения во всем мире не имеет тенденций к разрешению на протяжении последних десятилетий. Доказано, что ожирение является одним из важных патогенетических факторов метаболических нарушений в организме, приводит к развитию различной патологии. Несмотря на многочисленные исследования, результаты которых уточняют аспекты патогенеза ожирения и связанных с ним изменений в метаболизме, остается много вопросов. Целью настоящего исследования являлось изучение компонентов сигнальной системы JAК/STAT – белков STAT1, STAT3, SOCS1, SOCS3, а также уровня цитокина IL-6 в сыворотке крови лиц, страдающих ожирением. Было обследовано 210 пациентов, распределенных на группы: I – лица с нормальной массой тела; II – пациенты с избыточной массой тела; III – пациенты с метаболически здоровым ожирением (МЗО), IV – пациенты с метаболически нездоровым ожирением (МНЗО). В работе был применен комплекс иммунологических и общеклинических методов исследования. По результатам исследования у пациентов, страдающих ожирением, выявлены достоверно значимые изменения значений компонентов JAК/STAT-сигнальной системы и уровня цитокина IL-6 в сыворотке крови. У пациентов с ожирением обнаружено повышение уровня цитокина IL-6 в сыворотке крови, а также статистически значимая корреляция IL-6 с показателями липидного профиля, белками STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3. Уровни STAT1 и STAT3 были снижены у лиц с ожирением в отличие от лиц с нормальной и избыточной массой тела. Также наблюдался дисбаланс протеинов SOCS1 и SOCS3 у лиц с различными фенотипами ожирения. Установлены достоверно значимые корреляционные связи сывороточных уровней IL-6, STAT1, STAT3, SOCS1 и SOCS3 с показателями липидного обмена у пациентов с МЗО и МНЗО. Результаты проведенных исследований согласуются с имеющимися данными литературы об изменении экспрессии белков STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3 у пациентов с ожирением, важном значении белков SOCS1, SOCS3 в осуществлении регуляции экспрессии STAT по принципу отрицательной обратной связи, участии цитокина IL-6 в активации сигнальной системы JAК/STAT и поддержании метавоспаления у лиц, страдающих ожирением. Таким образом, изучение показателей JAК/STAT-сигналинга может являться перспективным направлением в диагностике и поиске новых стратегий в борьбе с ожирением.

Ключевые слова: ожирение, JAК/STAT-сигнальная система, IL-6, STAT, SOCS, метаболизм

Адрес для переписки:

*Кулакова Анастасия Сергеевна
Медицинский центр «Мой доктор»
241019, Россия, г. Брянск, ул. Красноармейская, 100.
Тел.: 8 (980) 310-12-33.
E-mail: Kulakovaas@mail.ru*

Address for correspondence:

*Anastasiia S. Kulakova
Medical Center "My Doctor"
100 Krasnoarmeyskaya St
Bryansk
241019 Russian Federation
Phone: +7 (980) 310-12-33.
E-mail: Kulakovaas@mail.ru*

Образец цитирования:

*А.С. Кулакова «JAК/STAT-сигналинг: новые перспективы в диагностике ожирения» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 993-998.
doi: 10.46235/1028-7221-17089-JSS*

© Кулакова А.С., 2025

*Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*A.S. Kulakova "JAК/STAT signaling: Novel prospectives in the obesity diagnostics", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 993-998.
doi: 10.46235/1028-7221-17089-JSS*

© Kulakova A.S., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17089-JSS

JAK/STAT SIGNALING: NOVEL PROSPECTIVES IN THE OBESITY DIAGNOSTICS

Kulakova A.S.

I. Turgenev State University of Orel, Orel, Russian Federation
Medical Center "My Doctor", Bryansk, Russian Federation

Abstract. The problem of obesity seemed to be nonresolved over the past decades. Obesity has been proven to be an important pathogenetic factor of metabolic disorders in humans, leading to the development of various disorders. Many questions remain open, despite numerous studies, clarifying the aspects of obesity pathogenesis and associated changes in metabolism. The aim of this study was to consider the components of JAK / STAT signaling system: proteins STAT1, STAT3, SOCS1, SOCS3, as well as the level of cytokine IL-6 in blood serum of obese individuals. 210 patients were examined, being divided into groups: I – individuals with normal body weight; II – patients with overweight; III – patients with metabolically healthy obesity, IV – patients with metabolically unhealthy obesity. A set of immunological and general clinical research methods was used in the work. The study revealed significantly altered values of JAK/STAT signaling system components and IL-6 cytokine levels in blood serum of obese patients. Increased serum IL-6 levels were found in obese subjects as well as statistically significant correlation between IL-6 and lipid profile parameters, STAT1, STAT3, and SOCS1, SOCS3 proteins. The STAT1 and STAT3 levels were decreased in obese individuals in contrast to the persons with normal and overweight body weight. An imbalance of SOCS1 and SOCS3 proteins was also observed in individuals with different obesity phenotypes. Significant correlations were revealed between serum IL-6, STAT1, STAT3, SOCS1, and SOCS3 levels, as well as lipid metabolism parameters in patients with metabolic healthy and metabolic unhealthy obesity. The results of these studies are consistent with available literature data on changed expression of STAT1, STAT3 and SOCS1, SOCS3 proteins in obese patients, as well as importance of SOCS1, SOCS3 proteins in STAT expression levels by the negative feedback relations. One may also suggest participation of IL-6 cytokine in activation of JAK/STAT signaling system and maintenance of meta-inflammation in obese individuals. Thus, the study of JAK/STAT signaling indices may be a promising area in diagnostics and search for new strategies in obesity management.

Keywords: obesity, JAK/STAT signaling pathway, IL-6, STAT, SOCS, metabolism

Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» (номер государственного учета научно-исследовательской работы 123062000038-9) в рамках государственного задания № 075-00196-24-02 на 2024 год и на плановый период 2025 и 2026 годов от 01.04.2024 г., проект № FSGN-2024-0007 (1023110800218-7-3.2.4;3.1.3;2.6.1).

Введение

Проблема ожирения во всем мире не имеет тенденций к разрешению на протяжении последних десятилетий. Несмотря на многочисленные исследования, результаты которых уточняют аспекты патогенеза ожирения и связанных с ним изменений в метаболизме, остается много вопросов.

Доказано, что ожирение является одним из важных патогенетических факторов метаболических нарушений в организме, приводит к развитию различной патологии, в первую очередь сердечно-сосудистой системы, а также эндокринной, гепатобилиарной, участвует в развитии психических нарушений и некоторых видов рака, поэтому актуальность изучения данной проблемы трудно переоценить [3, 5, 6, 7].

В то же время известно, что не все пациенты, страдающие ожирением, метаболически нездоровы. Это обусловило выделение нескольких фенотипов, наиболее репрезентативными являются метаболически здоровое ожирение (МЗО), для которого характерно отсутствие или минимальное количество кардиометаболических нарушений, и метаболически нездоровое ожирение (МНЗО), при котором присутствуют кардиометаболические нарушения. Несмотря на большое

количество работ, посвященных фенотипам ожирения [1, 4, 12], на сегодняшний день нет единых критериев для идентификации лиц с МЗО, а также утвержденной классификации фенотипов.

Работами последних лет [7, 10] доказано, что в патогенезе ожирения важную роль играет метавоспаление – слабодифференцированное хроническое воспаление низкой степени с метаболической дисфункцией, которое наблюдается во всех тканях, участвующих в энергетическом гомеостазе и характеризуется рекрутированием иммунных воспалительных клеток, аномальной выработкой цитокинов и реагентов острой фазы.

В последние десятилетия активно изучается роль сигнальных систем в иммунопатогенезе различных состояний, в том числе при ожирении [2, 9]. Доказано, что сигнальная система JAK/STAT (Janus kinase/signal transduction, сигнальные преобразователи и активаторы сигнальных путей транскрипции) активно участвует в патогенезе заболеваний, связанных с воспалением, а также имеет решающее значение для поддержания процессов гомеостаза в организме. Многие цитокины, участвующие в патогенезе аутоиммунных и воспалительных заболеваний, используют JAK и STAT для трансдукции внутриклеточных сигналов [11].

Известно, что STAT1 играет важную роль при различных патологических процессах, связанных с инсулинорезистентностью, развитием хронического субклинического воспаления, преимущественно за счет перепрограммирования макрофагов в сторону фенотипа M1 и активации их цитотоксической и провоспалительной функции. Также STAT1 может как способствовать липолизу в зрелых адипоцитах, так и индуцировать пролиферацию преадипоцитов и адипогенез [12].

Наиболее изученным белком системы JAK/STAT является STAT3. Гипертрофированные при ожирении адипоциты активируют выработку различных гормонов и медиаторов, в первую очередь, лептина и IL-6, которые активируют STAT3 и иницируют его клеточный сигнальный путь. В периферических органах IL-6-индуцированный JAK-STAT3 влияет на функции инсулина [9].

Сигнальный путь JAK/STAT транскрипционно регулирует свой собственный супрессор. Супрессоры цитокиновых сигнальных молекул (SOCS) действуют как сигнал отрицательной обратной связи, ингибируя активацию JAK, STAT и фосфорилирование [11, 14].

Белая жировая ткань является основным органом для высвобождения IL-6 в кровообращение. Усиленная передача сигналов IL-6 при ожирении способствует повышению уровня белков SOCS1 и SOCS3 в трех основных чувствительных к инсулину периферических тканях: белой жировой тка-

ни, печени и мышцах. Сверхэкспрессия SOCS1 и SOCS3 приводит к развитию инсулинорезистентности. Также обнаружено, что SOCS1 подавляет активацию STAT1 и STAT3 и снижает экспрессию STAT1- и STAT3-зависимых генов [13].

Несмотря на активное изучение экспрессии протеинов STAT и SOCS в различных органах и тканях [4, 11, 12], практически нет работ по определению уровней этих важных компонентов сигнальной системы в сыворотке крови людей, страдающих избыточной массой тела и ожирением, что обусловило наш интерес к изучению данной темы.

Материалы и методы

В исследование было включено 210 пациентов в возрасте от 19 до 65 лет. Обследуемые разделены на 4 группы: I – лица с нормальной массой тела (ИМТ менее 25) (n = 45); II – пациенты с избыточной массой тела (ИМТ 25-29,9) (n = 77); III – пациенты с МЗО (ИМТ 30 и выше, не более одного кардиометаболического нарушения по результатам лабораторного, инструментального обследования и данным анамнеза) (n = 56); IV – пациенты с МНЗО (ИМТ 30 и выше, наличие двух и более показателей кардиометаболических нарушений по результатам обследования) (n = 32).

Каждый пациент подписал добровольное информированное согласие на участие в исследовании. В работе использовался комплекс общеклинических и иммунологических методов, включающий оценку антропометрических данных: рост, вес, ИМТ, ОТ/ОБ, общеклинических и биохимических показателей периферической крови. Клинические лабораторные исследования выполнялись на гематологических анализаторах SYSMEX (SYSMEX Corporation, Япония).

Иммунологические исследования проводились в лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой кардиоиммунологии ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева». В соответствии с задачами исследования у всех больных в сыворотке крови определяли уровень белков STAT1, STAT3, SOCS1, SOCS3, цитокина IL-6. Для определения в сыворотке крови методом ИФА концентрации белков STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3 применяли тест-систему производства Cusabio Biotech Co., Ltd (США). Для определения цитокина IL-6 использовался метод твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на фотометре STAT FAX 2100 с использованием наборов реагентов АО «Вектор-Бест» (Россия). Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. В исследовании проводили анализ с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни,

так как распределение изучаемых показателей отличалось от нормального. Для сравнения концентрации белков в сыворотке крови пациентов с избыточной массой тела и ожирением с уровнем белков в сыворотке крови лиц с нормальной массой тела использовали медиану, первый и третий квартили — $Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})$. По методике Спирмена, с помощью коэффициента корреляции рангов, рассчитывали взаимосвязь между количественными признаками. Статистически значимыми считали различия между показателями при $p < 0,05$ (контрольная группа).

Критерии невключения в исследование: лица до 18 и старше 65 лет; наличие сопутствующих заболеваний в стадии обострения и/или декомпенсации, острых респираторных инфекций, беременности, сепсиса, наличие онкологических и инфекционных заболеваний, сахарного диабета, отказ от проводимого исследования.

Результаты и обсуждение

Исследования последних лет позволили расширить представление о роли IL-6 как ключевом медиаторе воспаления при адипогенезе, в основном через активацию JAK/STAT-сигнального каскада [11].

Вместе с тем требуют изучения особенности IL-6/STAT-транссигнализации в аспекте субклинического воспаления при различных фенотипах ожирения.

По результатам наших исследований, уровень IL-6 в сыворотке крови у пациентов с избыточной массой тела находился в пределах общепринятых референсных значений (0-7 пг/мл) и составил 4,30 (3,80-4,80) пг/мл, что, однако, в 1,2 раза выше, чем у лиц группы ЗД, $p = 0,022$. У пациентов с МЗО концентрация IL-6 составляла 6,15 (5,55-7,40) пг/мл, с МНЗО — 6,90 (6,60-7,83) пг/мл, $p < 0,001$, почти в 2 раза превышая значения, полученные у здоровых лиц 3,74 (3,54-3,94) пг/мл, что, по-видимому, подтверждает наличие низкоуровневого хронического воспаления у лиц, страдающих ожирением, и согласуется с данными литературы [9, 10].

У пациентов с метаболически здоровым и нездоровым ожирением наблюдалась статистически значимая корреляция IL-6 с показателями липидного профиля, а также с белками STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3.

Известно, что белки STAT необходимы для энергетического гомеостаза организма человека, а нарушение их регуляции способствует развитию ожирения и диабета [11, 12, 13], однако их сывороточный уровень у лиц с различными фенотипами ожирения малоизучен.

В результате проведенного нами исследования получены данные об уровнях сывороточ-

ного STAT1, который составил у пациентов с избыточной массой тела 0,55 (0,41-0,73) нг/мл, с МЗО 0,40 (0,3-0,55) нг/мл, с МНЗО 0,27 (0,21-0,36) нг/мл, это ниже, чем у здоровых лиц 0,63 (0,44-1,15) нг/мл, ($p < 0,001$), что может быть связано с чрезмерной востребованностью и расходом данного протеина для осуществления патофизиологических процессов при ожирении.

Как известно, в отличие от STAT1, оказывающего преимущественно воспалительное действие, STAT3 обладает двойственными эффектами (как про-, так и противовоспалительными) и приводит к поляризации как M1-, так и M2-макрофагов [12, 13].

Согласно проведенному нами анализу, уровень белка STAT3 у пациентов с избыточной массой тела 0,65 (0,35-0,77) нг/мл, $p > 0,05$, у лиц с МЗО 0,39 (0,21-0,64) нг/мл, $p = 0,015$, с МНЗО 0,27 (0,15-0,63) нг/мл, $p < 0,001$, что ниже, чем у здоровых лиц 0,59 (0,28-1,37) нг/мл.

Таким образом, уровни STAT1 и STAT3 были снижены у лиц с ожирением в отличие от лиц с нормальной и избыточной массой тела, что подтверждает их активное участие в дисметаболических процессах, происходящих при ожирении.

Корреляционный анализ показал наличие статистически значимой корреляции уровня белков STAT с показателями липидного спектра у лиц с МЗО и МНЗО, что может свидетельствовать об участии активированных STAT в регуляции липидного обмена [9].

Учитывая важную роль белков SOCS в сигнальной системе JAK/STAT в качестве регуляторов обратной связи, представляло интерес исследование их уровня в сыворотке крови в процессе нарастания массы тела у исследуемых групп.

В результате проведенных нами исследований установлено, что уровень белка SOCS1 у пациентов с избыточной массой тела составил 0,15 (0,09-1,02) нг/мл, с МЗО 0,35 (0,14-0,86) нг/мл, с МНЗО (0,16 (0,11-0,44) нг/мл), что выше, чем у здоровых лиц — 0,11 (0,08-1,51), $p > 0,05$. Более низкие значения SOCS1 у пациентов с МНЗО по сравнению с МЗО возможно объясняются расходом SOCS1 на подавление активации STAT1 и STAT3, что согласуется с данными литературы [9, 11, 12].

Известно, что SOCS3 ингибирует сигнальные пути, активируемые, как различными цитокинами (IL-6, IFN γ и др.), так и гуморальными медиаторами, что приводит к ингибированию активации STAT3, и делает SOCS3 важным фактором в контроле воспаления и поддержании гомеостаза [12].

Уровень SOCS3 в сыворотке крови у пациентов группы II — 1,25 (0,18-1,83) нг/мл, $p > 0,05$, группы III — 0,96 (0,33-2,94) нг/мл, $p > 0,05$, что

выше, чем у здоровых лиц 0,97 (0,55-1,25) нг/мл, $p < 0,001$. Однако у пациентов группы IV (0,55 (0,2-0,97) нг/мл) наблюдалось снижение уровня белка SOCS3 по сравнению с ЗД в 1,8 раза и в 1,8 раза по сравнению с лицами с МЗО, $p < 0,05$, что, вероятно, связано с ослаблением торможения сигнальных путей и может приводить к неконтролируемой активации продукции провоспалительных медиаторов, способствуя развитию и поддержанию хронического низкоуровневого воспаления, что согласуется с данными литературы [12].

У пациентов с ожирением наблюдалась заметная корреляционная связь между SOCS1, SOCS3 и показателями липидного профиля, что может свидетельствовать об участии белков SOCS1, SOCS3 в регуляции липидного обмена при ожирении. Заслуживает внимания отрицательная корреляция между сывороточным уровнем белков SOCS1, SOCS3 и STAT1, STAT3 у метаболически здоровых и нездоровых пациентов, что подтверждает наличие негативного регуляторного контроля протеинов STAT SOCS-белками.

Результаты проведенных исследований согласуются с имеющимися данными литературы об изменении экспрессии белков STAT1, STAT3 и SOCS1, SOCS3 у пациентов с ожирением, важном значении белков SOCS1, SOCS3 в осуществлении регуляции экспрессии STAT по принципу отрицательной обратной связи, активном уча-

стии цитокина IL-6 в активации сигнальной системы JAK/STAT и поддержании низкоуровневого хронического воспаления у лиц, страдающих ожирением.

Выводы

У пациентов, страдающих ожирением, выявлены достоверно значимые изменения значений компонентов JAK/STAT-сигнальной системы и уровня цитокина IL-6 в сыворотке крови. Развитие метаболически здорового и нездорового ожирения сопровождается нарушением продукции белков STAT и SOCS, уровень которых зависит от фенотипа ожирения. Установлены достоверно значимые корреляционные связи сывороточных уровней IL-6, STAT1, STAT3, SOCS1 и SOCS3 с показателями липидного обмена (уровнем холестерина, триглицеридов, ЛПНП, ЛПНОП, ЛПВП, коэффициентом атерогенности) у пациентов с МЗО и МНЗО.

Таким образом, патогенез ожирения представляет собой многогранный процесс, в котором задействованы различные иммунопатологические механизмы, включая основные сигнальные системы, где одну из ведущих ролей играет JAK/STAT-сигналинг, особенности функционирования компонентов которого требуют дальнейшего изучения и являются перспективным направлением в диагностике и поиске новых стратегий в борьбе с ожирением.

Список литературы / References

1. Волкова Н.И., Ганенко Л.А., Поркшеян М.И. Метаболически здоровое ожирение, что мы о нем знаем? Медицинский вестник Юга России, 2017. Т. 8, № 3. С. 6-16. [Volkova N.I., Ganenko L.A., Porksheyana M.I. Metabolically healthy obesity, what do we know about it? *Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii = Medical Bulletin of the South of Russia*, 2017, Vol. 8, no. 3, pp. 6-16. (In Russ.)]
2. Кулакова А.С., Снимщикова И.А., Плотникова М.О. Особенности состояния STAT-сигнальной системы у пациентов с ожирением // Медицинский вестник Башкортостана, 2020. Т. 15, № 2. С. 22-25. [Kulakova A.S., Snimshchikova I.A., Plotnikova M.O. Features of the state of the STAT-signaling system in obese patients. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Bulletin of Bashkortostan*, 2020, Vol. 15, no. 2, pp. 22-25. (In Russ.)]
3. Abiri B., Hosseinpanah F., Banihashem S., Madinehzad S., Valizadeh M. Mental health and quality of life in different obesity phenotypes: a systematic review. *Health Qual. Life Outcomes*, 2022, Vol. 20, no. 1, 63. doi: 10.1186/s12955-022-01974-2.
4. Grohmann M., Wiede F., Dodd G., Gurzov E.N., Ooi G.J., Butt T., Rasmiena A.A., Kaur S., Gulati T., Goh P.K., Treloar A.E., Archer S., Brown W.A., Muller M., Watt M.J., Ohara O., McLean C.A., Tiganis T. Obesity Drives STAT-1-Dependent NASH and STAT-3-Dependent HCC. *Cell*, 2018, Vol. 175, no. 5, pp. 1289-1306.e20.
5. Lopez-Jimenez F., Almahmeed W., Bays H., Cuevas A., Di Angelantonio E., le Roux C.W., Sattar N., Sun M.C., Wittert G., Pinto F.J., Wilding J.P.H. Obesity and cardiovascular disease: mechanistic insights and management strategies. A joint position paper by the World Heart Federation and World Obesity Federation. *Eur. J. Prev. Cardiol.*, 2022, Vol. 29, no. 17, pp. 2218-2237.
6. Richard A., Stephens J. The role of JAK-STAT signaling in adipose tissue function. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, Vol. 1842, no. 3, pp. 431-439.
7. Russo S., Kwiatkowski M., Govorukhina N., Bischoff R., Melgert B. Meta-Inflammation and Metabolic Reprogramming of Macrophages in Diabetes and Obesity: The Importance of Metabolites. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 746151. doi: 10.3389/fimmu.2021.746151.

8. Wunderlich C., Hövelmeyer N., Wunderlich F. Mechanisms of chronic JAK-STAT3-SOCS3 signaling in obesity. *JAKSTAT*, 2013, Vol. 2, no. 2, e23878. doi: 10.4161/jkst.23878.

9. Xu D., Yin C., Wang S., Xiao Y. JAK-STAT in lipid metabolism of adipocytes. *JAKSTAT*, 2013, Vol. 2, no. 4, e27203. doi: 10.4161/jkst.27203.

10. Yang M., Tian M., Zhang X., Xu J., Yang B., Yu J., Li F., Li Y., Li S., Li X. Role of the JAK2/STAT3 signaling pathway in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus with macrovascular complications. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, no. 57, pp. 96958-96969.

Автор:

Кулакова А.С. — научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой кардиоиммунологии ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», г. Орел; врач-гастроэнтеролог, терапевт, диетолог, Медицинский центр «Мой доктор», г. Брянск, Россия

Author:

Kulakova A.S., Researcher, Laboratory of Molecular, Translational and Digital Cardioimmunology, I. Turgenev State University of Orel, Orel; Gastroenterologist, Therapist, Nutritionist, Medical Center “My Doctor”, Bryansk, Russian Federation

Поступила 14.01.2025

Отправлена на доработку 30.01.2025

Принята к печати 22.06.2025

Received 14.01.2025

Revision received 30.01.2025

Accepted 22.06.2025

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

Нефедьева Ю.В.¹, Шишкова Ю.С.¹, Зиганшин О.Р.^{1,2}

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

² ГБУЗ «Челябинский областной клинический кожно-венерологический диспансер», г. Челябинск, Россия

Резюме. Проблема распространенного псориаза является одной из самых актуальных в связи с широкой распространенностью, отсутствием единой этиопатогенетической концепции, многообразием клинических форм и системностью проявлений заболевания. Важную роль в патогенезе псориаза играют нарушения обмена веществ, биохимические дефекты. Метаболические нарушения при псориазе ассоциированы с патологией липидного обмена. Высокая частота дислипидемий, метаболического синдрома при псориазе обуславливают высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний. Исследование изменений лейкоцитарной формулы общего анализа крови и биохимических показателей периферической крови при псориазе имеет важное клинко-диагностическое значение. Цель исследования — изучение лабораторных показателей периферической крови у больных псориазом, проходивших стационарное лечение в отделении круглосуточного пребывания ГБУЗ «Челябинский областной клинический кожно-венерологический диспансер». Изучены лабораторные показатели общего и биохимического анализов крови у 750 больных псориазом на базе ГБУЗ «Челябинский областной клинический кожно-венерологический диспансер». Оценивалась степень тяжести псориаза, индекс PASI. В крови определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина, рассчитывали цветной показатель, СОЭ, глюкозу, прямой билирубин, общий билирубин, мочевины, креатинин, С-реактивный белок, ревматоидный фактор, холестерин, триглицериды. В результате исследования выявлено у больных пожилого возраста с псориазом с тяжелой степени тяжести увеличение скорости оседания эритроцитов. У женщин и мужчин среднего и пожилого возраста со среднетяжелым псориазом выявлялась дислипидемия с увеличением уровня холестерина и триглицеридов периферической крови. У больных псориазом старше 45 лет со среднетяжелым течением заболевания чаще наблюдалось превышение показателя общего билирубина. Повышение системных маркеров воспаления С-реактивного белка, СОЭ, прямого и общего билирубина наблюдается при псориатической болезни. Нарушение липидного обмена с увеличением показателей холестерина и триглицеридов чаще наблюдалось при среднетяжелом течении псориаза у пациентов среднего и пожилого возраста.

Ключевые слова: псориаз, скорость оседания эритроцитов, билирубин, С-реактивный белок, триглицериды, холестерин, Челябинская область

Адрес для переписки:

Нефедьева Юлия Владимировна
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
454048, Россия, г. Челябинск, ул. Яблочкина, 24.
Тел.: 8 (351) 232-00-13.
E-mail: women200681@mail.ru

Address for correspondence:

Yuliya V. Nefedyeva
South Ural State Medical University
24 Yablochkin St
Chelyabinsk
454048 Russian Federation
Phone: +7 (351) 232-00-13.
E-mail: women200681@mail.ru

Образец цитирования:

Ю.В. Нефедьева, Ю.С. Шишкова, О.Р. Зиганшин
«Изменения показателей периферической крови
у больных псориазом» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 999-1002.
doi: 10.46235/1028-7221-17256-COP

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

For citation:

Yu.V. Nefedyeva, Yu.S. Shishkova, O.R. Ziganshin “Changes
of peripheral blood parameters in patients with psoriasis”,
Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 999-1002.
doi: 10.46235/1028-7221-17256-COP

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17256-COP

CHANGES OF PERIPHERAL BLOOD PARAMETERS IN PATIENTS WITH PSORIASIS

Nefedyeva Yu.V.^a, Shishkova Yu.S.^a, Ziganshin O.R.^{a, b}

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

^b Chelyabinsk Regional Clinical Skin and Venereal Diseases Dispensary, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. The issues of widespread psoriasis are quite urgent, due to its high prevalence of this disorder, absence of a single etiopathogenetic concept, diversity of clinical forms and systemic nature of the disease manifestations. Metabolic disorders and biochemical defects play an important role in pathogenesis of psoriasis and may be associated with impaired lipid metabolism. High frequency of dyslipidemia and metabolic syndrome in psoriasis determine high risk of cardiovascular diseases. The study of changes in differential leukocyte counts upon general blood testing and biochemical parameters of peripheral blood in psoriasis is of great clinical and diagnostic importance. The purpose of the study was to evaluate basic laboratory parameters of peripheral blood in patients with psoriasis who underwent inpatient treatment at the all-day Department at Chelyabinsk Regional Clinical Dispensary for Dermato-Venereal Diseases. Laboratory parameters of general and biochemical blood tests were studied in 750 patients with psoriasis admitted to the Dispensary. The severity of psoriasis and clinical PASI index were assessed. The counts of red blood cells, leukocytes, platelets, and hemoglobin were determined in blood as well as RBC color index, erythrocyte sedimentation rate (ESR). We have also assessed the levels of glucose, direct bilirubin, total bilirubin, urea, creatinine, C-reactive protein, rheumatoid factor, cholesterol, and triglycerides in blood serum. The study revealed an increased ESR in elderly patients with severe psoriasis. Dyslipidemia with increased level of cholesterol and triglycerides in the peripheral blood was detected in middle-aged and elderly women and men with moderate-degree psoriasis. In patients with psoriasis over 45 years of age with moderate course of the disease, an excess of total bilirubin was more often observed. An increase in systemic inflammation markers, i.e., C-reactive protein, ESR, direct and total bilirubin is observed in psoriatic disease. Lipid metabolism disorders with increased cholesterol and triglyceride levels were more often observed in moderate course of psoriasis among middle-aged and elderly patients.

Keywords: psoriasis, erythrocyte sedimentation rate, bilirubin, C-reactive protein, triglycerides, cholesterol, Chelyabinsk Region

Введение

Псориаз представляет собой хроническое пролиферативное и иммуноассоциированное воспалительное заболевание кожи мультифакториального генеза [3]. Псориаз тесно связан с высокой распространенностью таких метаболических нарушений, как дислипидемия, нарушение толерантности к глюкозе, метаболический синдром. Увеличение концентрации в крови С-реактивного белка, провоспалительных цитокинов, иммунных комплексов, аутоантител к компонентам эндотелиальных клеток, изменения в подтипах Т-лимфоцитов играют важную роль в патогенезе псориаза [1, 2]. Поэтому изучение изменений показателей общего анализа крови и биохимических маркеров периферической крови у больных псориазом актуально.

Целью исследования являлось изучение изменений лабораторных показателей периферической крови при псориазе у пациентов, проходивших лечение в отделении круглосуточного пребывания ГБУЗ «Челябинский областной кли-

нический кожно-венерологический диспансер» в 2017-2022 гг.

Материалы и методы

В исследование включено 750 пациентов в возрасте от 19 до 80 лет больных псориазом, подписавших информированное согласие. У всех пациентов учитывалась степень тяжести псориаза (индекс PASI). В крови определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина, рассчитывали цветной показатель, СОЭ, глюкозу, прямой билирубин, общий билирубин, мочевины, креатинин, С-реактивный белок, ревматоидный фактор, холестерин, триглицериды.

Анализ полученных данных проводили с использованием пакета статистического анализа данных IBM SPSS Statistics, версия 19. Для оценки значимости различий между двумя группами использовали критерий Манна–Уитни, между тремя группами критерий Краскела–Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при критическом уровне значимости $\leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведен анализ лабораторных показателей общего и биохимического анализов крови у 750 пациентов, из которых 447 мужчин (средний возраст 44 (34-57) года) и 303 (40,4%) женщины 43,0 (33,0-56,0) года. Показатели общеклинического анализа крови сохранялись в пределах нормативных значений у всех обследуемых пациентов, кроме скорости оседания эритроцитов.

В результате проведенного исследования установлено у 42% (36) женщин молодого возраста (18-44 года) с псориазом тяжелой степени повышение СОЭ в общем анализе крови. У 30% (9) женщин среднего возраста (45-59 лет) с псориазом средней степени тяжести и у 37,5% (21) женщин с псориазом тяжелой степени также наблюдалось повышение СОЭ в общем анализе крови.

Повышение СОЭ в общем анализе крови наблюдалось у 37,5% (9) мужчин и 35,7% (10) женщин пожилого возраста с псориазом средней степени тяжести, у 34% (15) мужчин и 53,8% (14) женщин 60-74 лет с псориазом тяжелой степени тяжести. При легкой степени тяжести псориаза у пациентов всех возрастов увеличения уровня СОЭ не наблюдалось.

Установлено повышение прямого билирубина у 10% больных псориазом легкой степени тяжести женщин среднего возраста (45-59 лет). Выявлено превышение нормативного показателя общего билирубина у 34,9% мужчин молодого возраста со средней степенью тяжести псориаза и 6,2% – с тяжелым псориазом. У женщин молодого возраста (18-44 года) с псориазом также было выявлено превышение нормативного показателя общего билирубина: при легкой степени тяжести в 30% случаев, при средней степени тяжести – в 1,6%, при тяжелой степени тяжести – в 9,4%. Выявлено превышение нормативного показателя общего билирубина только у 17,1% мужчин среднего возраста с тяжелой степенью тяжести псориаза. У 25% мужчин 60-74 лет с тяжелой степенью тяжести псориаза и 21,4% женщин пожилого возраста с псориазом средней степени тяжести наблюдалось повышение показателя общего билирубина относительно нормальных показателей.

У больных псориазом выявлена дислипидемия, чаще у пациентов среднего и пожилого возраста. У пациентов молодого возраста превышение нормативного показателя уровня триглицеридов периферической крови наблюдалось у 9% мужчин с псориазом легкой степени тяжести, 16,9% – средней степени тяжести, у 24,1% – с тяжелым псориазом; у 20% молодых женщин с псориазом легкой степени тяжести и 22,3% женщин с тяжелым псориазом.

У 13,3% женщин среднего возраста больных псориазом средней степени тяжести выявлено превышение нормативного показателя холестерина. Уровень триглицеридов периферической крови повышался у 14,3% мужчин среднего возраста с псориазом легкой степени тяжести, у 19,7% – с тяжелым псориазом; 10% женщин с псориазом легкой степени тяжести, у 26,7% женщин с псориазом средней степени тяжести и 21,4% женщин с тяжелым псориазом.

У 7,7% женщин пожилого возраста больных псориазом тяжелой степени тяжести выявлено превышение нормативного показателя холестерина. У пациентов 60-74 лет выявлено превышение нормативного показателя уровня триглицеридов периферической крови: у 20,8% мужчин среднего возраста с псориазом средней степени тяжести, у 34,1% – с тяжелым псориазом; у 14,3% женщин с псориазом средней степени тяжести и 23,1% женщин с тяжелым псориазом.

Повышение показателя С-реактивного белка наблюдалось только у 23,3% женщин среднего возраста с псориазом средней степени тяжести; у 29,1% мужчин пожилого возраста с псориазом средней степени тяжести. У 32,1% женщин 60-74 лет с псориазом средней степени тяжести и 46,2% женщин пожилого возраста с тяжелым псориазом наблюдалось повышение С-реактивного белка.

Выводы

Повышение уровня СОЭ у больных псориазом свидетельствует о наличии системного воспаления. С увеличением степени тяжести псориаза и возраста у большего количества больных наблюдалось увеличение скорости оседания эритроцитов.

Особое значение имеет оценка состояния метаболизма билирубина. Превышение показателя общего билирубина чаще выявлялось у больных псориазом молодого возраста, были более выражены у пациентов с тяжелой степенью тяжести псориаза.

Псориаз может быть фактором риска развития атеросклероза, что согласуется с представлениями об участии хронического субклинического системного воспаления в развитии заболевания. Дислипидемия у больных псориазом в Челябинской области чаще наблюдалась у мужчин и женщин среднего и пожилого возраста и была более выражена у больных со среднетяжелым псориазом.

Таким образом, метаболические нарушения, лежащие в основе патогенеза псориаза, способствуют развитию системного воспаления, которое ассоциируется с более тяжелыми проявлениями псориаза.

Список литературы / References

1. Байтяков В.В., Филимонкова Н.Н., Новикова Л.В. Состояние фагоцитарного звена иммунитета у больных вульгарным псориазом // Вестник Уральской медицинской академической науки, 2012. № 4. С. 85-86. [Baityakova V.V., Filimonkova N.N., Novikova L.V. The state of the phagocytic link of immunity in patients with vulgar psoriasis. *Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2012, no. 4, pp. 85-86. (In Russ.)]
2. Кашутин С.Л., Шерстенникова А.К., Неклюдова В.С., Николаев В.И., Шагров Л.Л., Ключарева С.В., Пирятинская В.А. Изучение соотношения содержания нейтрофилов периферической крови и крови, выделяемой с поверхности псориатической папулы // Российский журнал кожных и венерических болезней, 2018. Т. 21, № 1. С. 35-39. [Kashutin S.L., Sherstennikova A.K., Neklyudova V.S., Nikolaev V.I., Shagrov L.L., Klyuchareva S.V., Piryatinskaya V.A. Study of the ratio of neutrophil content in peripheral blood and blood isolated from the surface of a psoriatic papule. *Rossiyskiy zhurnal kozhnykh i venericheskikh bolezney = Russian Journal of Skin and Venereal Diseases*, 2018, Vol. 21, no. 1, pp. 35-39. (In Russ.)]
3. Сидоренко О.А., Дударева В.А., Олейникова В.Д., Сидоренко Е.Е., Дядикова И.Г., Рябыш О.Е. Способы оценки нутритивного статуса при псориазе (на примере лиц мужского пола среднего возраста с избытком массы тела) // Южно-Уральский медицинский журнал, 2023. № 4. С. 24-35. [Sidorenko O.A., Dudareva V.A., Oleinikova V.D., Sidorenko E.E., Dyadikova I.G., Ryabysh O.E. Methods of assessment nutritional status in psoriasis (on the example of middle-aged males with excess body weight). *Yuzhno-Uralskiy meditsinskiy zhurnal = South Ural Medical Journal*, 2023, no. 4, pp. 24-35. (In Russ.)]

Авторы:

Нефедьева Ю.В. — к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Шишкова Ю.С. — д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

Зиганшин О.Р. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; главный врач ГБУЗ «Челябинский областной клинический кожно-венерологический диспансер», г. Челябинск, Россия

Authors:

Nefedyeva Yu.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Dermatovenereology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Shishkova Yu.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Microbiology, Virology, and Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Ziganshin O.R., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Dermatovenereology, South Ural State Medical University; Chief Physician, Chelyabinsk Regional Clinical Skin and Venereal Diseases Dispensary, Chelyabinsk, Russian Federation

Поступила 29.04.2025

Отправлена на доработку 06.05.2025

Принята к печати 22.06.2025

Received 29.04.2025

Revision received 06.05.2025

Accepted 22.06.2025

ПОВЫШЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВА CD5⁺ КЛЕТОК СРЕДИ ILC2 У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТОМ

**Боева О.С.¹, Борисевич В.И.², Аббасова В.С.², Козлов В.А.¹,
Королев М.А.³, Омельченко В.О.³, Курочкина Ю.Д.³, Рыбакова А.Д.³,
Пашкина Е.А.¹**

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

² ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
РФ, г. Новосибирск, Россия

³ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ
«Федеральный исследовательский центр “Институт цитологии и генетики” Сибирского отделения
Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Резюме. Врожденные лимфоидные клетки (ILC) – это врожденные аналоги лимфоцитов, которые не экспрессируют антигенспецифические рецепторы и в основном находятся в тканях и слизистых. Среди ILC выделяют три группы на основе факторов транскрипции и цитокинов, которые они секретируют. Группа ILC1 продуцирует интерферон (IFN)- γ в ответ на IL-12 и зависит от фактора транскрипции T-bet; группа 2 ILC (ILC2) преимущественно продуцирует цитокины 2-го типа (IL-5, IL-4, IL-9 и IL-13) в ответ на IL-33, IL-25 и тимический стромальный лимфопоэтин (TSLP) и зависит от GATA3; группа 3 ILC включает ILC3 и клетки-индукторы лимфоидной ткани (LTi). Последняя группа секретирует IL-17 и IL-22 в ответ на IL-1 β и IL-23 и функционально зависит от ROR γ t. Сравнительно недавно в периферической крови были обнаружены ранние предшественники ILC, которые были определены по маркеру CD5 и, вероятно, имеют тимическое происхождение. Данные клетки могут по потребности выходить в кровяное русло (подобно моноцитам), перемещаться с током крови в ткани, для последующей дифференцировки в зрелый фенотип. В данной работе нами проведена оценка содержания CD5⁺ILC2 в периферической крови у пациентов с ревматоидным артритом (РА), для которых характерно хроническое воспаление в суставах и неконтролируемая клеточная пролиферация для поддержания воспаления. В работе мы использовали периферическую кровь от пациентов с РА (n = 7) и условно здоровых доноров (n = 13). Полученные мононуклеарные клетки периферической крови (МНК ПК) окрашивали следующей панелью антител: анти-Lineage (CD2/3/14/16/19/20/56/235a), антиCD11c и анти-Fc ϵ R1-alpha-FITC, анти-CD294-PE, анти-CD127-

Адрес для переписки:

Боева Ольга Сергеевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 227-01-35.
E-mail: starchenkova97@gmail.com

Address for correspondence:

Olga S. Boeva
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14 Yadrintsevskaya St
Novosibirsk
630099 Russian Federation
Phone: +7 (383) 227-01-35.
E-mail: starchenkova97@gmail.com

Образец цитирования:

О.С. Боева, В.И. Борисевич, В.С. Аббасова,
В.А. Козлов, М.А. Королев, В.О. Омельченко,
Ю.Д. Курочкина, А.Д. Рыбакова, Е.А. Пашкина
«Повышение относительного количества CD5⁺ клеток
среди ILC2 у пациентов с ревматоидным артритом»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 1003-1008.
doi: 10.46235/1028-7221-17252-IRC

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

For citation:

O.S. Boeva, V.I. Borisevich, V.S. Abbasova, V.A. Kozlov,
M.A. Korolev, V.O. Omelchenko, Yu.D. Kurochkina,
A.D. Rybakova, E.A. Pashkina “Increased relative CD5⁺ILC2
counts in patients with rheumatoid arthritis”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025,
Vol. 28, no. 4, pp. 1003-1008.
doi: 10.46235/1028-7221-17252-IRC

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17252-IRC

PerCP/Cy5.5, антиCD117-APC, анти-CD5-BV-450. ILC определялись как Lin⁻CD127⁺, CD294⁺ILC были идентифицированы как ILC2. Также была оценена доля CD5⁺ клеток среди ILC2. Фенотип клеток анализировали на проточном цитофлуориметре. Нами показано, что доля ILC2 среди всех клеток МНК ПК была достоверно ниже у пациентов с РА по сравнению с группой доноров, а количество CD5⁺ILC2 среди ILC2 достоверно выше CD5⁺ILC2-клеток по сравнению с группой контроля. Полученные результаты являются уникальными и представляют нам новые данные об изменении процента ILC2 среди МНК ПК и CD5⁺ILC2 среди ILC2.

Ключевые слова: врожденный иммунитет, ревматоидный артрит, врожденные лимфоидные клетки, аутоиммунные заболевания, ILC

INCREASED RELATIVE CD5⁺ILC2 COUNTS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Boeva O.S.^a, Borisevich V.I.^b, Abbasova V.S.^b, Kozlov V.A.^a,
Korolev M.A.^c, Omelchenko V.O.^c, Kurochkina Yu.D.^c, Rybakova A.D.^c,
Pashkina E.A.^a

^a Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

^b Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

^c Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Innate lymphoid cells (ILCs) are the innate analogues of lymphocytes that do not express antigen-specific receptors and are primarily found in tissues and mucosa. ILCs are divided into three groups based on the transcription factors and cytokines they secrete. Group 1 ILCs produce interferon (IFN)- γ in response to IL-12 and are dependent on the transcription factor T-bet; group 2 ILCs (ILC2s) predominantly produce type 2 cytokines (IL-5, IL-4, IL-9, and IL-13) in response to IL-33, IL-25, and thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and are dependent on GATA3. Group 3 ILCs include ILC3s and lymphoid tissue inducer cells (LTi). The latter group secretes IL-17 and IL-22 in response to IL-1 β and IL-23 and functionally depends on ROR γ t. Recently, early ILC precursors were found in peripheral blood, which were defined by the CD5 marker and are likely to be of thymic origin. These cells can, on demand, enter the bloodstream (like monocytes), move with the blood flow into tissues for subsequent differentiation into a mature phenotype. In this work, we assessed the content of CD5⁺ILC2 in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis (RA), which is characterized by chronic inflammation in the joints and uncontrolled cell proliferation, thus maintaining the inflammatory events. In this work, we used peripheral blood from patients with RA (n = 7) and conditionally healthy donors (n = 13). The obtained peripheral blood mononuclear cells (PBMPs) were stained with the following panel of antibodies: anti-lineage (CD2/3/14/16/19/20/56/235a), antiCD11c and anti-Fc ϵ R1 alpha-FITC, anti-CD294-PE, anti-CD127-PerCP/Cy5.5, antiCD117-APC, anti-CD5-BV-450. Innate lymphoid cells were defined as Lin⁻CD127⁺, CD294⁺ILCs were identified as ILC2. The proportion of CD5⁺ cells among ILC2 was also evaluated. The cell phenotype was analyzed by flow cytometry. We showed that the proportion of ILC2 among all PBMPs was significantly lower in patients with RA compared to the donor group, and the number of CD5⁺ILC2 among ILC2 was significantly higher than in the control group. The obtained results are unique and provide us with new data on the changing percentage of ILC2 among PC MNCs and CD5⁺ILC2 among ILC2.

Keywords: innate immunity, rheumatoid arthritis, innate lymphoid cells, autoimmune diseases

Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета в рамках государственного задания на научно-исследовательскую работу ФНИ 0415-2024-0010 «Изучение определяющей роли тимуса в развитии социально значимых заболеваний человека на основе разработки ос-

новополагающих методов оценки регуляторной функции тимуса как центрального органа иммунной системы».

Исследование проведено в рамках Государственного задания НИИКЭЛ-филиал ИЦиГ СО РАН: № темы FWNR-2023-0009.

Введение

Предпосылки к изучению врожденных лимфоидных клеток (ILC) появились еще с прошлого столетия (открытие NK и LTi), однако более полная характеристика ILC была описана в начале нашего столетия. Данное открытие внесло новое представление о врожденном иммунитете. За последние 10 лет было показано, что ILC играют важную роль при различных заболеваниях, участвуют в противоаллергическом, в противоопухолевом и в аутоиммунитете [5].

ILC является одной из важных субпопуляций во врожденном иммунитете, которая играет значительную роль при активации иммунного ответа, путем более быстрой и в большем количестве продукции цитокинов, в отличие от CD4⁺T-клеток. Еще одним важным отличием от популяции Т-хелперов является отсутствие антиген-специфических рецепторов (TCR) [12].

ILC подразделяют на три группы на основе экспрессии специфических факторов транскрипции, поверхностных молекул и ключевых цитокинов, которые они секретируют. Группа ILC1, которая включает NK-клетки и ILC1, продуцирует интерферон IFN γ в ответ на IL-12 и зависит от фактора транскрипции T-bet; группа 2 ILC (ILC2) преимущественно продуцирует цитокины 2-го типа (IL-5, IL-4, IL-9 и IL-13) в ответ на IL-33, IL-25 и тимический стромальный лимфопоэтин (TSLP) и зависит от GATA3; группа 3 ILC включает ILC3 и клетки-индукторы лимфоидной ткани (LTi). Последняя группа секретирует IL-17 и IL-22 в ответ на IL-1 β и IL-23 и функционально зависит от ROR γ t [10].

Известно, что ILC – это тканерезидентная группа клеток, которая способна активно перемещаться в органы и ткани через кровь во время развития воспаления и инфекции [3]. Было показано, что у человека были обнаружены незрелые ILC в периферической крови, которые, вероятно, мигрируют из лимфоидных органов в ткани, чтобы начать дифференцироваться в зрелый фенотип. Среди незрелых ILC человека выделяют следующие популяции, которые могут быть обнаружены в периферической крови: CD5⁺ILC и CD117⁺ILC [3].

В данной работе мы провели оценку содержания незрелых ILC2 в периферической крови, так как, согласно литературным данным, количество незрелых форм ILC достоверно выше именно в крови. Нами была выдвинута гипотеза, что при системном аутоиммунном воспалении количество незрелых ILC будет выше, чем у условно здоровых доноров. В качестве примера нами был выбран РА как одно из наиболее распространенных аутоиммунных заболеваний. И в качестве маркера незрелых ILC2 мы выбрали CD5.

Материалы и методы

Материалом исследования служила периферическая венозная кровь, получаемая от пациентов с РА (n = 7) и условно здоровых доноров (n = 13). Кровь пациентов с РА была получена из отделения ревматологии клиники НИИКЭЛ (Филиал ИЦИГ СО РАН). Критерием включения считалось наличие диагноза «РА». Диагноз «РА» выставлялся в соответствии с клиническими критериями ACR/EULAR) 2010 г. Средний возраст пациентов составил 43,85 \pm 3,36 и условно здоровых доноров 33,53 \pm 3,14 соответственно. Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли из периферической крови (ПК) в градиенте плотности фиколл-урографина. Затем МНК окрашивали следующей панелью антител: анти-Lineage (CD2/3/14/16/19/20/56/235a), антиCD11c и анти-FceR1-alpha-FITC, анти-CD294-PE, анти-CD127-PerCP/Cy5.5, анти-CD117-APC, анти-CD5-BV-450. ILC определялись как Lin⁻CD127⁺, CD294⁺ILC были идентифицированы как ILC2. Также была оценена доля CD5⁺ клеток среди ILC2. Фенотип клеток анализировали на проточном цитофлуориметре на проточном цитофлуориметре LongCyte (Challenbio, Китай). Статистический анализ данных проводился с использованием пакета программ GraphPad Prism 9.3.1 (GraphPad, США). Поскольку распределение параметров в группах отличалось от нормального, применялись методы непараметрической статистики. Для оценки значимости различий между группами пациентов и условно здоровых доноров использовался критерий Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Изначально нами было оценено количество ILC2 среди всех клеток МНК ПК. Относительное количество ILC2 было достоверно ниже у пациентов с РА по сравнению с группой доноров (рис. 1). При оценке незрелых ILC среди ILC2 нами были получены достоверные различия, в группе пациентов с РА обнаружено достоверное увеличение CD5⁺ILC2 клеток по сравнению с группой контроля (рис. 2).

Изначально предполагалось, что местом происхождения ILC является костный мозг, однако, согласно последним данным, ILC могут образовываться и в иных тканях [7]. Согласно современным данным ILC могут развиваться во вторичных лимфоидных тканях и собственной пластинке кишечника, а также ILC были найдены в тимусе, что, возможно, связано с их происхождением именно в этом органе [9, 13].

В работе R. Jones и соавт. было показано, что ILC2 составляют основную субпопуляцию ILC в тимусе взрослого человека, так как было

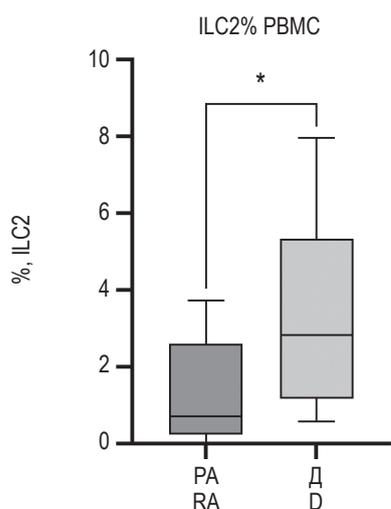


Рисунок 1. Процент ILC2 среди мононуклеарных клеток периферической крови

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с донорами.

Figure 1. Percentage of ILC2 among peripheral blood mononuclear cells

Note. *, significant differences compared with donors.

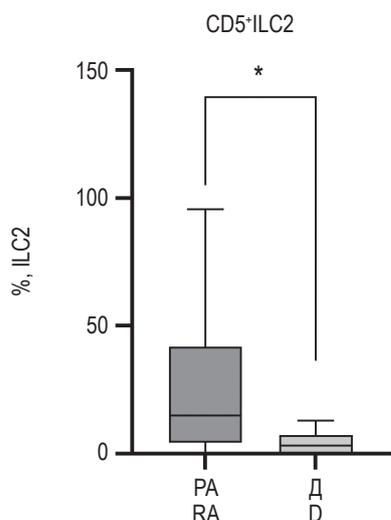


Рисунок 2. Процент клеток CD5+ILC2 среди ILC2

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Percentage of CD5+ILC2 cells among ILC2

Note. As for Figure 1.

обнаружено, что ILC2 активно заселяют тимус после рождения, являясь источником Th2-цитокинов [8]. ILC2 секретируют как IL-5, так и IL-13, таким образом влияя на развитие Т-клеток, так как эти цитокины направляют дифференцировку тимоцитов в сторону миелоидного роста [4, 6]. Также данные цитокины активируют и медуллярный эпителий и способствуют выходу зрелых Т-клеток. Так как ILC2 являются основ-

ной популяцией ILC тимуса у взрослых мышей, возможно, что ILC2 могут участвовать в восстановлении микроокружения тимуса после различных инфекций [6, 8]. Сравнительно недавно в исследовании М. Nagasawa и соавт. были обнаружены CD5+ILC2 в тимусе, которые оказались незрелыми предшественниками ILC2 и вероятно, могут являться тимическими ILC [9]. Доказательством того, что данные клетки являются функционально незрелыми ILC2, являлось то, что CD5+ILC не экспрессировали ни один из генов цитокинов ILC после стимуляции, тогда как CD5+ILC2, полученные в ходе дифференцировки предыдущих, экспрессировали сигнатурные цитокины, характерные для 2-го типа ILC. Вероятно, дифференцировка незрелых ILC2 происходит в тканях, в которых развивается воспаление. Например, было показано, что у пациентов с хроническими полипами носа, при которых происходит значительное увеличение ILC2, не было обнаружено CD5+ILC2. То есть CD5+ILC находятся в периферической крови, а также в высоко-васкуляризованных тканях, таких как тимус, селезенка и легкие [9].

Согласно нашим данным, было получено, что при РА относительное количество ILC2 среди популяции МНК ПК достоверно ниже в группе пациентов по сравнению с группой доноров. Данные, полученные в ходе работы, не противоречат литературным данным. Действительно, снижение ILC2 в ПК среди МНК можно объяснить тем, что большее количество зрелых ILC мигрирует в ткани сустава, так как было показано, что в мышечной модели РА, количество ILC2 в тканях сустава значительно выше, чем в группе контроля [11]. Дополнительно эти данные согласуются с нашими предыдущими данными о снижении ILC2 [1], но не согласуются с данными работы [14]. Т. Wang и соавт. продемонстрировали, что в группе пациентов с РА были более высокие уровни ILC2 пациентов, чем в группе доноров. Данное явление можно объяснить тем, что в этой работе группа пациентов, которая вошла в исследуемую группу, не использовала в качестве терапии генно-инженерную биологию терапию (ГИБП), которая, как известно, снижает ILC2 у пациентов с РА, что было показано в нашей работе [2]. Увеличение CD5+ILC2 в ПК пациентов с РА, вероятно, может быть связано с влиянием воспаления при РА для последующей миграции этих незрелых клеток в очаг воспаления и последующей дифференцировки в зрелый фенотип. Данная гипотеза была предположена в работе А. Alisjahbana и соавт. [3]. Авторы полагают, что CD5+ILC являются «сторожевыми», которые могут подобно моноцитам мигрировать в воспали-

тельную ткань и там дифференцироваться в зрелую популяцию [3].

ILC2 играют определенную роль в поддержании гомеостаза тканей как в норме, так и при патологии. При РА уменьшение процента ILC2 среди МНК ПК может влиять негативно на разрешение воспаления, а увеличение доли CD5⁺ILC2 среди ILC2 может указывать на то, что происходит выход незрелых форм ILC для последующей миграции в очаг воспаления. Данное исследование предоставляет нам новые данные об изменении процента незрелых циркулирующих

в периферической крови CD5⁺ILC2 среди ILC2 у пациентов с РА. Однако на сегодняшний день остается открытым вопрос о роли данных клеток при развитии и поддержании воспаления у пациентов с вышеупомянутой патологией.

Заключение

Таким образом, увеличение CD5⁺ILC2 среди ILC2 и снижение ILC2 среди МНК ПК может свидетельствовать о возможном участии этих клеток в патогенезе ревматоидного артрита.

Список литературы / References

1. Боева О.С., Беришвили М.Т., Сизиков А.Э., Пашкина Е.А. Фенотипические особенности врожденных лимфоидных клеток при ревматоидном артрите // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 4. С. 393-398. [Boeva O.S., Berishvili M.T., Sizikov A.E., Pashkina E.A. Phenotypic features of innate lymphoid cells in rheumatoid arthritis. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 4, pp. 393-398. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1184-PFO.
2. Боева О.С., Козлов В.А., Сизиков А.Э., Королев М.А., Чумасова О.А., Омельченко В.О., Курочкина Ю.Д., Пашкина Е.А. Сравнение фенотипических свойств врожденных лимфоидных клеток на разных стадиях ревматоидного артрита // Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 5. С. 1085-1090. [Boeva O.S., Kozlov V.A., Sizikov A.E., Korolev M.A., Chumasova O.A., Omelchenko V.O., Kurochkina Yu.D., Pashkina E.A. Comparison of phenotypic properties of innate lymphoid cells at various stages of rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 5, pp. 1085-1090. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-COP-2786.
3. Alisjahbana A., Gao Y., Sleiers N., Evren E., Brownlie D., von Kries A., Jorns C., Marquardt N., Michaëlsson J., Willinger T. CD5 surface expression marks intravascular human innate lymphoid cells that have a distinct ontogeny and migrate to the lung. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 752104. doi: 10.3389/fimmu.2021.752104.
4. Barik S., Miller M.M., Cattin-Roy A.N., Ukah T.K., Chen W., Zaghouani H. IL-4/IL-13 signaling inhibits the potential of early thymic progenitors to commit to the T cell lineage. *J. Immunol.*, 2017, Vol. 199, no. 8, pp. 2767-2776.
5. Bartemes K.R., Kita H. Roles of innate lymphoid cells (ILCs) in allergic diseases: The 10-year anniversary for ILC2s. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2021, Vol. 147, no. 5, pp. 1531-1547.
6. Cupedo T. ILC2: at home in the thymus. *Eur. J. Immunol.*, 2018, Vol. 48, no. 9, pp. 1441-1444. doi: 10.1002/eji.201847779.
7. Jan-Abu S.C., Kabil A., McNagny K.M. Parallel origins and functions of T cells and ILCs. *Clin. Exp. Immunol.*, 2023, Vol. 213, no. 1, pp. 76-86.
8. Jones R., Cosway E.J., Willis C., White A.J., Jenkinson W.E., Fehling, H.J., Anderson G., Withers D.R. Dynamic changes in intrathymic ILC populations during murine neonatal development. *Eur. J. Immunol.*, 2018, Vol. 48, no. 9, pp. 1481-1491.
9. Nagasawa M., Germar K., Blom B., Spits H. Human CD5⁺ innate lymphoid cells are functionally immature and their development from CD34⁺ progenitor cells is regulated by Id2. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 1047. doi: 10.3389/fimmu.2017.01047.
10. Nagasawa M., Spits H., Ros X.R. Innate Lymphoid Cells (ILCs): Cytokine Hubs Regulating Immunity and Tissue Homeostasis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2018, Vol. 10, no. 12, a030304. doi: 10.1101/cshperspect.a030304.
11. Omata Y., Frech M., Primbs T., Lucas S., Andreev D., Scholtysek C., Sarter K., Kindermann M., Yeremenko N., Baeten D.L., Andreas N., Kamradt T., Bozec A., Ramming A., Krönke G., Wirtz S., Schett G., Zaiss M.M. Group 2 Innate Lymphoid Cells Attenuate Inflammatory Arthritis and Protect from Bone Destruction in Mice. *Cell Rep.*, 2018, Vol. 24, no. 1, pp. 169-180.
12. Shin S.B., Lo B.C., Ghaedi M., Scott R.W., Li Y., Messing M., Hernaez D.C., Cait J., Murakami T., Hughes M.R., Leslie K.B., Underhill T.M., Takei F., McNagny K.M. Abortive $\gamma\delta$ TCR rearrangements suggest ILC2s are derived from T-cell precursors. *Blood Adv.*, 2020, Vol. 4, no. 21, pp. 5362-5372.
13. Shin S.B., McNagny K.M. ILC-You in the thymus: a fresh look at innate lymphoid cell development. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 681110. doi: 10.3389/fimmu.2021.681110.
14. Wang T., Rui J., Shan W., Xue F., Feng D., Dong L., Mao J., Shu Y., Mao C., Wang X. Imbalance of Th17, Treg, and helper innate lymphoid cell in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.*, 2022, Vol. 41, no. 12, pp. 3837-3849.

Авторы:

Боева О.С. — ординатор, аспирант, лаборант-исследователь лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Борисевич В.И. — студент ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Аббасова В.С. — студент ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Козлов В.А. — д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической иммунопатологии, научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Королев М.А. — д.м.н., главный внештатный ревматолог Министерства здравоохранения Новосибирской области, заместитель руководителя, врач-ревматолог, заведующий лабораторией патологии соединительной ткани Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии — филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Омельченко В.О. — к.м.н., врач-ревматолог отделения ревматологии, научный сотрудник лаборатории патологии соединительной ткани Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии — филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Курочкина Ю.Д. — к.м.н., врач-ревматолог отделения ревматологии, научный сотрудник лаборатории патологии соединительной ткани Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии — филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Рыбакова А.Д. — младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии — филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Пашкина Е.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Boeva O.S., Resident, Postgraduate Student, Assistant Researcher, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Borisevich V.I., Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Abbasova V.S., Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Kozlov V.A., PhD, MD (Medicine), Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Clinical Immunopathology, Scientific Director, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Korolev M.A., PhD, MD (Medicine), Chief Rheumatologist of the Ministry of Health of the Novosibirsk Region, Deputy Head, Rheumatologist, Head of the Laboratory of Connective Tissue Pathology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Omelchenko V.O., PhD (Medicine), Rheumatologist, Department of Rheumatology, Researcher, Laboratory of Connective Tissue Pathology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Kurochkina Yu.D., PhD (Medicine), Rheumatologist of the Department of Rheumatology, Researcher of the Laboratory of Connective Tissue Pathology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Rybakova A.D., Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Pashkina E.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 30.04.2025

Отправлена на доработку 13.05.2025

Принята к печати 22.06.2025

Received 30.04.2025

Revision received 13.05.2025

Accepted 22.06.2025

СВЯЗЬ СЫВОРОТОЧНЫХ АНГИОПОЭТИН-ПОДОБНЫХ БЕЛКОВ 2-ГО, 3-ГО И 4-ГО ТИПОВ С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ОСТЕОАРТРИТА

Александров В.А., Шилова Л.Н., Александров А.В.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Волгоград, Россия

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени
А.Б. Зборовского», г. Волгоград, Россия

Резюме. Гиперфункция ангиопоэтин-подобных белков (АППБ), участвующих в поддержании хронического воспаления, может вести к прогрессированию артропатий различного генеза. Цель исследования – определение взаимосвязи сывороточного уровня ангиопоэтин-подобных белков 2-го, 3-го и 4-го типов с клинико-лабораторными характеристиками остеоартрита (ОА) и коморбидными состояниями. Было обследовано 42 больных ОА (женщин 78,6%, в возрасте $59,2 \pm 8,7$ года и длительностью заболевания $8,9 \pm 5,5$ года). Более выраженное поражение суставов (при оценке рентгенологической стадии) сопровождалось повышением уровня АППБ 4-го типа ($p = 0,014$). В группе больных ОА с наличием синовита были отмечены достоверно более высокие показатели АППБ 2-го и 4-го типов, чем у пациентов без явлений синовита ($p = 0,039$ и $p = 0,021$ соответственно). Содержание АППБ 4-го типа также было достоверно выше и у пациентов с высокими показателями СОЭ и С-реактивного белка (СРБ) ($p = 0,018$). Коморбидный фон больных ОА в основном характеризовался ожирением (40,5%), артериальной гипертензией (АГ) (38%) и наличием метаболического синдрома (МС) (31%). Содержание АППБ 3-го типа у пациентов с МС было выше, чем у больных ОА без МС ($p = 0,024$). Содержание АППБ 4-го типа у пациентов с ожирением было выше, чем у больных ОА с нормальной массой тела ($p = 0,027$), а показатель АППБ 3-го типа в данной группе не достиг уровня статистической значимости ($p = 0,052$). Проведенный дисперсионный анализ также продемонстрировал значимое влияние степени ожирения на уровень АППБ 4-го типа ($p = 0,034$). Уровни АППБ 2-го, 3-го и 4-го типов в группах больных ОА с/без АГ не различались ($p = 0,11$, $p = 0,055$ и $p = 0,09$ соответственно), но при сравнении пациентов с различной степенью АГ разница в содержании АППБ 3-го типа достигла уровня статистической значимости ($p = 0,049$). Таким образом, АППБ демонстрируют различную зависимость от особенностей коморбидного фона у пациентов с ОА: АППБ 2-го типа ассоциируется с воспалительными процессами в суставах, АППБ 3-го типа с наличием МС и выраженностью АГ, а АППБ 4-го типа – с ожирением, воспалением и тяжестью поражения суставов.

Ключевые слова: остеоартрит, ангиопоэтин-подобные белки, синовит, ожирение, артериальная гипертензия, метаболический синдром

Адрес для переписки:

Александров Андрей Вячеславович
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
клинической и экспериментальной ревматологии
имени А.Б. Зборовского»
400138, Россия, г. Волгоград, ул. им. Землячки, 76.
Тел.: 8 (8442) 78-90-98.
E-mail: imlab@mail.ru

Address for correspondence:

Andrey V. Aleksandrov
A. Zborovskiy Research Institute of Clinical
and Experimental Rheumatology
76 Zemlyachka St
Volgograd
400138 Russian Federation
Phone: +7 (8442) 78-90-98.
E-mail: imlab@mail.ru

Образец цитирования:

В.А. Александров, Л.Н. Шилова, А.В. Александров
«Связь сывороточных ангиопоэтин-подобных белков
2-го, 3-го и 4-го типов с клиническими проявлениями
остеоартрита» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 1009-1014.
doi: 10.46235/1028-7221-17240-AOS

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

For citation:

V.A. Aleksandrov, L.N. Shilova, A.V. Aleksandrov
“Association of serum angiopoietin-like proteins types 2, 3
and 4 with clinical manifestations of osteoarthritis”, Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 1009-1014.
doi: 10.46235/1028-7221-17240-AOS

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17240-AOS

ASSOCIATION OF SERUM ANGIOPOIETIN-LIKE PROTEINS TYPES 2, 3 AND 4 WITH CLINICAL MANIFESTATIONS OF OSTEOARTHRITIS

Aleksandrov V.A., Shilova L.N., Aleksandrov A.V.

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation

A. Zborovsky Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd, Russian Federation

Abstract. Hyperactivity of angiopoietin-like proteins (ANGPTL) involved in persistence of chronic inflammation may lead to progression of different arthropathies. The purpose of the study was to evaluate interrelations between serum angiopoietin-like proteins types 2, 3 and 4 with clinical and laboratory characteristics of osteoarthritis (OA) and comorbid conditions. We have examined 42 OA patients (females, 78.6%; aged 59.2 ± 8.7 years; mean disease duration of 8.9 ± 5.5 years) More severe joint damage (assessed as radiological stage) was accompanied by an increased levels of ANGPTL type 4 ($p = 0.014$). The group of OA patients with synovitis had significantly higher rates of type 2 and type 4 ANGPTL than patients without synovitis ($p = 0.039$ and $p = 0.021$, respectively). The content of type 4 ANGPTL was also significantly higher in patients with increased values of ESR and C-reactive protein (CRP) ($p = 0.018$). The associated co-morbidities in OA patients were as follows: obesity (40.5%), arterial hypertension (AH) (38%) and features of metabolic syndrome (MetS) (31%). The levels of type 3 ANGPTL in patients with MetS was higher than in OA patients without MetS ($p = 0.024$). The levels of type 4 ANGPTL in obese patients was higher than in OA patients with normal body weight ($p = 0.027$), and the contents of type 3 ANGPTL in this group did not reach the level of statistical significance ($p = 0.052$). The dispersion analysis also showed a significant effect of obesity degree on the level of type 4 ANGPTL ($p = 0.034$). The levels of ANGPTL types 2, 3 and 4 did not differ between the groups of OA patients with/without AH ($p = 0.11$, $p = 0.055$ and $p = 0.09$, respectively). However, when comparing patients with different degrees of AH, the difference in ANGPTL type 3 levels reached the level of statistical significance ($p = 0.049$). In summary, ANGPTLs showed different dependence on the comorbid background in patients with OA: type 2 ANGPTL is associated with inflammatory processes in joints; type 3 ANGPTL correlates with presence of MetS and severity of AH. Type 4 ANGPTL is associated with obesity, inflammation and severity of joint damage.

Keywords: osteoarthritis, angiopoietin-like proteins, synovitis, obesity, arterial hypertension, metabolic syndrome

Введение

Остеоартроз (ОА) – наиболее распространенное дегенеративное заболевание опорно-двигательного аппарата, основными патологическими изменениями которого являются деформация и разрушение суставного хряща, ремоделирование субхондральной кости и умеренное воспаление синовиальной оболочки [5]. Неуклонный ежегодный рост заболеваемости ОА не только среди пожилого населения, но и в более молодых демографических группах, накладывает значительное бремя на общественное здравоохранение [2, 15].

Сложный этиопатогенез ОА включает старение, ожирение, биомеханические, иммунные и генетические факторы, а также изменения гормонального фона и провоспалительные медиаторы [7, 13]. Несколько клеточных и молекулярных процессов участвуют в патологических изменениях при ОА, однако основные молекулярные регуляторы этих процессов до сих пор неясны [12]. Известно, что ангиопоэтин-подобные белки (АППБ; известно восемь типов белков)

участвуют в восстановлении и ремоделировании поврежденных тканей, но гиперфункция некоторых типов АППБ также может вызывать и/или поддерживать хроническое воспаление, приводящее к прогрессированию артропатий различного генеза. Действие АППБ 2-го типа (АППБ-2) часто выражено в процессах, связанных со старением, ожирением, хронической гипоксией, а также эндотелиальной дисфункцией и развитием атеросклероза [12], АППБ 3-го типа (АППБ-3) ингибирует гидролиз триглицеридов липопротеинлипазой и облегчает прогрессирование ангиогенеза через связь с рецептором интегрина $\alpha v \beta_3$ [4], а АППБ 4-го типа (АППБ-4) участвует в воспалении, процессах резорбции костной ткани и деградации хряща, ангиогенезе и проницаемости сосудов [1, 9].

На фоне слабовыраженного хронического воспаления при ОА чрезмерной деградации хряща способствует семейство матриксных металлопротеиназ (путем разрушения сети коллагена хряща II типа) [10], а прогрессирование заболе-

вания тесно связано с повышенной экспрессией воспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, TNF α) в хряще и суставной жидкости, причем активность данных процессов может регулироваться АППБ-2 через сигнальные пути NF- κ B и p38 MAPK через интегрин $\alpha_5\beta_1$ [12]. И если негативная роль АППБ-2 и АППБ-4 в патогенезе ОА признается [16], то роль АППБ-3 в хондрогенезе или регенерации хряща в настоящий момент окончательно не определена.

Цель исследования – определение взаимосвязи сывороточного уровня ангиопоэтин-подобных белков 2-го, 3-го и 4-го типов с клинико-лабораторными характеристиками остеоартрита и коморбидными состояниями.

Материалы и методы

В исследование были включены 42 больных ОА (женщины 78,6%, работающие 50%, с инвалидностью 14,3%). Средний возраст пациентов составлял 59,2 \pm 8,7 года, средняя длительность заболевания – 8,9 \pm 5,5 года. Генерализованная форма ОА отмечена у 76,2%; рентгенологическая стадия I – у 28,6%, II – у 33,3%, III – у 26,2%. Явления синовита были зарегистрированы у 28,6% больных ОА, наличие метаболического синдрома (МС) – у 31%, ожирение различной степени – у 40,5% (8 пациентов с I, 7 со II и 2 с III степенью ожирения). Диагностику МС проводили по критериям Международной Диабетической Федерации (IDF) 2006 года. Индекс массы тела (ИМТ) был рассчитан по формуле Кеттле (вес/рост²). Образцы сыворотки крови пациентов с ОА были проанализированы с помощью иммуноферментного метода на содержание АППБ 2-го, 3-го, 4-го типов (использовали коммерческие тест-системы производства фирм RayBiotech, США и Cloud-Clone Corp., КНР). С-реактивный белок (СРБ) определяли методом латекс-агглютинации (норма – \leq 6 мг/л), СОЭ (мм/ч) – по методу Вестергрена (норма для лиц старше 50 лет: мужчины – $<$ 20 мм/ч, женщины – $<$ 30 мм/ч). Стандартные методы биохимического исследования крови были использованы для определения активности аминотрансфераз, уровня холестерина (ХС), глюкозы крови (натощак), триглицеридов (ТГ), билирубина, креатинина общего белка и др.

Все статистические анализы проведены с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). При представлении данных описательной статистики использовали $M \pm SD$ (среднее значение \pm стандартное отклонение). Категориальные переменные представлены в процентах (%). Использовали непараметрические методы анализа. Связь между количественными показателями рассчитывали с помощью корреляционного теста Спирмена (ρ). При определении межгрупповых

различий использовали тест Манна–Уитни для независимых выборок, для множественных оценок содержания АППБ (\geq 3 групп) был применен непараметрический дисперсионный анализ Краскала–Уоллиса (H-тест). Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Результаты и обсуждение

Средние показатели содержания АППБ в сыворотке крови пациентов с ОА составили: 3,63 \pm 1,92 нг/мл для АППБ-2, 466 \pm 272 нг/мл для АППБ-3 и 409 \pm 219 нг/мл для АППБ-4. Из всех представленных АППБ только АППБ-2 и АППБ-3 коррелировали между собой ($\rho = 0,32$, $p = 0,041$). АППБ-2 достоверно коррелировал с длительностью заболевания ($\rho = 0,35$, $p = 0,02$), уровнем глюкозы в крови ($\rho = 0,44$, $p = 0,003$), билирубином ($\rho = 0,27$, $p = 0,048$) и ИМТ ($\rho = 0,29$, $p = 0,043$); АППБ-3 коррелировал с уровнем глюкозы в крови ($\rho = 0,34$, $p = 0,025$), СРБ ($\rho = 0,29$, $p = 0,05$), креатинином ($\rho = 0,34$, $p = 0,028$), АСТ ($\rho = 0,29$, $p = 0,047$), общим холестерином ($\rho = 0,37$, $p = 0,019$) и ИМТ ($\rho = 0,38$, $p = 0,02$); АППБ-4 положительно коррелировал с СРБ ($\rho = 0,38$, $p = 0,013$), уровнем глюкозы в крови ($\rho = 0,29$, $p = 0,05$), ТГ ($\rho = 0,3$, $p = 0,027$), общим белком ($\rho = 0,32$, $p = 0,05$) и отрицательно с возрастом ($\rho = -0,33$, $p = 0,034$) и уровнем липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) ($\rho = 0,4$, $p = 0,009$).

Показатели АППБ у пациентов с ОА не различались в зависимости от формы заболевания ($p > 0,05$ для всех типов). У больных первичным генерализованным ОА наиболее часто отмечали поражение трех и более групп суставов (кисти, позвоночник, коленные и тазобедренные суставы). Более выраженное поражение суставов (при оценке рентгенологической стадии) сопровождалось повышением уровня АППБ-4 (H-тест = 10,6, $p = 0,014$).

Посредством различных воспалительных цитокинов и медиаторов воспаление способно играть значимую роль в патогенезе ОА. АППБ различных типов и в различной степени могут способствовать хроническому воспалению суставного хряща и деградации хрящевого матрикса [12]. При оценке активности воспалительного процесса у больных ОА, включенных в исследование, ориентировались, в первую очередь, на наличие синовита и лабораторные показатели, характеризующие воспаление, такие как СОЭ и СРБ. В группе больных ОА с наличием синовита были отмечены достоверно более высокие показатели АППБ-2 и АППБ-4, чем у пациентов без явлений синовита ($p = 0,039$ и $p = 0,021$ соответственно). Содержание АППБ-4 также было достоверно выше и у пациентов с высокими показателями СОЭ и СРБ ($p = 0,018$) (табл. 1). Про-

ТАБЛИЦА 1. УРОВНИ АНГИОПОЭТИН-ПОДОБНЫХ БЕЛКОВ 2-ГО, 3-ГО И 4-ГО ТИПОВ (НГ/МЛ) В ГРУППАХ БОЛЬНЫХ ОА
TABLE 1. LEVELS OF ANGIOPOIETIN-LIKE PROTEINS TYPES 2, 3 AND 4 (NG/ML) IN GROUPS OF PATIENTS WITH OA

Показатели Parameters	АППБ-2 ANGPTL2	АППБ-3 ANGPTL3	АППБ-4 ANGPTL4
ОА с синовитом OA with synovitis (n = 12)	4,65±2,09	594±310	588±295
ОА без синовита OA without synovitis (n = 30)	3,22±1,71*	415±242	337±128*
ОА с высокими значениями СОЭ/СРБ OA with high ESR/CRP values (n = 8)	5,01±2,42	650±313	632±310
ОА со значениями СОЭ/СРБ в пределах нормы OA with ESR/CRP values within normal limits (n = 34)	3,31±1,66	422±246	356±156*
ОА с МС OA with MetS (n = 13)	4,16±1,56	574±205	427±242
ОА без МС OA without MetS (n = 29)	3,39±0,04	418±268*	401±213
ОА с ожирением OA with obesity (n = 17)	3,76±1,25	513±229	487±238
ОА без ожирения OA without obesity (n = 25)	3,76±1,25	434±297*	356±193*
ОА с АГ OA with AH (n = 16)	4,35±2,26	592±319	496±277
ОА без АГ OA without AH (n = 26)	3,18±1,55	388±208*	354±158

Примечание. ОА – остеоартрит, АППБ – ангиопоэтин-подобный белок, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, МС – метаболический синдром, АГ – артериальная гипертензия. М±SD – среднее и стандартное отклонение, * – статистически значимые различия в подгруппах.

Note. OA, osteoarthritis; ANGPTL, angiotensin-like protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP – C-reactive protein; MetS – metabolic syndrome; AH, arterial hypertension. M±SD, mean and standard deviation; *, statistically significant differences in subgroups.

верка наличия нелинейной зависимости между АППБ и маркерами воспаления (метод наименьших квадратов) показала только влияние СРБ на АППБ-2 ($p = 0,04$).

Ранее было показано, что на фоне хронического воспаления гиперхолестеринемия может способствовать развитию ОА через окислительный стресс и апоптоз хондроцитов, поэтому снижение уровня ХС показано пациентам с ОА, у которых наблюдается как дислипидемия, так и воспаление [17]. Данные корреляционного анализа продемонстрировали у больных ОА связь изучаемых АППБ с лабораторными показателями, характеризующими МС (глюкоза крови, ТГ, ХС). При оценке коэффициентов уравнения нелинейной зависимости из всех представленных

маркеров МС только глюкоза крови оказывала значимое влияние на содержание АППБ-3 и АППБ-4 ($p = 0,026$ и $p = 0,01$ соответственно). МС был диагностирован у 31% больных ОА. Содержание АППБ-3 у пациентов с МС было выше, чем у больных ОА без МС ($p = 0,024$), уровни АППБ-2 имели тенденцию к росту при наличии МС ($p = 0,07$), а показатели АППБ-4 значимо не различались в данных группах ($p > 0,05$) (табл. 1).

В 40,5% случаев у больных ОА было выявлено ожирение. Содержание АППБ-4 у пациентов с ожирением было выше, чем у больных ОА с нормальной массой тела ($p = 0,027$), показатель АППБ-3 не достиг уровня статистической значимости ($p = 0,052$) (табл. 1). Проведенный дисперсионный анализ также продемонстрировал зна-

чимое влияние ожирения на уровень АППБ-4. Были получены данные о достоверных различиях показателей АППБ-4 у пациентов с ОА без ожирения ($n = 25$), первой ($n = 8$), второй ($n = 7$) и третьей ($n = 2$) степенью ожирения (Н-тест = 8,66, $p = 0,034$). Уровни АППБ-2 и АППБ-3 в данных группах не различались ($p > 0,05$).

Практически каждый второй больной ОА имеет сочетанную патологию, в структуре которой лидирующее положение наряду с ожирением занимают артериальная гипертензия, атеросклероз и ассоциированные с ними состояния [2]. В 38% случаев у пациентов с ОА отмечалось наличие артериальной гипертензии (АГ) различной степени выраженности. Уровни АППБ 2-го, 3-го и 4-го типов в группах больных ОА с/без АГ не различались ($p = 0,11$, $p = 0,055$ и $p = 0,09$ соответственно), но при сравнении пациентов с различной степенью АГ (легкая – 7, средняя – 6 и тяжелая – 3 человека) различия в содержании АППБ-3 достигли уровня статистической значимости (Н-тест = 7,83, $p = 0,049$).

В целом, АППБ демонстрируют различную зависимость от особенностей коморбидного фона у пациентов с ОА: АППБ-2 ассоциируется с воспалительными процессами в суставах, АППБ-3 с наличием МС и выраженностью АГ, а АППБ-4 – с ожирением, воспалением и тяжестью поражения суставов. АППБ-4 представляет собой многогранный секреторный белок с преимущественной экспрессией в жировой ткани и печени, способный не только играть важную роль в воспалении [3], метаболизме липидов и глюкозы, но и демонстрирующий связь с тяжестью ОА [11].

Было обнаружено существенное различие в экспрессии АППБ-4 в хондроцитах больных ОА по сравнению со здоровыми лицами [6]. Установлено, что подавление АППБ-4 (в моделях на животных) снижает воспаление и апоптоз хондроцитов, вызванные $TNF\alpha$, а также снижает прогрессирование ОА посредством подавления сигнального пути сиртуина 1/NF- κ B [8]. Более того, подавление АППБ-4 может предотвратить ожирение, вызванное диетой, уменьшить эктопическое накопление липидов и повысить чувствительность к инсулину и толерантность к глюкозе [14].

Продемонстрированные результаты исследований в совокупности предполагают, что АППБ-4, обладая способностью влиять на экспрессию провоспалительных цитокинов, хемокинов и других значимых для развития ОА медиаторов, может играть роль в прогрессировании воспаления и характеризовать различные фенотипические варианты данного заболевания. Точное определение роли АППБ-4 в развитии ОА имеет значение для поиска возможностей замедления прогрессирования заболевания, в том числе посредством разработки целевых терапевтических вмешательств.

Заключение

Таким образом, у пациентов с ОА на содержание АППБ значимое влияние оказывают ожирение и наличие синовита, причем у больных с явлениями синовита на фоне выраженного воспаления (высокие показатели СОЭ и СРБ) отмечаются наиболее высокие показатели АППБ 4-го типа.

Список литературы / References

1. Османова Г.Я., Александров В.А., Александров А.В., Шилова Л.Н., Черкесова Е.Г., Александрова Н.В., Зборовская И.А. Антитела к циклическому цитруллинованному пептиду и ангиопоэтиноподобный белок 4 типа как маркеры иммунного воспаления и остеопоротических процессов у больных ревматоидным артритом // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 2. С. 393-400. [Osmanova G.Ya., Aleksandrov V.A., Aleksandrova N.V., Shilova L.N., Cherkesova E.G., Aleksandrova N.V., Zborovskaya I.A. Antibodies to cyclic citrullinated peptide and angiopoietin-like protein type 4 as markers of immune inflammation and osteoporotic processes in rheumatoid arthritis patients. *Meditinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2024, Vol. 26, no. 2, pp. 393-400. (In Russ.)] doi:10.15789/1563-0625-ATC-2862.
2. Цвингер С.М., Говорин А.В., Романова Е.Н., Портянникова О.О. Частота остеоартрита и особенности коморбидного фона у пациентов, обращающихся за медицинской помощью по поводу болей в суставах // Профилактическая медицина, 2021. Т. 24, № 1. С. 67-72. [Zwinger S.M., Govorin A.V., Romanova E.N., Portyannikova O.O. The incidence of osteoarthritis and features of the comorbid background in patients seeking medical help for joint pain. *Profilakticheskaya meditsina = Russian Journal of Preventive Medicine*, 2021, Vol. 24, no. 1, pp. 67-72. (In Russ.)]
3. Aleksandrov V.A., Shilova L.N., Alekhina I.Y., Aleksandrova N.V., Nikitina N.V., Aleksandrov A.V. The role of angiopoethin-like protein 4 type in progression of inflammatory changes in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2019, Vol. 78, s2, pp. 2022-2023.
4. Biterova E., Esmaeli M., Alanen H.I., Saaranen M., Ruddock L.W. Structures of Angptl3 and Angptl4, modulators of triglyceride levels and coronary artery disease. *Sci. Rep.*, 2018, Vol. 8, no. 1, 6752. doi:10.1038/s41598-018-25237-7.
5. Goldring S.R., Goldring M.B. Changes in the osteochondral unit during osteoarthritis: Structure, function and cartilage-bone crosstalk. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2016, Vol. 12, pp. 632-644.

6. He M., Yu Q., Xiao H., Dong H., Li D., Gu W. Screening and validation of key genes associated with osteoarthritis. *BMC Musculoskelet. Disord.*, 2024, Vol. 25, no. 1, 954. doi: 10.1186/s12891-024-08015-7.
7. Hunter D.J., Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. *Lancet*, 2019, Vol. 393, pp. 1745-1759.
8. Jia C., Li X., Pan J., Ma H., Wu D., Lu H., Wang W., Zhang X., Yi X. Silencing of angiopoietin-like protein 4 (Angptl4) decreases inflammation, extracellular matrix degradation, and apoptosis in osteoarthritis via the sirtuin 1/NF-kappaB pathway. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2022, 1135827. doi: 10.1155/2022/1135827.
9. Knowles H.J. Multiple roles of angiopoietin-like 4 in osteolytic disease. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2017, Vol. 8, 80. doi: 10.3389/fendo.2017.00080.
10. Ma C.H., Wu C.H., Jou I.M., Tu Y.K., Hung C.H., Hsieh P.L., Tsai K.L. PKR activation causes inflammation and MMP-13 secretion in human degenerated articular chondrocytes. *Redox Biol.*, 2018, Vol. 14, pp. 72-81.
11. Mao G., Xu W., Wan L., Wang H., Xu S., Zhang L., Li S., Zhang J., Lai Z., Lan Y., Liu J. Unveiling the bioinformatic genes and their involved regulatory mechanisms in type 2 diabetes combined with osteoarthritis. *Front. Immunol.*, 2024, Vol. 15, 1353915. doi: 10.3389/fimmu.2024.1353915.
12. Shan W., Cheng C., Huang W., Ding Z., Luo S., Cui G., Lu W., Liu F., Xu J., He W., Yin Z. Angiopoietin-like 2 upregulation promotes human chondrocyte injury via NF-κB and p38/MAPK signaling pathway. *J. Bone Miner. Metab.*, 2019, Vol. 37, no. 6, pp. 976-986.
13. Sharma L. Osteoarthritis of the knee. *N Engl. J. Med.*, 2021, Vol. 384, pp. 51-59.
14. Singh A.K., Chaube B., Zhang X., Sun J., Citrin K.M., Canfran-Duque A., Aryal B., Rotllan N., Varela L., Lee R.G., Horvath T.L., Price N., Suárez Y., Fernandez-Hernando C. Hepatocyte-specific suppression of ANGPTL4 improves obesity-associated diabetes and mitigates atherosclerosis in mice. *J. Clin. Invest.*, 2021, Vol. 131, e140989. doi: 10.1172/JCI140989.
15. Sun A.R., Udduttula A., Li J., Liu Y., Ren P.G., Zhang P. Cartilage tissue engineering for obesity-induced osteoarthritis: physiology, challenges, and future prospects. *J. Orthop. Translat.*, 2021, Vol. 26, pp. 3-15.
16. Thorin-Trescases N., Thorin E. Angiopoietin-like-2: a multifaceted protein with physiological and pathophysiological properties. *Expert. Rev. Mol. Med.*, 2014, Vol. 16, e17. doi: 10.1017/erm.2014.19.
17. van Gemert Y., Kozijn A.E., Pouwer M.G., Kruisbergen N.N.L., van den Bosch M.H.J., Blom A.B., Pieterman E.J., Weinans H., Stoop R., Princen H.M.G., van Lent P.L.E.M. Novel high-intensive cholesterol-lowering therapies do not ameliorate knee OA development in humanized dyslipidemic mice. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, Vol. 29, no. 9, pp. 1314-1323.

Авторы:

Александров В.А. — ассистент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; младший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», г. Волгоград, Россия

Шилова Л.Н. — д.м.н., доцент, заведующая кафедрой госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; старший научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», г. Волгоград, Россия

Александров А.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующий лабораторией функциональных методов исследования, ультразвуковой диагностики и восстановительной терапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», г. Волгоград, Россия

Authors:

Aleksandrov V.A., Assistant Professor, Department of Hospital Therapy, Volgograd State Medical University; Junior Research Associate, A. Zborovsky Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd, Russian Federation

Shilova L.N., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Hospital Therapy, Volgograd State Medical University; Senior Researcher, A. Zborovsky Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd, Russian Federation

Aleksandrov A.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Volgograd State Medical University; Head, Laboratory of Functional Research Methods, Ultrasound Diagnostics and Rehabilitation Therapy, A. Zborovsky Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd, Russian Federation

Поступила 26.04.2025
Отправлена на доработку 15.05.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 26.04.2025
Revision received 15.05.2025
Accepted 22.06.2025

ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА D НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ У ПАЦИЕНТОВ С АНКИЛОЗИРУЮЩИМ СПОНДИЛИТОМ

**Никитин М.В.¹, Александрова Н.В.², Алёхина И.Ю.³, Безуглов И.Д.⁴,
Александров А.В.^{2, 4}, Зборовская И.А.²**

¹ Санаторно-курортный комплекс «Вулан» – научно-клинический филиал Национального медицинского исследовательского центра реабилитации и курортологии Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», г. Волгоград, Россия

³ ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ставрополь, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Волгоград, Россия

Резюме. Низкая концентрация витамина D в крови ассоциируется с наличием, риском развития, активностью и более тяжелым течением анкилозирующего спондилита (АС). Для изучения влияния дефицита витамина D на эффективность реабилитационных мероприятий в условиях санаторно-курортного лечения было обследовано 58 пациентов с АС (мужчин 62,1%, возраст 48 (39-58) лет). Определение уровня витамина (25-ОН)D, гематологических индексов SII (systemic immune-inflammation index; SII = количество тромбоцитов × количество нейтрофилов/количество лимфоцитов) и SIRI (system inflammation response index; SIRI = количество нейтрофилов × количество моноцитов/количество лимфоцитов) проводилось по прибытию в санаторно-курортное учреждение и перед выпиской. Средний индекс активности заболевания BASDAI составил 3,0 (2,4-3,5) балла. Низкая активность АС определена у 31%, умеренная – у 69% пациентов. Исходный уровень витамина D отрицательно коррелировал с показателем интенсивности боли при ходьбе (VAS) ($\rho = -0,44$, $p < 0,001$), причем связь данных показателей при выписке сохранялась, но была менее выраженной ($\rho = -0,27$, $p = 0,039$). В общей группе больных АС дефицит витамина D (< 20 нг/мл) отмечался в 13,8%, а недостаточный уровень (показатели в диапазоне 20-29 нг/мл) – в 25,9% случаев. У пациентов с нормальным (> 30 нг/мл) и сниженным (≤ 29 нг/мл) уровнем витамина D различия были отмечены для показателей VAS

Адрес для переписки:

Александрова Нинель Владимировна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
клинической и экспериментальной ревматологии
имени А.Б. Зборовского»
400138, Россия, г. Волгоград,
ул. им. Землячки, 76, корп. 2.
Тел.: 8 (8442) 78-90-98.
E-mail: nynel68@mail.ru

Address for correspondence:

Ninel V. Aleksandrova
A. Zborovsky Research Institute
of Clinical and Experimental Rheumatology
76 Zemlyachki St, Bldg 2
Volgograd
400138 Russian Federation
Phone: +7 (8442) 78-90-98.
E-mail: nynel68@mail.ru

Образец цитирования:

М.В. Никитин, Н.В. Александрова, И.Ю. Алёхина,
И.Д. Безуглов, А.В. Александров, И.А. Зборовская
«Влияние дефицита витамина D на эффективность
реабилитационных мероприятий у пациентов с
анкилозирующим спондилитом» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С.
1015-1022.

doi: 10.46235/1028-7221-17285-IOV

© Никитин М.В. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

M.V. Nikitin, N.V. Aleksandrova, I.Yu. Alekhina,
I.D. Bezuglov, A.V. Aleksandrov, I.A. Zborovskaya
“Impact of vitamin D deficiency on efficiency of rehabilitation programs
in patients with ankylosing spondylitis”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025,
Vol. 28, no. 4, pp. 1015-1022.

doi: 10.46235/1028-7221-17285-IOV

© Nikitin M.V. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17285-IOV

($p = 0,0025$), СОЭ ($p = 0,040$) и SIRI ($p = 0,046$). Все пациенты с АС были разделены на две группы: I ($n = 26$) – прибывшие на лечение из регионов с низким уровнем солнечной инсоляции; II ($n = 32$) – прибывшие на лечение из регионов с высоким уровнем солнечной инсоляции. На исходном уровне достоверно более низкое содержание витамина D было отмечено у больных АС в I группе ($p = 0,040$). Трехнедельное пребывание и лечение в санатории (территория с высоким уровнем солнечной инсоляции) продемонстрировали повышение уровня витамина D ($p = 0,027$) и снижение интенсивности боли по VAS ($p = 0,017$) только у пациентов из группы II. Из маркеров воспаления только SIRI показал достоверное снижение во II группе ($p = 0,038$) пациентов с АС в процессе лечения. Гематологический индекс SIRI объективно отражает динамику состояния пациентов с АС, прибывающих на санаторно-курортное лечение из различных по уровню солнечной инсоляции регионов.

Ключевые слова: анкилозирующий спондилит, витамин D, интенсивность боли, индекс системной воспалительной реакции, солнечная инсоляция, санаторно-курортное лечение

IMPACT OF VITAMIN D DEFICIENCY ON EFFICIENCY OF REHABILITATION PROGRAMS IN PATIENTS WITH ANKYLOSING SPONDYLITIS

Nikitin M.V.^a, Aleksandrova N.V.^b, Alekhina I.Yu.^c, Bezuglov I.D.^d, Aleksandrov A.V.^{b, d}, Zborovskaya I.A.^b

^a Sanatorium and Resort Complex “Vulan”, Research and Clinical Branch of the National Medical Research Center of Rehabilitation and Balneology, Moscow, Russian Federation

^b A. Zborovsky Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd, Russian Federation

^c Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

^d Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation

Abstract. Low blood vitamin D concentrations are associated with incidence, risk of development, activity and more severe clinical course of ankylosing spondylitis (AS). 58 patients with AS (males 62.1%, age 48 (39-58) years) were examined to study the impact of vitamin D deficiency on the efficiency of rehabilitation measures under the programs of sanatorium and resort therapy. Determination (25-OH) of vitamin D level, haematological indices SII (systemic immune-inflammation index; SII = number of platelets \times number of neutrophils/number of lymphocytes) and SIRI (systemic inflammation response index; SIRI = number of neutrophils \times number of monocytes/number of lymphocytes) were performed on admission to the sanatorium and before discharge. The average BASDAI disease activity index was 3.0 (2.4-3.5) points. Low AS activity was documented in 31% and moderate activity, in 69% of patients. The baseline vitamin D levels showed negative correlation with pain intensity score (VAS, visual analog score) during walking ($\rho = -0.44$, $p < 0.001$). Association of these measures at discharge persisted but was less significant ($\rho = -0.27$, $p = 0.039$). In the total group of AS patients, vitamin D deficiency (< 20 ng/mL) was observed in 13.8%, and mild deficiency levels (ranging from 20 to 29 ng/mL) have been revealed in 25.9% of cases. When comparing patients with normal (> 30 ng/mL) and reduced (≤ 29 ng/mL) vitamin D levels, significant differences were noted for VAS ($p = 0.0025$), ESR ($p = 0.040$) and SIRI ($p = 0.046$). All patients with AS were divided into two groups: Group I ($n = 26$) admitted for treatment from regions with low level of solar insolation; Group II ($n = 32$) arrived for treatment from regions with high insolation levels. Initially, a significantly lower vitamin D content was observed in AS patients in group I ($p = 0.040$). A three-week stay and treatment at the sanatorium (an area with high solar insolation) was associated with an increase in vitamin D levels ($p = 0.027$), and decreased VAS pain intensity ($p = 0.017$) only in group II patients. When testing the inflammatory markers, only SIRI showed a significant decrease in group II patients with AS in the course of treatment ($p = 0.038$). In conclusion, the hematological SIRI index objectively reflects clinical dynamics of AS patients arriving for sanatorium and resort therapy from the regions with different levels of solar insolation.

Keywords: ankylosing spondylitis, vitamin D, pain intensity, systemic inflammatory response index, solar insolation, sanatorium-resort treatment

Введение

Несмотря на современные достижения персонализированной медицины, поиск новых маркеров ранних проявлений любого хронического заболевания способен не только оказать помощь в диагностике, но и определяет цели для лечебных и, возможно, профилактических вмешательств [7]. Витамин D – стероидный гормон с мощными иммуномодулирующими свойствами [17]. Низкая концентрация витамина D в крови ассоциируется с наличием, риском развития, активностью и более тяжелым течением ряда аутоиммунных ревматических заболеваний (АРЗ), в число которых входит и анкилозирующий спондилит (АС) [2]. Участвуя в активации макрофагов и дифференцировке макрофагов из моноцитов витамин D способен выполнять роль регулятора врожденного иммунитета [20]. Витамин D может модулировать иммунный ответ, воздействуя на антигенпрезентирующие клетки, моноциты и естественные клетки-киллеры [19], способствуя дифференцировке Tregs и подавляя экспрессию toll-подобных рецепторов и выработку воспалительных цитокинов моноцитами [3]. Основной циркулирующей формой витамина D, используемой для определения его статуса, является 25(OH)D₃, который важен для местного производства 1,25(OH)₂D₃. Витамин D вырабатывается локально моноцитами, действующими интракринным образом [9], что приводит к сдвигу иммунитета от воспалительного состояния к толерогенному. Дефицит витамина D связан с развитием аутоиммунной патологии [22], но в то же время воспаление при АРЗ может способствовать дополнительному снижению его уровня [13, 16, 18]. Дефицит витамина D у пациентов воспалительными ревматическими заболеваниями зависит не только от активности заболевания, но и связан с уровнем инсоляции в регионе проживания [15].

Цель исследования – оценка уровня циркулирующего витамина D у больных анкилозирующим спондилитом в процессе санаторно-курортного лечения.

Материалы и методы

Сохранение, а при необходимости и восстановление трудоспособности больных АС может быть достигнуто при проведении физической реабилитации в условиях санаторно-курортного лечения (СКЛ). После клинико-лабораторного обследования в ФГБНУ «НИИ КиЭР им. А.Б. Зборовского» 58 пациентов с АС (36 мужчин и 22 женщины в возрасте от 33 до 67 лет и средней длительностью заболевания 8,5 (4,5-12) года) получили направление на СКЛ в соответ-

ствии с медицинскими показаниями (код заболевания М45): пациенты с низкой или умеренной активностью (по индексу AS Disease Activity Score; ASDAS-СРБ ≤ 2,1), медленно или без заметного прогрессирования заболевания и функциональной недостаточностью суставов не выше II степени. Для оценки активности АС наряду с индексом ASDAS (с определением СРБ в качестве лабораторной компоненты) использовали индекс BASDAI (Bath AS Disease Activity Index), для определения интенсивности боли (при ходьбе) – показатель VAS (визуальная аналоговая шкала) в см. На основе показателей общего анализа крови (ОАК), полученных на автоматическом гематологическом анализаторе (тромбоциты – PLT, нейтрофилы – NEUT, моноциты – MON, лимфоциты – LYM), были рассчитаны многокомпонентные гематологические маркеры: индекс системного иммунного воспаления SII = (PLT x NEUT) / LYM; индекс системной воспалительной реакции SIRI = (MON x NEUT) / NEUT. Определение СОЭ проводилось по методу Вестергрена. Определение уровня (25-ОН)D в сыворотке крови больных АС осуществляли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (тест-система «25-ОН витамин D-Имаксиз (IMAXYZ)», Vital, Россия). Все клинико-лабораторные характеристики, в том числе абсолютное количество тромбоцитов, нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов, показатели СОЭ, СРБ и уровня (25-ОН)D в сыворотке крови, были собраны дважды – по прибытии в санаторно-курортное учреждение (СКК «Вулан», Геленджик) и перед выпиской (в среднем через 18 дней). Основное время пребывания пациентов с АС в санаторно-курортном учреждении (СКУ) приходилось на осенне-зимний период (в осенние месяцы – 24, в зимние – 20 и в весенние месяцы – 14 человек).

Статистический анализ включал межгрупповые сравнения с использованием непараметрических методов (U-критерий Манна–Уитни и дисперсионный анализ). Отношения между переменными определялись при расчете двумерных корреляций по тесту Спирмена (ρ). Порог статистической значимости был определен как $p < 0,05$. Описательная статистика представлена медианными значениями показателей и квартилями. Все статистические анализы проводились с использованием пакета программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты и обсуждение

При первичном обращении в СКУ низкая активность АС (ASDAS < 1,3; BASDAI < 2,0) отмечалась у 18 человек, а у 40 пациентов – умеренная

активность заболевания (ASDAS 1,3-2,1; BASDAI 2,0-4,0). Поздняя клиническая стадия зарегистрирована у 65,5% обследованных лиц. Достоверных различий в исследуемых показателях у пациентов с АС в зависимости от пола обнаружено не было ($p > 0,05$). Показатели активности заболевания ASDAS и BASDAI коррелировали между собой ($\rho = 0,36$, $p = 0,048$), а ASDAS также был слабо связан с СОЭ ($\rho = 0,26$, $p = 0,042$). Гематологический показатель SII коррелировал с ИМТ ($\rho = 0,34$, $p = 0,009$), СОЭ ($\rho = 0,32$, $p = 0,015$) и СРБ ($\rho = 0,42$, $p = 0,001$), а SIRI – только с СОЭ ($\rho = 0,29$, $p = 0,044$). Исходный уровень витамина D отрицательно коррелировал с VAS ($\rho = -0,44$, $p < 0,001$), причем связь данных показателей при выписке сохранялась, но была менее выраженной ($\rho = -0,27$, $p = 0,039$). В 13,8% случаев у обследованных лиц наблюдали уровень витамина D менее 20 нг/мл, а в 25,9% случаев – в диапазоне > 20 и ≤ 29 нг/мл. Оптимальный для здоровья уровень витамина D неизвестен. Согласно современным рекомендациям адекватным уровнем витамина D в крови является концентрация (25-ОН) D > 30 нг/мл (недостаточность – 20-30 нг/мл, дефицит – менее 20 нг/мл) [1]. Группы больных АС с нормальным (> 30 нг/мл, группа 1) и сниженным (≤ 29 нг/мл, группа 2) уровнем витамина D продемонстрировали различия в показателях VAS ($p = 0,0025$), СОЭ ($p = 0,040$) и SIRI ($p = 0,046$) (табл. 1). При выделении группы с дефицитом витамина D (< 20 нг/мл) межгрупповые различия (H-test) сохранились только для показателей VAS ($p = 0,003$). Достаточный уровень сывороточного витамина D способен контролировать синтез провоспалительных цитокинов и оказывать противовоспалительный эффект [21], который, вероятно, будет проявляться и снижением других воспалительных маркеров (в данном случае наблюдалось снижение СОЭ и SIRI). При аутоиммунных заболеваниях происходят изменения количества, формы и размера клеток периферической крови. Все виды клеток, представленные в индексе SIRI, принимают активное участие в патогенезе АИЗ, таких как РА [4, 6] и АС [12]. Было отмечено, что моноциты демонстрируют более выраженную фагоцитарную активность и высокие провоспалительные свойства при АС [14]. Нейтрофилы экспрессируют функциональный рецептор витамина D. Было обнаружено, что введение $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ подавляет функцию и активность нейтрофилов за счет снижения выработки воспалительных цитокинов и активных форм кислорода [10]. Лимфоциты, представленные в обоих индексах в качестве знаменателя, служат специфическими маркерами статуса иммунитета. По-видимому, именно благодаря своим составляющим компонентам индекс

SIRI, в отличие от SII (в котором вместо MON в числителе представлены PLT), оказался более подходящим маркером для прогнозирования воспаления при АС. Однако следует учитывать, что по медицинским показаниям для санаторно-курортного лечения отбирались только лица с низкой или умеренной активностью заболевания (ASDAS $< 2,1$; BASDAI $< 4,0$), следовательно, полученные закономерности применимы у больных АС только в рамках слабовыраженного хронического воспаления.

58 (100%) человек, направленных на СКЛ, завершили исследование в полном объеме, а клинико-лабораторные результаты их пребывания в СКУ были зарегистрированы и статистически проанализированы. Все включенные в исследование лица были рандомизированы по уровню солнечной инсоляции в месте постоянного проживания: прибывшие из регионов со средней годовой инсоляцией < 2000 часов в год (низкий уровень) составили группу 1, лица из областей со средней годовой инсоляцией > 2000 часов в год (высокий уровень) – группу 2. При первичном обследовании в СКУ статистически значимые различия отмечены для уровня витамина D (более высокие показатели в группе 2; $p = 0,040$), значений индексов SIRI и ASDAS (более низкие показатели в группе 2; $p = 0,024$ и $p = 0,01$ соответственно) (табл. 2). СКЛ осуществлялось в СКУ, находящемся на черноморском побережье Краснодарского края в районе, классифицированном как территория с высоким уровнем солнечной инсоляции. СКЛ больных АС носило комплексный характер, а используемые методы (физио-, кинезио-, гидро-, бальнеотерапия и др.), как и выбор необходимых процедур не различались в представленных группах. Завершающее клинико-лабораторное обследование пациентов с АС (при окончании пребывания в СКУ) в группе 1 не продемонстрировало значимых изменений показателей VAS, СОЭ, СРБ, SII и SIRI ($p > 0,05$), но обозначило тенденцию к росту уровня витамина D ($p = 0,065$) (табл. 2). Известно, что большая часть витамина D (по сравнению с поступающим из пищевых источников) вырабатывается организмом человека под действием солнечного света. Более низкие исходные показатели уровня витамина D в группе 1 могут быть связаны с уменьшением пребывания на солнце (постоянное проживание на территории с низким уровнем солнечной инсоляции), и даже СКЛ в условиях высокого уровня солнечной инсоляции не способно нормализовать содержание витамина D в краткосрочной перспективе. Однако, учитывая эффективность приема препаратов витамина D для контроля боли (по VAS) и предот-

ТАБЛИЦА 1. ОСНОВНЫЕ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БОЛЬНЫХ АНКИЛОЗИРУЮЩИМ СПОНДИЛИТОМ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВИТАМИНА D

TABLE 1. MAIN CLINICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH ANKYLOSING SPONDYLITIS WITH DIFFERENT LEVELS OF VITAMIN D

Переменные Variables	Содержание витамина D Vitamin D content	
	Группа 1 (нормальный уровень, > 30 нг/мл, n = 35) Group 1 (normal level, > 30 ng/mL, n = 35)	Группа 2 (низкий уровень, ≤ 29 нг/мл, n = 23) Group 2 (low level, ≤ 29 ng/mL, n = 23)
СОЭ (мм/час) ESR (mm/hour)	12,5 (5,0-15,0)	20 (10-30)*
СРБ (г/л) CRP (g/L)	6,62 (3,7-19,0)	5,9 (3,1-13,0)
SII	511 (350-778)	614 (388-682)
SIRI	1,22 (0,83-1,75)	1,57 (1,19-2,38)*
VAS (баллы) VAS (points)	40 (35-55)	60 (50-70)*
ASDAS (баллы) ASDAS (points)	1,8 (1,3-2,1)	1,99 (1,40-2,15)
BASDAI (баллы) BASDAI (points)	3,0 (2,4-3,7)	2,95 (2,3-3,4)

Примечание. n – количество пациентов, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, СРБ – С-реактивный белок, SII – индекс системного иммунного воспаления, SIRI – индекс системной воспалительной реакции, VAS – визуальная аналоговая шкала, ASDAS – комбинированный индекс активности анкилозирующего спондилита, BASDAI – Батский индекс активности анкилозирующего спондилита; * – статистически значимые различия ($p < 0,05$).

Note. n, number of patients; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein; SII, systemic immune-inflammation index; SIRI, systemic inflammation response index; VAS, visual analog score; ASDAS, Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; BASDAI, Bath AS Disease Activity Index; *, statistically significant differences ($p < 0.05$).

ТАБЛИЦА 2. ДИНАМИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С АС В ПРОЦЕССЕ САНАТОРНО-КУРОРТНОГО ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 2. DYNAMICS OF LABORATORY PARAMETERS IN PATIENTS WITH AS DURING SPA TREATMENT

Переменные Variables	Группа 1 Group 1 (n = 26)		Группа 2 Group 2 (n = 32)	
	До лечения Before treatment	После лечения After treatment	До лечения Before treatment	После лечения After treatment
Витамин D (нг/мл) Vitamin D (ng/mL)	29,6 (23-40)	33,0 (28-42)	38,2 (28-54)*	39,5 (34-49)**
СОЭ (мм/час) ESR (mm/hour)	24,0 (15-34)	18,5 (9,0-27)	22,5 (13,4-42)	18,0 (11-31)
СРБ (г/л) CRP (g/L)	6,7 (2,6-10,2)	5,1 (3,1-13,4)	8,8 (3,5-14,2)	7,4 (2,2-16,4)
SII	614 (350-682)	388 (247-594)	511 (371-778)	569 (413-963)
SIRI	1,07 (0,78-1,74)	0,99 (0,65-1,20)	1,51 (1,11-1,91)*	1,20 (0,81-1,74)**
VAS (баллы) VAS (points)	52,5 (45-60)	50,0 (40-50)	45,5 (38-58)	40,0 (30-50)**

Примечание. См. примечание к таблице 1. * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) между группами 1 и 2 на исходном уровне (до лечения), ** – статистически значимые различия ($p < 0,05$) внутри группы (до и после лечения).

Note. As for Table 1. *, statistically significant differences ($p < 0.05$) between groups 1 and 2 at baseline (before treatment); **, statistically significant differences ($p < 0.05$) within the group (before and after treatment).

вращения обострения АИЗ [3, 8, 11], пациентам с АС данной группы назначение препаратов витамина D, по-видимому, показано на регулярной основе, в том числе и на санаторно-курортном этапе лечения. В группе 2 наблюдалось снижение показателей СОЭ (статистически не достоверно; $p = 0,055$), VAS ($p = 0,017$) и SIRI ($p = 0,038$), на фоне статистически значимого повышения уровня витамина D ($p = 0,027$); показатели СРБ и SH остались без изменений ($p > 0,05$ во всех случаях) (табл. 2). Примечательно, что в данной группе было отмечено существенное снижение VAS – показателя болевого синдрома, по уменьшению которого можно судить об эффективности СКЛ. Положительная динамика индекса SIRI указывает на снижение воспалительных явлений и предполагает возможность его использования в ка-

честве легкодоступного системного маркера при проведении СКЛ у больных АС.

Заключение

Интегральный индекс SIRI способен объективно отражать динамику состояния больных анкилозирующим спондилитом, прибывающих на СКЛ из различных по уровню солнечной инсоляции регионов (с учетом исходного уровня витамина D). Дефицит витамина D может быть вовлечен в патогенез АС, и его можно назначать для уменьшения болевых ощущений в суставах и в контексте повышения эффективности санаторно-курортного лечения, в первую очередь пациентов, постоянно проживающих в регионах с низким уровнем солнечной инсоляции.

Список литературы / References

1. Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е., Дзеранова Л.К., Каронова Т.Л., Ильин А.В., Мельниченко Г.А., Дедов И.И. Клинические рекомендации Российской Ассоциации Эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых // Проблемы эндокринологии, 2016. Т. 62, № 4. С. 60-84. [Pigarova E.A., Rozhinskaya L.Ya., Belaya Zh.E., Dzeranova L.K., Karonova T.L., Ilyin A.V., Melnichenko G.A., Dedov I.I. Russian Association of Endocrinologists recommendations for diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency in adults. *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*, 2016, Vol. 62, no. 4, pp. 60-84. (In Russ.)]
2. Athanassiou L., Kostoglou-Athanassiou I., Koutsilieris M., Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmune rheumatic diseases. *Biomolecules*, 2023, Vol. 13, no. 4, 709. doi: 10.3390/biom13040709.
3. Charoenngam N., Holick M.F. Immunologic effects of Vitamin D on human health and disease. *Nutrients*, 2020, Vol. 12, 97. doi: 10.3390/nu12072097
4. Dervisevic A., Fajkic A., Jahic E., Dervisevic L., Ajanovic Z., Ademovic E., Zaciragic A. Systemic immune-inflammation index in evaluation of inflammation in rheumatoid arthritis patients. *Medeniyet Med. J.*, 2024, Vol. 39, no. 3, pp. 183-191.
5. Dupuis M.L., Pagano M.T., Pierdominici M., Ortona E. The role of vitamin D in autoimmune diseases: could sex make the difference? *Biol. Sex. Differ.*, 2021, Vol. 12, no. 1, 12. doi: 10.1186/s13293-021-00358-3.
6. Eakin A.J., Ahmed T., McGeough C.M., Drain S., Alexander H.D., Wright G.D., Gardiner P.V., Small D., Bjourson A.J., Gibson D.S. CD169+ monocyte and regulatory T cell subsets are associated with disease activity in rheumatoid arthritis. *J. Pers. Med.*, 2022, Vol. 12, no. 11, 1875. doi: 10.3390/jpm12111875.
7. Fiorillo M.T., Haroon N., Ciccia F., Breban M. Editorial: ankylosing spondylitis and related immune-mediated disorders. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1232. doi: 10.3389/fimmu.2019.01232.
8. Hahn J., Cook N.R., Alexander E.K., Friedman S., Walter J., Bubes V., Kotler G., Lee I.M., Manson J.E., Costenbader K.H. Vitamin D and marine omega 3 fatty acid supplementation and incident autoimmune disease: VITAL randomized controlled trial. *BMJ*, 2022, Vol. 376, e066452. doi: 10.1136/bmj-2021-066452.
9. Hewison M. Vitamin D and immune function: Autocrine, paracrine or endocrine? *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.*, 2012, Vol. 243, pp. 92-102.
10. Hirsch D., Archer F.E., Joshi-Kale M., Vetrano A.M., Weinberger B. Decreased anti-inflammatory responses to vitamin D in neonatal neutrophils. *Mediators Inflamm.*, 2011, Vol. 2011, 598345. doi: 10.1155/2011/598345.
11. Holick M.F. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2017, Vol. 18, no. 2, pp. 153-165.
12. Huang Y., Deng W., Zheng S., Feng F., Huang Z., Huang Q., Guo X., Huang Z., Huang X., Pan X., Li T. Relationship between monocytes to lymphocytes ratio and axial spondyloarthritis. *Int. Immunopharmacol.*, 2018, Vol. 57, pp. 43-46.
13. Mangin M., Sinha R., Fincher K. Inflammation and vitamin D: The infection connection. *Inflamm. Res.*, 2014, Vol. 63, no. 10, pp. 803-819.

14. Martinez-Ramos S., Rafael-Vidal C., Pego-Reigosa J.M., Garcia S. Monocytes and macrophages in spondyloarthritis: functional roles and effects of current therapies. *Cells*, 2022, Vol. 11, no. 3, 515. doi: 10.3390/cells11030515.
15. Nikitin M.V., Aleksandrova N.V., Aleksandrov V.A., Grekhov R.A., Aleksandrov A.V. Low vitamin D levels in patients with rheumatoid arthritis have an impact on the effectiveness of rehabilitation interventions. *Aging Clin. Exp. Res.*, 2024, Vol. 36, Suppl. 1, 174. doi: 10.1007/s40520-024-02766-y.
16. Querfeld U. Vitamin D and inflammation. *Pediatr. Nephrol.*, 2013, Vol. 28, no. 4, pp. 605-610.
17. Sassi F., Tamone C., D'Amelio P. Vitamin D: Nutrient, Hormone, and Immunomodulator. *Nutrients*, 2018, Vol. 10, no. 11, 1656. doi: 10.3390/nu10111656.
18. Shoenfeld Y., Giacomelli R., Azrielant S., Berardicurti O., Reynolds J.A., Bruce I.N. Vitamin D and systemic lupus erythematosus – The hype and the hope. *Autoimmun. Rev.*, 2018, Vol. 17, no. 1, pp. 19-23.
19. Weeres M.A., Robien K., Ahn Y.O., Neulen M.L., Bergerson R., Miller J.S., Verneris M.R. The effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on in vitro human NK cell development from hematopoietic stem cells. *J. Immunol.*, 2014, Vol. 193, no. 7, pp. 3456-3462.
20. Wei R., Christakos S. Mechanisms underlying the regulation of innate and adaptive immunity by vitamin D. *Nutrients*, 2015, Vol. 7, no. 10, pp. 8251-8260.
21. White J. Emerging roles of vitamin D-induced antimicrobial peptides in antiviral innate immunity. *Nutrients*, 2022, Vol. 14, no. 2, 284. doi: 10.3390/nu14020284.
22. Yamamoto E.A., Jørgensen T.N. Relationships between vitamin D, gut microbiome, and systemic autoimmunity. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 3141. doi: 10.3389/fimmu.2019.03141.235.

Авторы:

Никитин М.В. — д.м.н., главный врач санаторно-курортного комплекса «Вулан» — научно-клинического филиала Национального медицинского исследовательского центра реабилитации и курортологии Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Александрова Н.В. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории функциональных методов исследования, ультразвуковой диагностики и восстановительной терапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», г. Волгоград, Россия

Алехина И.Ю. — к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Ставрополь, Россия

Authors:

Nikitin M.V., PhD, MD (Medicine), Chief Medical Officer, Sanatorium and Resort Complex “Vulan”, Research and Clinical Branch of the National Medical Research Center of Rehabilitation and Balneology, Moscow, Russian Federation

Aleksandrova N.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Functional Research Methods, Ultrasound Diagnostics and Rehabilitation Therapy, A. Zborovskiy Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd, Russian Federation

Alekhina I.Yu., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Hospital Therapy, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Безуглов И.Д. — магистрант кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Волгоград, Россия

Александров А.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; заведующий лабораторией функциональных методов исследования, ультразвуковой диагностики и восстановительной терапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», г. Волгоград, Россия

Зборовская И.А. — д.м.н., профессор, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной ревматологии имени А.Б. Зборовского», г. Волгоград, Россия

Bezuglov I.D., Master's Student, Department of Hospital Therapy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation

Aleksandrov A.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Volgograd State Medical University; Head, Laboratory of Functional Research Methods, Ultrasound Diagnostics and Rehabilitation Therapy, A. Zborovsky Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd, Russian Federation

Zborovskaya I.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, A. Zborovsky Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd, Russian Federation

Поступила 19.06.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 19.06.2025
Accepted 22.06.2025

ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ СХС-ХЕМОКИНОВ В ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С УШИБОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

**Норка А.О.^{1,2}, Воробьев С.В.^{3,4}, Кузнецова Р.Н.^{1,2}, Коробова З.Р.^{1,2},
Тотолян Арег А.^{1,2}**

¹ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

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

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Черепно-мозговая травма (ЧМТ) относится к числу наиболее значимых форм патологии неврологического профиля. При ушибе головного мозга повреждение аксонов обусловлено не только прямым цитотоксическим межклеточным взаимодействием, но и активным синтезом провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые играют ключевую роль в развитии и поддержании нейровоспалительных процессов. Так, на ранних стадиях после травмы головного мозга происходит не только активация микроглии, но и формирование пула субпопуляций Т-лимфоцитов, способных синтезировать различные хемокины, оказывающие как протективное, так и повреждающее действие, что способствует ухудшению исходов заболевания. Целью исследования стала комплексная оценка концентрации хемокинов (CXCL8/MIG, CXCL9/IP-10, CXCL10/I-TAC) в цереброспинальной жидкости пациентов с ушибом головного мозга различной степени тяжести в первые сутки после поступления в стационар. В исследование было включено 86 пациентов с диагнозом «ЧМТ: ушиб головного мозга», которых в зависимости от степени тяжести разделили на три группы. Группу сравнения составили пациенты с сотрясением головного мозга (n = 24). Трудности получения

Адрес для переписки:

Норка Анна Олеговна
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский
государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова» Министерства
здравоохранения РФ
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого,
6-8.
Тел.: 8 (911) 218-85-00.
E-mail: norka-anna@mail.ru

Address for correspondence:

Anna O. Norka
First St. Petersburg Pavlov State Medical University
6-8 L. Tolstoy St
Moscow
197022 Russian Federation
Phone: +7 (911) 218-85-00.
E-mail: norka-anna@mail.ru

Образец цитирования:

А.О. Норка, С.В. Воробьев, Р.Н. Кузнецова,
З.Р. Коробова, Арег А. Тотолян «Значимость
определения некоторых СХС-хемокинов
в цереброспинальной жидкости у пациентов с ушибом
головного мозга» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 1023-1032.
doi: 10.46235/1028-7221-17284-EOC

© Норка А.О. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

A.O. Norka, S.V. Vorobyev, R.N. Kuznetsova, Z.R. Korobova,
Areg A. Totolian "Evaluation of CXC chemokine levels in
cerebrospinal fluid of patients with brain contusions", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 1023-1032.
doi: 10.46235/1028-7221-17284-EOC

© Norka A.O. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17284-EOC

цереброспинальной жидкости у здоровых лиц связаны с отсутствием показаний для проведения люмбальной пункции. Концентрации хемокинов (пг/мл) определялись методом мультиплексного анализа по технологии xMAP (Luminex, США), тест-системы Milliplex MAP (Millipore, США). По результатам оценки концентрации хемокинов в ЦСЖ была установлена тенденция к повышению с увеличением степени тяжести пациентов. Обращает на себя факт повышения CXCL9/MIG у всех пациентов с травмой головного мозга ($p < 0,05$) в отличие от таковых в концентрациях CXCL8/IL-8, значимое повышение которых установлено только в 4-й группе (УТС) и CXCL10/I-TAC, значимое повышение которых установлено в 3-й (УСС) и в 4-й группах (УТС). Так, согласно полученным данным, в 4-й группе пациентов (УТС) уровень CXCL8/IL-8 был повышен в 3,5 раза, CXCL9/MIG – в 9 раз, CXCL10/IP-10 – в 3 раза относительно значений в группе сравнения (1-я группа, СТГ). Для определения информативности найденных изменений был проведен ROC-анализ и установлены диагностические значимые уровни хемокинов, которые являются высокоинформативными маркерами повреждения нервной ткани. Таким образом, определение хемокинов CXCL8, CXCL9 и CXCL10 при ушибе головного мозга вносит вклад в понимание их роли в развитии заболевания – привлечении Т-хелперов и нейтрофилов из периферической крови в нервную ткань и поддержанию процессов нейровоспаления.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, хемокины, CXCL8-лиганды, CXCL9-лиганды, CXCL10-лиганды, CXCR3-лиганды, цереброспинальная жидкость

EVALUATION OF CXC CHEMOKINE LEVELS IN CEREBROSPINAL FLUID OF PATIENTS WITH BRAIN CONTUSIONS

Norka A.O.^{a, b}, Vorobyev S.V.^{c, d}, Kuznetsova R.N.^{a, b}, Korobova Z.R.^{a, b}, Totolian Areg A.^{a, b}

^a Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

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

^c Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

^d St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Traumatic brain injury (TBI) is among the most common forms of neurological pathology. In traumatic brain injury, axonal damage occurs not only as a result of direct cytotoxic interactions, but also due to activation of pro-inflammatory cytokines and chemokines, which play a crucial role in development and maintenance of neuroinflammation. At the early terms after brain trauma, there occurs both activation of microglia, and formation of a pool of T cell subsets able to produce various chemokines. The aim of this study was to assess the contents of chemokines (CXCL8/MIG, CXCL9/IP-10, CXCL10/I-TAC) in cerebrospinal fluid (CSF) of patients with brain contusion of varying severity within the first 24 hours after hospital admission. The study included 86 patients diagnosed with “TBI: brain contusion,” who were divided into three groups based on the injury severity. A comparison group consisted of patients with brain concussion ($n = 24$). Obtaining CSF from healthy individuals is challenging due to absence of clinical indications for lumbar puncture. Chemokine concentrations (pg/mL) were measured by means of multiplex analysis based on xMAP technology (Luminex, USA), using Milliplex MAP test systems (Millipore, USA). The results showed a trend toward increased chemokine levels correlating with more pronounced severity of brain injury. Notably, CXCL9/MIG levels were elevated in all patients with brain injury ($p < 0.05$), unlike CXCL8/IL-8, which showed significant increases only in the 4th group (severe TBI), and CXCL10/IP-10, which was significantly elevated in both the 3rd (moderate TBI) and 4th groups. Specifically, in the 4th group (severe TBI), levels of CXCL8/IL-8 were increased 3.5 times, CXCL9/MIG showed a 9-fold increase, and CXCL10/IP-10 was 3 times higher than in control group (1st group, mild TBI). To evaluate the diagnostic

value of these changes, ROC analysis was performed, establishing a clinically significant chemokine thresholds that serve as highly informative markers of neural tissue damage. In conclusion, assessment of CXCL8, CXCL9, and CXCL10 levels in CSF following brain contusion provides valuable insights into their role in disease progression, i.e., recruiting T helper cells and neutrophils from peripheral blood into neural tissue and sustaining neuroinflammatory processes.

Keywords: brain trauma, chemokines, CXCL8 ligands, CXCL9 ligands, CXCL10 ligands, CXCR3 ligands, cerebrospinal fluid

Введение

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) занимает важное место среди наиболее значимых неврологических заболеваний. Несмотря на значительные достижения в лечении ЧМТ, на сегодняшний день не существует эффективных методов терапии, уровень заболеваемости и смертности остается высоким. Повреждение нервной ткани при травме головного мозга происходит не только в результате прямого механического воздействия, но и последующего запуска клеточных и молекулярных каскадов, ведущих к развитию вторичного повреждения и дополнительной гибели клеток. Вторичное повреждение опосредовано несколькими путями, которые включают глутаматную эксайтотоксичность, вызванную избытком глутамата и АТФ, метаболические нарушения и воспалительный ответ, который включает активацию клеток микроглии с дальнейшим вовлечением клеточных и гуморальных звеньев иммунной системы – процесс, известный как нейровоспаление [1]. Важную роль в координации этих процессов играют цитокины – сигнальные молекулы, вырабатываемые различными клетками иммунной системы, а также микроглией и астроцитами. Цитокины выступают в качестве ключевых медиаторов при ряде патологий центральной нервной системы, регулируя как воспалительные реакции, так и процессы восстановления [2, 3, 11]. При этом одной из основных причин неблагоприятных исходов после травмы головного мозга является нарушение целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Этот барьер, образованный рядом анатомо-функциональных образований, включающих эндотелиальные клетки с их плотными контактами, базальную мембрану, астроцитарную муфту, трансмембранные белки и ряд других компонентов, обеспечивает селективный транспорт веществ. Ключевая функция ГЭБ – обеспечение избирательной проницаемости, которая поддерживает гомеостаз головного мозга и его окружения [1, 17]. В этих процессах основную роль выполняет цереброспинальная жидкость (ЦСЖ), поскольку она является вну-

тренней средой головного и спинного мозга, а ее состав отражает происходящие в нервной системе биохимические и физиологические процессы [4, 7, 10]. При нарушении барьерной функции ГЭБ миграция Т-лимфоцитов из периферической крови в поврежденную область нервной ткани осуществляется через рецептор CXCR3 [9, 13]. Рецептор CXCR3 и его лиганды (CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10) занимают центральное место в процессе формирования клеточной воспалительной реакции, участвуя как в защитных ответах на проникновение патогенов, так и в различных патологических состояниях, связанных с аутоиммунными процессами [8, 9, 18]. CXCR3 – это хемокиновый рецептор, который экспрессируется на Т-лимфоцитах и связывается с хемокинами, такими как CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10. Эти хемокины относятся IFN γ -индуцибельным лигандам и могут синтезироваться различными типами клеток, включая глиальные клетки нервной системы [3].

При развитии иммунного ответа, инициируемого повреждением нервной ткани, происходит выработка большого количества цитокинов, которые способны оказывать как защитное, так и повреждающее действие, в частности опосредовать гибель клеток глии и поддерживать вторичное повреждение нервной ткани. Ранее было установлено нами, что концентрация IL-6 в цереброспинальной жидкости является высокоинформативным маркером повреждения нервной ткани и позволяет дифференцировать степень тяжести ушиба головного мозга [5]. Кроме того, цитокины стимулируют выработку хемокинов, которые регулируют миграцию клеток иммунной системы [8]. Так, лиганды для хемокинового рецептора CXCR3: CXCL10/IP-10 и CXCL9/MIG отвечают за миграцию Т-лимфоцитов. CXCL8/IL-8 является одним из ключевых хемоаттрактантов нейтрофилов и через рецепторы CXCR1 и CXCR2 взаимодействует с клетками [3].

Вместе с тем значение СХС-хемокинов в иммунопатогенезе ушиба головного мозга и их потенциал в качестве маркеров для оценки течения

заболевания и прогноза остаются предметом дискуссий.

Целью нашего исследования стало определение концентраций CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10 и CXCL9/MIG в ЦСЖ пациентов с различной степенью тяжести ушиба головного мозга.

Материалы и методы

В исследование было включено 110 пациентов (58% мужчин и 42% женщин), поступивших в 1-е сутки с момента получения травмы на нейрохирургическое отделение СПб ГБУЗ «Городская больница № 26». Материалом исследования выступала ЦСЖ пациентов с ушибом головного мозга различной степени тяжести (легкой, средней и тяжелой). Все пациенты были разделены на четыре группы: 1-я группа – группа сравнения (пациенты с сотрясением головного мозга; $n = 25$); 2-я группа – ушиб головного мозга легкой степени тяжести ($n = 30$); 3-я группа – ушиб головного мозга средней степени тяжести ($n = 31$); 4-я группа – ушиб головного мозга тяжелой степени тяжести ($n = 24$). Трудности получения цереброспинальной жидкости у здоровых лиц обусловлены отсутствием показаний к проведению люмбальной пункции.

Все исследования были выполнены с информированного согласия пациентов и 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 Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Для проведения данного исследования было получено одобрение Локального этического комитета ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера». Перед включением в исследование все участники дали добровольное информированное согласие.

Для оценки проницаемости ГЭБ применяли расчет Q_{Albumin} (индекс альбумина):

$$Q_{\text{Albumin}} = \left(\frac{\text{Альбумин}_{\text{ЦСЖ}}}{\text{Альбумин}_{\text{сыв}}} \right) \times 10^3.$$

Увеличение индекса альбумина свидетельствует о нарушении целостности ГЭБ, что приводит к увеличению его проницаемости и ослаблению его защитных функций.

В ЦСЖ определяли концентрации следующих цитокинов (пг/мл): CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10. Исследование проводилось методом мультиплексного анализа по технологии

xMAP (Luminex, США) с использованием наборов с магнитными частицами Milliplex Mag (Millipore, США), согласно инструкции фирмы-производителя. Обработку и интерпретацию результатов проводили на оборудовании Luminex MAGPIX (Luminex, США).

Статистическая обработка полученных результатов

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакетов Statistica 8.0 (StatSoft, США) и GraphPad Prism 5.00 for Windows (GraphPad Prism Software Inc., США). Так как полученные данные не соответствовали нормальному распределению, для анализа выборок применялись методы непараметрической статистики. Результаты представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного диапазона ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Для сравнения парных выборок использовался непараметрический критерий Манна–Уитни. Достоверными считали различия между группами при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Перед проведением анализа концентрации хемокинов в ЦСЖ была выполнена оценка состояния ГЭБ, основанного на измерении уровня альбумина (г/л) в ЦСЖ и сыворотке крови с дальнейшим вычислением индекса альбумина (Q_{Albumin}). Результаты представлены в таблице 1. Таким образом, продемонстрировано, что у пациентов в 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС) наблюдается статистически значимое повышение индекса альбумина по сравнению с результатами, полученными в 1-й группе (ГС). В результате нашего исследования прослеживается тенденция к увеличению проницаемости ГЭБ с увеличением степени тяжести повреждения, что указывает на нарушение его барьерной функции.

Исходя из оценки проницаемости ГЭБ, был выполнен анализ уровней хемокинов в ЦСЖ, по результатам которого была установлена тенденция к повышению уровня лигандов CXCR3 (CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10) и CXCL8/IL-8 с увеличением степени тяжести ушиба головного мозга (табл. 2):

– CXCL9/MIG во всех группах: 96,8 пг/мл (25,3–514,5) у больных во 2-й группе (УЛС) ($p = 0,0371$), 117,5 пг/мл (38,3–212,4) у пациентов в 3-й группе (УСС) ($p = 0,0022$) и 164,5 пг/мл (122,6–1108,0) у пациентов в 4-й группе (УТС) ($p = 0,0001$) относительно 18,4 пг/мл (8,2–53,3) в группе сравнения (ГС).

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ КОЭФФИЦИЕНТА ПРОНИЦАЕМОСТИ АЛЬБУМИНА У ПАЦИЕНТОВ С ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

TABLE 1. ALBUMIN PERMEABILITY COEFFICIENT VALUES IN PATIENTS WITH TRAUMATIC BRAIN INJURY

Показатель Indicator	1-я группа ГС Group 1 CG (n = 25)	2-я группа УЛС Group 2 Mild HI (n = 30)	3-я группа УСС Group 3 Moderate HI (n = 31)	4-я группа УТС Group 4 SHI (n = 24)	Значимость различий (p) Statistically significant (p)
Q (Alb)	21,7 (18,8-21,0)	21,4 (19,26-23,70)	29,8 (26,3-35,5)	50,8 (43,0-87,0)	p ₁₋₃ = 0,014 p ₁₋₄ = 0,001 p ₃₋₄ = 0,017

Примечание. ГС – группа сравнения, УЛС – ушиб легкой степени тяжести, УСС – ушиб средней степени тяжести, УТС – ушиб тяжелой степени тяжести; p₁₋₃, p₁₋₄, p₃₋₄ – различия между соответствующими группами.

Note. CG, comparison group; mild HI, mild head injury; moderate HI, moderate head injury; SHI, severe head injury; p₁₋₃, p₁₋₄, p₃₋₄, differences between the corresponding groups.

– CXCL10/IP-10 в группах с УСС и УТС: 911,4 пг/мл (382,7-1366,0) (p = 0,0171) и 1172 пг/мл (495,4-4000) (p = 0,0409) соответственно против группы сравнения (ГС) – 393,1 пг/мл (272,3-592,0).

– CXCL8/IL-8 у пациентов в 4-й группе (УТС) – 154,5 пг/мл (85,0-1875,0) (p = 0,0007) относительно группы сравнения (ГС) – 44,2 пг/мл (18,7-64,8).

Для определения информативности найденных результатов был проведен ROC-анализ исследуемых СХС-хемокинов – CXCL9, CXCL10 и CXCL8 (рис. 1, 2, 3 соответственно) у пациентов во 2-й (УЛС), 3-й (УСС) и 4-й группах (УТС). Результаты представлены в таблице 3.

Многочисленные исследования как российских, так и зарубежных ученых подтверждают, что нарушение барьерной функции ГЭБ после

ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ ХЕМОКИНОВ В ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С УШИБОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

TABLE 2. CHEMOKINE LEVELS IN CEREBROSPINAL FLUID IN PATIENTS WITH BRAIN INJURY OF VARIOUS SEVERITY

Хемокины Chemokines	Концентрация в цереброспинальной жидкости, пг/мл Cerebrospinal fluid level, pg/ml				Значимость различий (p) Statistically significant (p)
	1-я группа ГС Group 1 CG (n = 25)	2-я группа УЛС Group 2 Mild HI (n = 30)	3-я группа УСС Group 3 Moderate HI (n = 31)	4-я группа УТС Group 4 SHI (n = 24)	
CXCL8/IL-8	44,2 (18,7-64,8)	154,0 (18,2-227,5)	59,0 (39,6-316,4)	154,5 (85,0-1875,0)	p ₁₋₄ = 0,0007
CXCL9/MIG	18,4 (8,2-53,3)	96,8 (25,3-514,5)	117,5 (38,3-212,4)	164,5 (122,6-1108,0)	p ₁₋₂ = 0,037 p ₁₋₃ = 0,002 p ₁₋₄ = 0,0001
CXCL10/IP-10	393,1 (272,3-592,0)	679 (248,0-1125,0)	911,4 (382,7-1366,0)	1172,0 (495,4-4000,0)	p ₁₋₃ = 0,017 p ₁₋₄ = 0,040

Примечание. См. примечание к таблице 1. p₁₋₂, p₁₋₃, p₁₋₄ – различия между соответствующими группами.

Note. As for Table 1. p₁₋₂, p₁₋₃, p₁₋₄, differences between the corresponding groups.

ТАБЛИЦА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЛОЩАДИ ПОД КРИВОЙ (ППК), СПЕЦИФИЧНОСТИ, ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ПОРОГОВОГО ЗНАЧЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИССЛЕДОВАННЫХ ХЕМОКИНОВ (ПГ/МЛ)

TABLE 3. RESULTS OF DETERMINING THE AREA UNDER THE CURVE (AUC), SPECIFICITY, SENSITIVITY AND THRESHOLD VALUE OF CONCENTRATIONS OF THE STUDIED CHEMOKINES (PG/ML)

Цитокины Cytokines	Степень Тяжести Degree of severity	ППК AUC	Пороговое значение, пг/мл Cut-off, pg/ml	Чувствительность, % Sensitivity, %	Специфичность, % Specificity, %	р
CXCL9/MIG	УЛС	0,761	27	78	67	0,03
	УСС	0,823	43,1	67	64	0,04
	УТС	0,951	86,22	87	93	0,0001
CXCL9/MIG	УСС	0,750	394,8	75	54	0,02
	УТС	0,755	717,6	78	87	0,02
CXCL8/IL-8	УТС	0,881	59,43	88	73	0,0007

ЧМТ является одним из ключевых факторов, способствующих ухудшению прогноза заболевания [6]. Увеличение концентрации нейроспецифических белков, альбумина и цитокинов в ЦСЖ служит индикатором степени тяжести повреждения головного мозга [16, 17]. Так, в нашем исследовании было показано, что у пациентов с более

обширными повреждениями головного мозга (группы с ушибом средней и тяжелой степени тяжести) статистически значимо повышен уровень индекса альбумина (Q_{Albumin}) как следствие нарушения целостности ГЭБ. Стоит отметить, что полученные данные являются следствием не только гемодинамического фактора, но и степени раз-

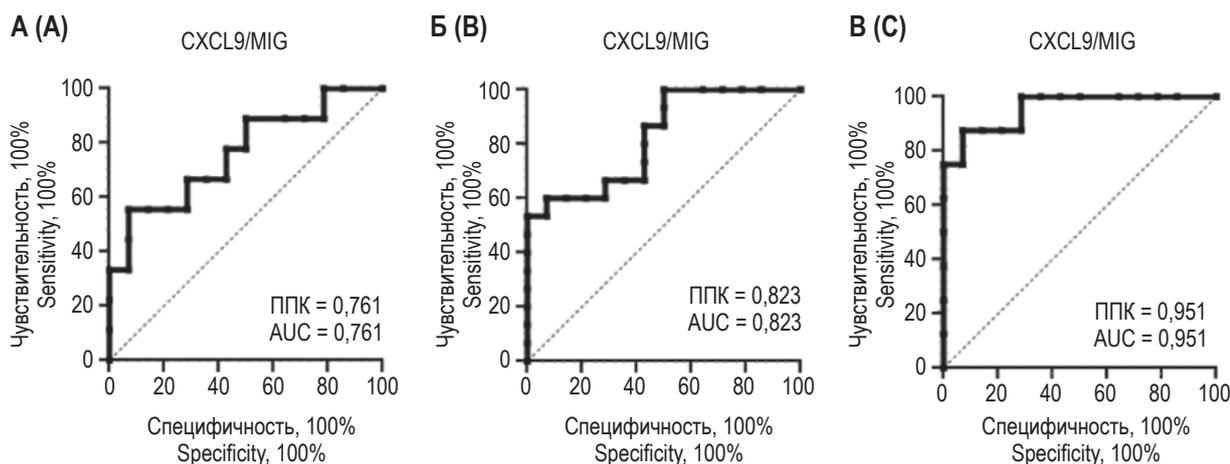


Рисунок 1. ROC-кривые, характеризующие показатели чувствительности и специфичности определения хемокина CXCL9/MIG (пг/мл) в цереброспинальной жидкости

Примечание. А – ушиб легкой степени тяжести, Б – ушиб средней степени тяжести, В – ушиб тяжелой степени тяжести.

Figure 1. ROC curves and AUC of CXCL9/MIG (pg/mL) in the cerebrospinal fluid

Note. A, mild head injury; B, moderate head injury; C, severe head injury.

вития нейровоспаления с вовлечением резидентных глиальных клеток, направленной миграцией Т-лимфоцитов и последующим синтезом цитокинов и хемокинов, в т. ч. СХС-хемокинов (CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10) [11, 14, 15]. Данные результаты согласуются с нашими более ранними исследованиями, свидетельствующими о формировании пула Т-хелперов 1-го, 2-го и 17-го типа (Th1, Th2, Th17), «неклассической» популяции клеток (Th1/Th17) в зависимости от степени тяжести ЧМТ [6]. Такая динамика указывает на ключевую роль этих клеток в патогенезе и поддержании посттравматической нейродегенерации через продукцию цитокинов и хемокинов.

Особое внимание по результатам исследования вызывает концентрация CXCL8/IL-8: у пациентов в 3-й группе (УСС) показатели совпадают с таковыми в 4-й группе (УТС). Мы предполагаем, что данные изменения связаны с компенсаторными процессами направленными на восстановление нервной ткани и последующего ограничения развития вторичного повреждения при ушибе головного мозга легкой степени тяжести. Эти выводы подтверждаются исследованием Т. Hayashi и соавт., которые установили, что CXCL8/IL-8 играет важную роль в центральной нервной системе, выступая в качестве положительного регулятора процесса миелинизации аксонов [11]. При увеличении степени тяжести травмы головного мозга наблюдается нарушение компенсаторных механизмов, направленных на восстановление, а также усиленная гиперпродукция CXCL8/IL-8, что может служить прогностическим маркером тяжелой дисфункции гематоэнцефалического барьера и повышенного риска летального исхода.

Заключение

Цитокины имеют важное значение в поддержании нейровоспаления после перенесенной травмы головного мозга. В настоящем исследовании был проведен анализ СХС-хемокинов (CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10) в зависимости от степени тяжести перенесенной травмы. Обнаруженное в настоящей работе повышенное содержание CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 в ЦСЖ, вероятно, может свидетельствовать об усилении процессов нейровоспаления после перенесенного ушиба головного мозга. Среди исследованных нами хемокинов только концентрация CXCL9/MIG была повышена в ЦСЖ у всех пациентов с ушибом головного мозга ($p < 0,05$). Вероятно, хемокин

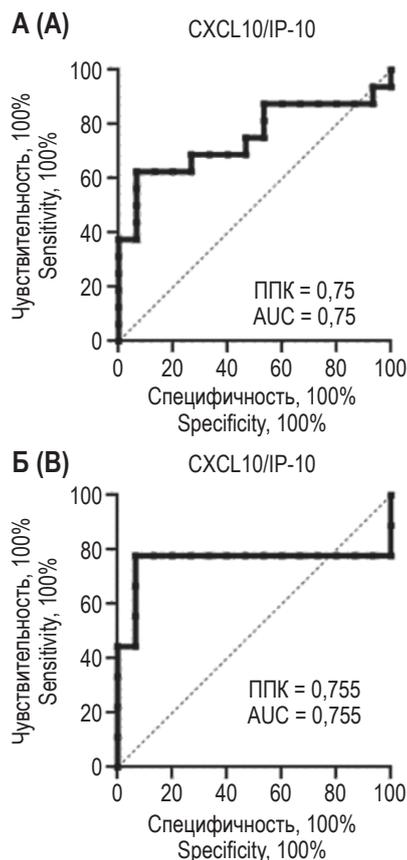


Рисунок 2. ROC-кривые, характеризующие чувствительности и специфичности определения CXCL10/IP-10 (пг/мл) в цереброспинальной жидкости показатели хемокина

Примечание. А – ушиб средней степени тяжести, Б – ушиб тяжелой степени тяжести.

Figure 2. ROC curves and AUC of CXCL10/IP-10 (pg/mL) in the cerebrospinal fluid

Note. A, moderate head injury; B, severe head injury.

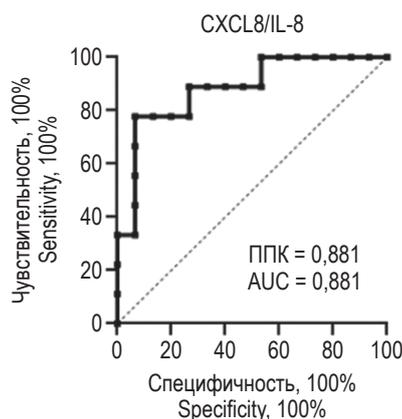


Рисунок 3. ROC-кривая, характеризующая показатель чувствительности и специфичности определения хемокина CXCL8/IL-8 (пг/мл) в цереброспинальной жидкости у пациентов ушибом головного мозга тяжелой степени тяжести

Figure 3. ROC curve and AUC of CXCL8/IL-8 (pg/mL) in patients with severe head injury in the cerebrospinal fluid

CXCL9/MIG играет важную роль в привлечении CXCR3⁺T-хелперов в очаг повреждения при ушибе головного мозга. Исследование данных хемокинов имеет важное значение и помогает глубже понять механизмы направленной миграции клеток-эффекторов из периферической крови в нервную ткань в ответ на ушиб головного мозга различной степени тяжести. Поскольку при ЧМТ наблюдается нейровоспаление, вызванное гипе-

рактивностью клеток иммунной системы и выработкой ими цитокинов, мы считаем, что IFN γ -индуцированные хемокины (CXCL9, CXCL10) и CXCL8 являются высокоинформативными маркерами повреждения нервной ткани. Определение их концентрации в ЦСЖ с учетом оценки проницаемости ГЭБ у пациентов с ушибом головного мозга имеет важное значение и зависит от степени тяжести травмы.

Список литературы / References

1. Зудова А.И., Сухоросова А.Г., Соломатина Л.В. Черепно-мозговая травма и нейровоспаление: обзор основных биомаркеров // *Acta Biomedica Scientifica*, 2020. Т. 5, № 5. С. 60-67. [Zudova A.I., Sukhorosova A.G., Solomatina L.V. Traumatic Brain Injury and Neuroinflammation: Review of the Main Biomarkers. *Acta Biomedica Scientifica = Acta Biomedica Scientifica*, 2020, Vol. 5, no. 5, pp. 60-67. (In Russ.)]
2. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. Санкт-Петербург: Фолиант, 2008. 550 с. [Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines]. St. Petersburg: Foliant, 2008. 550 p.
3. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Кробинец И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К., Тотолян Арег А. Хемокиновые рецепторы на Т-хелперах различного уровня дифференцировки: основные субпопуляции // *Медицинская иммунология*, 2016. Т. 18, № 3. С. 239-250. [Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Krobinec I.I., Savchenko A.A., Serebriakova M.K., Totolian Areg A. Chemokine receptors at distinct differentiation stages of T-helpers from peripheral blood. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, Vol. 18, no. 3, pp. 239-250. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250.
4. Литвиненко И.В., Емелин А.Ю., Лобзин В.Ю. Роль нейровоспаления в развитии болезни Альцгеймера // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*, 2010. Т. 4, № 1. С. 4-12. [Litvinenko I.V., Emelin A.Yu., Lobzin V.Yu. The role of neuroinflammation in the development of Alzheimer's disease. *Annaly klinicheskoy i eksperimentalnoy nevrologii = Annals of Clinical and Experimental Neurology*, 2010, Vol. 4, no. 1, pp. 4-12. (In Russ.)]
5. Норка А.О., Воробьев С.В., Кузнецова Р.Н., Лапин С.В., Коробова З.Р., Монашенко Д.Н., Тотолян А.А. Роль IL-6 в иммунопатогенезе ушиба головного мозга различной степени тяжести // *Медицинская иммунология*, 2023. Т. 25, № 5. С. 1219-1224. [Norka A.O., Vorobyev S.V., Kuznetsova R.N., Lapin S.V., Korobova Z.R., Monashenko D.N., Totolian A.A. Role of IL-6 in the immunopathogenesis of mild, moderate and severe TBI. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, Vol. 25, no. 5, pp. 1219-1224. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-ROI-2805.
6. Норка А.О., Воробьев С.В., Кузнецова Р.Н., Серебрякова М.К., Кудрявцев И.В., Коваленко С.Н., Монашенко Д.Н. Изменения субпопуляционного состава Т-хелперов 17-го типа в зависимости от степени тяжести черепно-мозговой травмы // *Российский иммунологический журнал*, 2024. Т. 27, № 3. С. 613-620. [Norka A.O., Vorobyev S.V., Kuznetsova R.N., Serebriakova M.K., Kudryavtsev I.V., Kovalenko S.N., Monashenko D.N. Severity of traumatic brain injury governs alterations in type 17 T helper cell subset composition. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 613-620. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-16629-SOT.
7. Arrer C., Otto F., Radlberger R.F., Moser T., Pilz G., Wipfler P., Harrer A. The CXCL13/CXCR5 Immune axis in health and disease-implications for intrathecal B cell activities in neuroinflammation. *Cells*, 2022, Vol. 11, no. 17, 2649. doi: 10.3390/cells11172649.
8. Cipollini V, Anrather J., Orzi F, Iadecola C. Th17 and cognitive impairment: possible mechanisms of action. *Front. Neuroanat.*, 2019, Vol. 13, 95. doi: 10.3389/fnana.2019.00095.
9. Gupta D.L., Bhoi S., Mohan T., Galwnkar S., Rao D.N. Coexistence of Th1/Th2 and Th17/Treg imbalances in patients with post traumatic sepsis. *Cytokine*, 2016, Vol. 88, pp. 214-221.
10. Derecki N.C., Cardani A.N., Yang C.H., Quinnes K.M., Criehtfield A., Lynch K.R., Kipnis J. Regulation of learning and memory by meningeal immunity: a key role for IL-4. *J. Exp. Med.*, 2010, Vol. 207, no. 5, pp. 1067-1080.
11. Hayashi T., Ago K., Nakamae T., Higo E., Ogata M. Interleukin (IL-)8 immunoreactivity of injured axons and surrounding oligodendrocytes in traumatic head injury. *Forensic Sci. Int.*, 2016, Vol. 263, pp. 48-54.
12. Jassam Y.N., Izzy S., Whalen M., McGavern D.B., El Khoury J. Neuroimmunology of traumatic brain injury: time for a paradigm shift. *Neuron*, 2017, Vol. 95, no. 6, pp. 1246-1265.

13. Lassarén P., Lindblad C., Frostell A., Carpenter K.L.H., Guilfoyle M.R., Hutchinson P.J.A., Helmy A., Thelin E.P. Systemic inflammation alters the neuroinflammatory response: a prospective clinical trial in traumatic brain injury. *J. Neuroinflammation*, 2021, Vol. 18, no. 1, 221. doi: 10.1186/s12974-021-02264-2.
14. Ladak A.A., Enam S.A., Ibrahim M.T. A review of the molecular mechanisms of traumatic brain injury. *World Neurosurg.*, 2019, Vol. 131, pp. 126-132.
15. Rodney T., Osier N., Gill J. Pro- and anti-inflammatory biomarkers and traumatic brain injury outcomes: A review. *Cytokine*, 2018, Vol. 110, pp. 248-256.
16. Sowa J. E., Tokarski K. Cellular, synaptic, and network effects of chemokines in the central nervous system and their implications to behavior. *Pharmacol. Rep.*, 2021., Vol. 73, no. 6, pp. 1595-1625.
17. Vliet E.A., Ndoe-Ekane X.E., Lehto L.J., Gorter J.A., Andrade P., Aronica E., Gröhn O., Pitkänen A. Long-lasting blood-brain barrier dysfunction and neuroinflammation after traumatic brain injury. *Neurobiol. Dis.*, 2020, Vol. 145, 105080. doi: 10.1016/j.nbd.2020.105080.
18. Shi Y., Wei B., Li L., Wang B., Sun M. Th17 cells and inflammation in neurological disorders: Possible mechanisms of action. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 932152. doi: 10.3389/fimmu.2022.932152.

Авторы:

Норка А.О. — к.м.н., ассистент кафедры иммунологии ГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; врач-невролог медицинского центра ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Воробьев С.В. — д.м.н., доцент, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории неврологии и нейрореабилитации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ; профессор кафедры клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Кузнецова Р.Н. — к.м.н., доцент кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ; врач — аллерголог-иммунолог Медицинского центра ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Norka A.O., PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg Pavlov State Medical University; Neurologist, Medical Centre, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Vorobyev S.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Chief Researcher, Research Laboratory of Neurology and Neurorehabilitation, Almazov National Medical Research Centre; Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Kuznetsova R.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg Pavlov State Medical University; Allergist-Immunologist, Medical Centre, Saint Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

Коробова З.Р. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Тотolian Арег А. — д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Korobova Z.R., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Saint Petersburg Pasteur Institute; Senior Assistant, Department of Immunology, First St. Petersburg Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Totolian Areg A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Science, Head, Laboratory of Molecular Immunology, Director, Saint Petersburg Pasteur Institute; Head, Department of Immunology, First St. Petersburg Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 18.06.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 18.06.2025
Accepted 22.06.2025

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ К S-БЕЛКУ SARS-CoV-2 СОХРАНЯЕТСЯ СПУСТЯ 4 ГОДА ПОСЛЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Афридонова З.Э.¹, Топтыгина А.П.^{1,2}, Семикина Е.Л.^{3,4}

¹ ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

³ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

⁴ ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Резюме. Завершение пандемии COVID-19 не исключило продолжения прорывных инфекций, вызванных мутантными штаммами вируса SARS-CoV-2. Скорость мутаций SARS-CoV-2 выросла с появлением штамма омикрон и превышает таковую у вируса гриппа. Остается неясным, какие уровни IgG-антител способны защитить от новых мутантных SARS-CoV-2 и как долго будет сохраняться иммунная защита. Цель — проследить сохранение гуморального и клеточного иммунитета к антигенам вируса SARS-CoV-2 в течение 4 лет после перенесенного заболевания. 32 взрослых реконвалесцента после COVID-19 ежегодно обследованы на наличие гуморального и клеточного иммунитета к S-белку SARS-CoV-2. Гуморальный иммунитет оценивали методом ИФА, клеточный иммунитет — по экспрессии CD107a на CD8^{hi} лимфоцитах после распознавания антигенов S-белка. Четырехлетнее наблюдение за группой переболевших COVID-19 в 2020 г. (уханьский штамм SARS-CoV-2), находящихся в условиях контактов со свободно циркулирующими новыми мутантными VoC, показало, что через 1 год у всех обследованных сохранялись IgG-антитела к S-белку, преимущественно IgG1 субкласса, но индекс авидности антител едва превысил 50%. После прорывного заболевания, вызванного штаммом омикрон, уровень IgG-антител к S-белку значительно вырос, авидность антител также значительно возросла, а в спектре субклассов появились антитела к S-белку IgG2, IgG3 и IgG4-субклассов. Уровень специфических IgA через 1 год после заболевания снизился относительно уровня после первичного заболевания, но после прорывных инфекций значительно повысился до 4-5 КП. Клеточный иммунитет к S-белку SARS-CoV-2 выявлялся у всех обследованных через 1 год после первичного заболевания. После повторного заболевания штаммом омикрон он значительно увеличился и держался на этом уровне

Адрес для переписки:

Топтыгина Анна Павловна
ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора
125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10.
Тел.: 8 (495) 452-18-01.
Факс: 8 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Address for correspondence:

Anna P. Toptygina
G. Gabrichevsky Research Institute
for Epidemiology and Microbiology
10 Admiral Makarov St
Moscow
125212 Republic of Uzbekistan
Phone: +7 (495) 452-18-01.
Fax: +7 (495) 452-18-30.
E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Образец цитирования:

З.Э. Афридонова, А.П. Топтыгина, Е.Л. Семикина
«Иммунологическая память к S-белку SARS-CoV-2
сохраняется спустя 4 года после заболевания»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 1033-1038.
doi: 10.46235/1028-7221-17227-IMT

© Афридонова З.Э. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

Z.E. Afridonova, A.P. Toptygina, E.L. Semikina
“Immunological memory to SARS-CoV-2 S protein persists
4 years after the disease”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4,
pp. 1033-1038.
doi: 10.46235/1028-7221-17227-IMT

© Afridonova Z.E. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17227-IMT

еще год, а на сроке 4 года снизился до уровня, который был через год после заболевания. Таким образом, гуморальный и клеточный иммунитет к S-белку не исчезает, но продолжает активно формироваться, созревать и поддерживаться на уровне, позволяющем при встрече с новым VoC переносить такую встречу либо бессимптомно, либо в виде легкого простудного заболевания. На фоне частых мутаций в S-белке роль T-клеточных ответов в защите от заболеваний значительно возрастает. При разработке новых вакцин следует опираться на формирование именно клеточного иммунитета.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, антитела, клеточный иммунитет, иммунологическая память, прорывной иммунитет

IMMUNOLOGICAL MEMORY TO SARS-CoV-2 S PROTEIN PERSISTS 4 YEARS AFTER THE DISEASE

Afridonova Z.E.^a, Toptygina A.P.^{a, b}, Semikina E.L.^{c, d}

^a G. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

^b Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

^c National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

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

Abstract. Ending of COVID-19 pandemic does not exclude subsequent breakthrough infections caused by SARS-CoV-2 mutant strains. The rate of SARS-CoV-2 mutations increased with emerging omicron strain and exceeds those of the influenza virus. It remains unclear what IgG antibody levels are able to protect against new mutant SARS-CoV-2 strains, and how long the immune protection will last. The objective of this study was to monitor the maintenance of humoral and cellular immunity to SARS-CoV-2 viral antigens over 4 years after the infection. Thirty-two adult convalescents after COVID-19 were annually examined for humoral and cellular immunity markers to the SARS-CoV-2 S protein. Humoral immunity was assessed by ELISA; cellular immunity was evaluated by expression of CD107a on CD8^{hi} lymphocytes after recognition of S protein antigens. A four-year observation of a group of patients who recovered from COVID-19 in 2020 (SARS-CoV-2, Wuhan strain) and were in contact with a novel, freely circulating mutant VoCs showed that, 1 year later, all subjects retained the IgG antibodies to S protein, mainly the IgG1 subclass, but the antibody avidity index barely exceeded 50%. After a breakthrough infection caused by the omicron strain, the level of IgG antibodies to S protein increased significantly, along with sufficient increase of antibody avidity. The IgG2, IgG3, and IgG4 antibodies to S protein occurred in the spectrum of subclasses. The level of specific IgA decreased 1 year after the disease against their level after the primary disease. However, it was significantly increased to 4-5 PR after breakthrough infections. Cellular immunity to the SARS-CoV-2 S protein was detected in all subjects at 1 year after the primary disease. After repeated infection with the omicron strain, it increased significantly and remained at this level for the next year. By 4 years, it decreased to the level that was a year after the disease. Hence, humoral and cellular immunity to S protein does not fade away, but continues to persist, mature, being maintained at a sufficient level. Upon exposure to a new VoC, it allows to endure such a meeting either asymptotically, or as a mild clinical infection. In view of frequent mutations in the S protein, the role of T-cell responses in anti-infectious protection seems to increase significantly. When developing new vaccines, one should rely on development of cellular immunity.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, antibodies, cellular immunity, immunological memory, breakthrough immunity

Введение

Несмотря на официальное завершение пандемии COVID-19, вирус не элиминировался из человеческой популяции. Скорость мутаций SARS-CoV-2 выросла с появлением штамма омикрон и превышает таковую у вируса гриппа [14].

В зависимости от сочетания определенных обстоятельств вирулентность SARS-CoV-2 может повышаться или понижаться [8]. Исследователи связывают прорывы сформированной иммунологической защиты со снижением уровней IgG, специфичных к S-белку вируса [10]. Уже вариант

омикрон ВА.1 имел 37 мутаций в рецептор-связывающем домене [9], а последующие варианты еще увеличили список мутаций. Известно, что более высокие уровни анти-S-IgG лучше защищают от заражения. Рассчитано, что 75% защиты от инфекции, вызванной штаммами омикрон ВА.2 и ВА.4/5 обеспечивают соответственно уровни анти-S-IgG 603 и 1148 ВАУ/мл [11].

Известно, что специфический ответ Т-клеток против антигенов SARS-CoV-2 стабильнее, чем ответ антител [1], и обеспечивает более легкое течение заболевания [13]. Показано, что вирус-специфические Т-клетки памяти обнаруживаются через 22 месяца после появления симптомов COVID-19 [4]. Ответы Т-клеток сохраняются против вариантов вызывающих опасения (VoC), поскольку репертуар Т-клеточных эпитопов значительно шире, чем у В-клеток. При этом наблюдается большее количество клонов CD4⁺Т-клеток, в сравнении с CD8⁺ цитотоксическими Т-клетками [5]. Мониторинг поддержания Т-клеточных ответов может выявить ранние тенденции в изменении иммунных ответов и помочь в определении лиц с более высоким риском прорывных инфекций, вызванных VoC.

Цель работы – проследить сохранение гуморального и клеточного иммунитета к антигенам вируса SARS-CoV-2 в течение 4 лет после перенесенного заболевания.

Материалы и методы

В продольном исследовании 32 взрослых, перенесших COVID-19 во второй половине 2020 г. в легкой или среднетяжелой форме, были обследованы каждый год в течение последующих 4 лет на наличие гуморального и клеточного иммунитета к антигенам SARS-CoV-2. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского (протокол № 58).

Гуморальный иммунитет исследовали методом ИФА с помощью наборов «SARS-CoV-2 IgG количественный-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск, РФ). Уровень субклассов IgG к S-антигену SARS-CoV-2 определяли методом ИФА в нашей модификации [3]. Для этого вместо конъюгата из набора использовали меченные пероксидазой анти-IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 моноклональные антитела (ООО «Полигност», Россия) в концентрации 1 мкг/мл. Для определения IgA-антител вместо конъюгата из набора использовали меченные пероксидазой анти-IgA антитела (ООО «Полигност», Россия) в концентрации 1 мкг/мл. Авидность антител определяли

с использованием тех же наборов, в нашей модификации [2]. Для этого исследуемую сыворотку вносили в лунки двух стрипов, после инкубации и отмывки в лунки первого стрипа вносили по 200 мкл физиологического раствора, в лунки второго стрипа – по 200 мкл денатурирующего раствора мочевины, инкубировали 10 мин. После отмывки выполняли все процедуры согласно протоколу к набору «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ».

Клеточный иммунитет оценивали по экспрессии CD107a на цитотоксических CD8⁺ после распознавания ими антигенов S-белка SARS-CoV-2. Для этого в простерилизованные с помощью УФ-облучения лунки панелей от наборов «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» для опытной пробы или в стерильные лунки для контрольной пробы добавляли выделенные с помощью градиентного центрифугирования мононуклеары ($2,5 \times 10^5$ на лунку) в среде RPMI-1640 с 10% ЭТС и моноклональные антитела к антигену CD107a-PE-Cy5, инкубировали при 37 °С во влажной атмосфере и 5% CO₂ 20 ч, окрашивали антителами к антигену CD8-FITC, отмывали и фенотипировали на проточном цитометре BD FACS CantoII (Becton Dickinson, США). Подсчитывали процент клеток CD8^{hi}CD107a⁺. Уровень спонтанной дегрануляции цитотоксических лимфоцитов не превышал 1% [3].

Рассчитывали медиану (1-3-й квартиль): Me (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Уровень IgA представлен в коэффициентах позитивности (КП) как отношение к отрицательному контролю. Корреляции оценивали методом Спирмена. Уровень $p < 0,05$ расценивали как значимый.

Результаты и обсуждение

Через год после заболевания у всех обследованных сохранялись IgG-антитела к S-белку (табл. 1). В то время защитным уровнем считался 150 ВАУ/мл. При этом индекс авидности антител едва превысил 50%, что говорит о неполном созревании авидности после первичного заболевания. Все IgG-антитела принадлежали к субклассу IgG1, что типично для зрелого, сформированного гуморального иммунитета. После появления штамма омикрон все обследуемые перенесли повторный COVID-19 в легкой форме и уровень IgG-антител к S-белку значимо вырос, авидность антител также значимо возросла, а в спектре субклассов появились антитела к S-белку IgG2, IgG3 и IgG4-субклассов. Это свидетельствует о том, что в составе анти-S IgG присутствовали как ранее сформированные антитела к исход-

ТАБЛИЦА 1. ПАРАМЕТРЫ ИММУНИТЕТА К S-БЕЛКУ ВИРУСА SARS-CoV-2 ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО COVID-19, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. PARAMETERS OF IMMUNITY TO S PROTEIN OF SARS-CoV-2 VIRUS AFTER COVID-19, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

	IgG, ВАУ/мл IgG, BAU/mL	Авидность, % Avidity, %	IgG1, %	IgG2, %	IgG3, %	IgG4, %	IgA (КП) Positive rate	CD8 ^{hi} CD107a ⁺ , %
1 год 1 year	966 (478-1456)	53,84 (45,06-69,66)	100	0	0	0	0,92 (0,00-3,58)	6,80 (4,61-11,25)
2 года 2 years	1572 (784-2819)*	74,49 (67,50-86,62)*	77,5	4,4	12,4	5,7	3,76 (1,67-6,93)*	8,79 (4,02-15,59)*
3 года 3 years	1569 (751-2719)*	76,10 (64,97-84,78)*	73,7	0,7	22,7	2,9	5,91 (2,37-8,06)*	8,02 (4,3-15,3)*
4 года 4 years	3721 (416-5095)**	83,10 (66,81-92,68)*	91,9	1,4	3,2	3,5	4,82 (1,62-5,98)*	5,56 (2,93-9,34)

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к 1 году. ** – $p < 0,05$ по отношению к другим годам.

Note. *, $p < 0.05$ in relation to 1 year. **, $p < 0.05$ in relation to other years.

ным эпитопам, так и вновь синтезированные антитела к мутантным эпитопам. В последующие 2 года вирус SARS-CoV-2 активно мутировал, появилось более полутора десятков мутантных VoC. Люди из наблюдаемой когорты контактировали с этими новыми вирусами, перенося эти бустер-инфекции в легкой форме или бессимптомно. При этом уровень анти-S IgG-антител продолжал значимо прирастать, а индекс авидности через 4 года превысил 80%. На данный момент считают, что защитный уровень анти-S-антител составляет 1148 ВАУ/мл [11]. У 10 человек (30%) уровень антител был ниже указанного значения, а у остальных – существенно превышал его. В спектре субклассов вновь абсолютно преобладающим стал IgG1, более 90%. Были получены практически одинаковые коэффициенты корреляции между уровнями анти-S-IgG-антител для всех 4 лет $r = 0,58$, положительная связь средней силы. А при расчете корреляций между уровнем специфических IgG и их авидности сила связи постепенно нарастала от слабой положительной ($r = 0,33$) через год после первичного заболевания до сильной положительной ($r = 0,88$) через 4 года наблюдения.

Ранее нами было показано, что уровень анти-S-IgA-антител после первичного заболевания был очень высоким: 8,64 (4,31-15,53) [3], но уже через год после заболевания резко снизился. После перенесенного повторного заболевания, вызванного штаммом омикрон в 2022 г., уровень анти-S-IgA-антител вновь значимо повысился

и держался в последующие 2 года на уровне 4-5 КП. Полагают, что бустерные инфекции новыми штаммами VoC могут поддерживать защиту от заражения за счет достаточных для связывания вируса на слизистых оболочках концентраций IgA [6]. В первый год после заболевания не обнаруживалось корреляции между уровнем IgG и IgA-антител к S-белку, а через 3 и 4 года была обнаружена положительная связь средней силы ($r = 0,52$).

Клеточный иммунитет к S-белку SARS-CoV-2 выявлялся у всех обследованных через 1 год после первичного заболевания. После повторного заболевания штаммом омикрон он значимо увеличился и держался на этом уровне еще год, а на сроке 4 года снизился до уровня, который был через 1 год после заболевания. Известно, что за счет выраженной кросс-реактивности Т-клеточный иммунитет более устойчив к частым мутациям вируса SARS-CoV-2 [7]. Возможно, при разработке новых вакцин следует опираться на формирование именно клеточного иммунитета [12].

Заключение

Таким образом, четырехлетнее наблюдение за группой переболевших COVID-19 в 2020 г. (уханьский штамм SARS-CoV-2) дает основание полагать, что при сохранении циркуляции SARS-CoV-2 в человеческой популяции, адаптивный иммунитет к этому вирусу будет поддерживаться на защитном уровне.

Список литературы / References

1. Афридонова З.Э., Топтыгина А.П., Семикина Е.Л. Сохранение иммунологической памяти к антигенам SARS-CoV-2. Три года наблюдения // *Инфекция и иммунитет*, 2024. Т. 14, № 1. С. 35-45. [Afridonova Z.E., Toptygina A.P., Semikina E.L. Sustained immunological memory to SARS-CoV-2 antigens. Three years of observation. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2024, Vol. 14, no. 1, pp. 35-45. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-SIM-17596.
2. Топтыгина А.П., Афридонова З.Э., Закиров Р.Ш., Семикина Е.Л. Поддержание иммунологической памяти к вирусу SARS-CoV-2 в условиях пандемии // *Инфекция и иммунитет*, 2023. Т. 13, № 1. С. 55-66. [Toptygina A.P., Afridonova Z.E., Zakirov R.Sh., Semikina E.L., Maintaining immunological memory to the SARS-CoV-2 virus during a pandemic. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, Vol. 13, no. 1, pp. 55-66. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MIM-2009.
3. Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Закиров Р.Ш., Афридонова З.Э. Сопоставление гуморального и клеточного иммунитета у переболевших COVID-19 // *Инфекция и иммунитет*, 2022. Т. 12, № 3. С. 495-504. [Toptygina A.P., Semikina E.L., Zakirov R. Sh., Afridonova Z.E. Comparison of the humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescents. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, Vol. 12, no. 3, pp. 495-504. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-COT-1809.
4. Almendro-Vázquez P., Laguna-Goya R., Paz-Artal E. Defending against SARS-CoV-2: The T cell perspective. *Front. Immunol.*, 2023, Vol.14, pp.1107803. doi: 10.3389/fimmu.2023.1107803.
5. Dan J.M., Mateus J., Kato Y., Hastie K.M., Yu E.D., Faliti C.E., Grifoni A., Ramirez S.I., Haupt S., Frazier A., Nakao C., Rayaprolu V., Rawlings S.A., Peters B., Krammer F., Simon V., Saphire E.O., Smith D.M., Weiskopf D., Sette A., Crotty S. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*, 2021, Vol. 371, no. 6529, eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063.
6. Focosi D., Maggi F., Casadevall A. Mucosal vaccines, sterilizing immunity, and the future of SARS-CoV-2 Virulence. *Viruses*, 2022, Vol. 14, no. 2, 187. doi: 10.3390/v14020187.
7. Kundu R., Narean J.S., Wang L., Fenn J., Pillay T., Fernandez N.D., Conibear E., Koycheva A., Davies M., Tolosa-Wright M., Hakki S., Varro R., McDermott E., Hammett S., Cutajar J., Thwaites R.S., Parker E., Rosadas C., McClure M., Tedder R., Taylor G.P., Dunning J., Lalvani A. Cross-reactive memory T cells associate with protection against SARS-CoV-2 infection in COVID-19 contacts. *Nat. Commun.*, 2022, Vol. 13, no. 1, 80. doi: 10.1038/s41467-021-27674-x.
8. Markov P.V., Ghafari M., Beer M., Lythgoe K., Simmonds P., Stilianakis N.I., Katzourakis A. The evolution of SARS-CoV-2. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2023, Vol. 21, no. 6, pp. 361-379.
9. Martin D.P., Lytras S., Lucaci A.G., Maier W., Grüning B., Shank S.D., Weaver S., MacLean O.A., Orton R.J., Lemey P., Boni M.F., Tegally H., Harkins G.W., Scheepers C., Bhiman J.N., Everatt J., Amoako D.G., San J.E., Giandhari J., Sigal A., Williamson C., Hsiao N.Y., von Gottberg A., De Klerk A., Shafer R.W., Robertson D.L., Wilkinson R.J., Sewell B.T., Lessells R., Nekrutenko A., Greaney A.J., Starr T.N., Bloom J.D., Murrell B., Wilkinson E., Gupta R.K., de Oliveira T., Kosakovsky Pond S.L. Selection analysis identifies clusters of unusual mutational changes in omicron lineage BA.1 that likely impact spike function. *Mol. Biol. Evol.*, 2022, Vol. 39, no. 4, msac061. doi: 10.1093/molbev/msac061.
10. Mouton W., Oriol G., Compagnon C., Saade C., Saker K., Franc P., Mokdad B., Fleurie A., Lacoux X., Daniel S., Berthier F., Barnel C., Pozzetto B., Fassier J.B., Dubois V., Djebali S., Dubois M., Walzer T., Marvel J., Brengel-Pesce .K, Trouillet-Assant S; Covid ser study group. Combining SARS-CoV-2 interferon-gamma release assay with humoral response assessment to define immune memory profiles. *Eur. J. Immunol.*, 2024, Vol. 54, no. 7, e2451035. doi: 10.1002/eji.202451035.
11. Nilles E.J., de St Aubin M., Dumas D., Duke W., Etienne M.C., Abdalla G., Jarolim P., Oasan T., Garnier S., Iihoshi N., Lopez B., de la Cruz L., Puello Y.C., Baldwin M., Roberts K.W., Peña F., Durski K., Sanchez I.M., Gunter S.M., Kneubehl A.R., Murray K.O., Lino A., Strobel S., Baez A.A., Lau C.L., Kucharski A., Gutiérrez E.Z., Skewes-Ramm R., Vasquez M., Paulino C.T. Monitoring temporal changes in SARS-CoV-2 spike antibody levels and variant-specific risk for infection, dominican republic, March 2021-August 2022. *Emerg. Infect. Dis.*, 2023, Vol. 29, no. 4, pp. 723-733.
12. Nowill A.E., Caruso M., de Campos-Lima P.O. T-cell immunity to SARS-CoV-2: what if the known best is not the optimal course for the long run? Adapting to evolving targets. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1133225. doi: 10.3389/fimmu.2023.1133225.

13. Sette A., Sidney J., Crotty S. T cell responses to SARS-CoV-2. *Annu. Rev. Immunol.*, 2023, Vol. 41, pp. 343-373.

14. Wang X., Li J., Liu H., Hu X., Lin Z., Xiong N. SARS-CoV-2 versus Influenza A Virus: Characteristics and Co-Treatments. *Microorganisms*, 2023, Vol. 11, no. 3, 580. doi: 10.3390/microorganisms11030580.

Авторы:

Афридонова З.Э. — научный сотрудник лаборатории цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Топтыгина А.П. — д.м.н., главный научный сотрудник, руководитель лаборатории цитокинов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора; профессор кафедры иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Семикина Е.Л. — д.м.н., главный научный сотрудник, заведующая лабораторным отделом ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения РФ; профессор кафедры педиатрии и детской ревматологии педиатрического факультета ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Authors:

Afridonova Z.E., Researcher, Laboratory of Cytokines, G. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

Toptygina A.P., PhD, MD (Medicine), Chief Researcher, Head, Laboratory of Cytokines, G. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology; Professor, Department of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Semikina E.L., PhD, MD (Medicine), Chief Researcher, Head, Laboratory Department, National Medical Research Center of Children's Health; Professor, Department of Pediatrics and Pediatric Rheumatology, Pediatric Faculty, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

ВЛИЯНИЕ ТЕЧЕНИЯ ОСТРОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 НА ТЕЧЕНИЕ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА

Добрынина М.А.¹, Зурочка В.А.², Зурочка А.В.¹

¹ ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Вирум” Роспотребнадзора,
г. Екатеринбург, Россия

² Российско-Китайский Центр Южно-Уральского государственного университета (НИУ), г. Челябинск,
Россия

Резюме. Пандемия коронавирусной инфекции COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, привела к глобальной заболеваемости и высокой смертности во всем мире. По данным историй болезни, длительное время (от полугода до 2-3 лет) после перенесенной острой инфекции COVID-19 у пациентов отмечается выраженная усталость, повышенная утомляемость, учащение случаев заболеваний ОРВИ за год, учащение рецидивов кожных заболеваний, аллергопатологий, обострение легочной патологии, заболеваний мочевыводящих путей, учащение рецидивов хронических инфекционных заболеваний, таких как герпесвирусная и папилломавирусная инфекции, утяжеление течения хронических сердечно-сосудистых и других соматических заболеваний разных органов и систем. Обследование пациентов проводилось не менее чем через шесть месяцев после выздоровления от острого COVID-19. Подобные стойкие постинфекционные последствия известны как постковидный синдром. Оценивая постковидный синдром, необходимо раскрыть основные клинические синдромы полиорганной патологии, характерной для постковидных пациентов. Эндокринные и кардиальные проявления постковидного синдрома могут быть следствием прямого повреждения вирусом, иммунологического и воспалительного повреждения, а также ятрогенных осложнений. Цель исследования – оценить влияние тяжести течения острого COVID-19 на течение постковидного синдрома. Задачи исследования: 1. Проанализировать выраженность клинических проявлений симптомокомплекса поражения сердечно-сосудистой системы у постковидных пациентов в зависимости от степени поражения легких в острый период COVID-19. 2. Проанализировать выраженность клинических проявлений патологии эндокринной системы, в том числе впервые выявленной, у постковидных пациентов в зависимости от степени поражения легких в острый период

Адрес для переписки:

Добрынина Мария Александровна
ФБУН «Федеральный научно-исследовательский
институт вирусных инфекций “Вирум”
Роспотребнадзора
620030, Россия, г. Екатеринбург, ул. Летняя, 23.
Тел.: 8 (343) 261-99-47.
E-mail: info@niivirom.ru, mzurochka@mail.ru

Address for correspondence:

Maria A. Dobrynina
Federal Research Institute of Viral Infections “Virom”
23 Letniya St
Ekaterinburg
620030 Russian Federation
Phone: +7 (343) 261-99-47.
E-mail: info@niivirom.ru, mzurochka@mail.ru

Образец цитирования:

М.А. Добрынина, В.А. Зурочка, А.В. Зурочка
«Влияние течения острой инфекции COVID-19 на
течение постковидного синдрома» // Российский
иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4.
С. 1039-1046.
doi: 10.46235/1028-7221-17286-IOC

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

For citation:

M.A. Dobrynina, V.A. Zurochka, A.V. Zurochka “Influence
of clinical features in acute COVID-19 infection on the course
of post-COVID syndrome”, Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4,
pp. 1039-1046.
doi: 10.46235/1028-7221-17286-IOC

© Dobrynina M.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.46235/1028-7221-17286-IOC

COVID-19. Так как статистически значимых различий по полу и возрасту выявлено не было, то все пациенты были разделены на группы по степени поражения легких в острый период COVID-19 согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции. Данное исследование показало, что клиническая картина постковидного синдрома характеризуется выраженным разнообразием формирования полиорганной патологии, как впервые выявленной, так и проявляющейся в учащении обострений хронических заболеваний. Выводы: 1. Согласно полученным данным, достоверные различия получены между группами КТ0 и КТ1-2, а также КТ0 и КТ3-4: частота обострений заболеваний сердечно-сосудистой системы в постковидном периоде достоверно выше в группах с поражением легких в острый период COVID-19 по сравнению с группой пациентов без поражения легких. Эти данные говорят о том, что поражения сердечно-сосудистой системы напрямую связаны с тяжестью течения COVID-19, вирусной нагрузкой и выявлялись наиболее часто (68%) у постковидных пациентов, перенесших тяжелую коронавирусную инфекцию. 2. Согласно полученным данным, частота нарушений обмена глюкозы, в том числе и впервые выявленных, достоверно возростала в постковидный период у пациентов с поражением легких в острый период инфекции, тогда как по заболеваниям щитовидной железы, за исключением АИТ, достоверных различий не обнаружено. Возможно, эти нарушения также связаны, с одной стороны, с применением кортикостероидной терапии в острый период коронавирусной инфекции, а с другой стороны, с нарушением работы регуляторных механизмов эндокринной и иммунной систем под воздействием вируса SARS-CoV-2, что еще раз подтверждает наши предположения о формировании полиорганной патологии у постковидных пациентов.

Ключевые слова: иммунная система, компьютерная томография, вирусная пневмония, инфекция SARS-CoV-2, постковидный синдром

INFLUENCE OF CLINICAL FEATURES IN ACUTE COVID-19 INFECTION ON THE COURSE OF POST-COVID SYNDROME

Dobrynina M.A.^a, Zurochka V.A.^b, Zurochka A.V.^a

^a Federal Research Institute of Viral Infections "Virom", Ekaterinburg, Russian Federation

^b Russian-Chinese Center, South Ural State University (NRU), Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. The COVID-19 pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus has resulted in global morbidity and high mortality rates worldwide. According to case histories, for a long time after acute COVID-19 infection (six months to 2-3 years), patients may experience a pronounced fatigue, increased tiredness, higher incidence of acute respiratory viral infections *per* year, increased recurrence of skin diseases, allergies, exacerbation of pulmonary disorders, urinary tract diseases, increased recurrence of chronic viral diseases, e.g., herpesvirus and papillomavirus infections, aggravation of chronic cardiovascular and other somatic diseases of various organs and systems. Patients were examined at early as six months after recovery from acute COVID-19. Such persistent post-infectious consequences are referred to as post-COVID syndrome. When assessing post-COVID syndrome, it is necessary to identify the main clinical syndromes of multiorgan pathology characteristic of post-COVID patients. Endocrine and cardiac manifestations of post-COVID syndrome may be a consequence of direct damage from viral infection, immunological and inflammatory damage, as well as iatrogenic complications. Objective of our study was to assess the impact of acute COVID-19 severity on the course of post-COVID syndrome. The research objectives were as follows: 1. To analyze the severity of clinical manifestations of cardiovascular disorders in post-COVID patients depending on the degree of lung damage in the acute period of COVID-19 (CT0 to CT4). 2. To analyze the severity of clinical manifestations of endocrine disorders, including newly diagnosed pathology, in post-COVID patients depending on the degree of lung damage in acute period of COVID-19. Since we did not find any significant gender- and age-dependent differences, all patients were divided into groups by the degree of lung damage during acute

period of COVID-19, according to clinical guidelines for the diagnosis and treatment of a new coronavirus infection. This study showed that the clinical picture of post-COVID syndrome is characterized by a pronounced diversity in development of multiple organ pathology, both newly diagnosed, or manifesting by increased frequency of exacerbations of chronic diseases. Conclusions: 1. According to the data obtained, reliable differences were obtained between groups CT0 and CT1-2, as well as CT0 and CT3-4: the frequency of exacerbating cardiovascular disorders in the post-COVID period is significantly higher in groups with lung damage over acute period of COVID-19 compared to the group of patients without lung damage. These data suggest that cardiovascular disorders are directly related to the severity of COVID-19, viral load, and were detected most frequently (68%) in post-COVID patients who initially had a severe coronavirus infection. 2. According to our results, the frequency of glucose metabolism disorders, including those detected for the first time, proved to be significantly increased in the post-COVID patients with lung damage during acute infection. Meanwhile, no significant differences were found for thyroid disorders, except of autoimmune thyroiditis (AIT). These disorders may be associated with usage of corticosteroid therapy in acute period of coronavirus infection, or with impairment of regulatory mechanisms of the endocrine and immune systems induced by SARS-CoV-2 virus, thus again confirming our assumptions concerning development of multiple organ pathology in post-COVID patients.

Keywords: immune system, computed tomography, viral pneumonia, SARS-CoV-2 infection, post-COVID syndrome

The work is completed on the topic of State assignments FBIS Federal Scientific Research Institute of Viral Infections “Virom” Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Consumption “Study of the mechanisms of chronic viral infection formation in patients with post-COVID syndrome and impaired immune system functions. Development of pathogenetic approaches to effective prevention and immunocorrection of identified disorders in patients with “post-COVID syndrome” No. state registration 124031800093-5.

Introduction

The COVID-19 coronavirus pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus has had far-reaching consequences. According to case histories, patients with post-COVID syndrome experience severe fatigue, increased fatigability, an increase in the incidence of acute respiratory viral infections per year, an increase in the recurrence of skin diseases, allergy pathologies, an increase in the recurrence of chronic infectious and non-infectious diseases of various organs and systems. Patients were examined at least six months after recovery from acute COVID-19. Such persistent post-infectious consequences are known as post-COVID syndrome [7]. When assessing post-COVID syndrome, it is necessary to reveal the main clinical symptoms of multiorgan pathology characteristic of post-COVID patients according to the literature [3]. For example, 410 participants in a Swiss study were assessed for

complaints 7-9 months after being diagnosed with COVID-19, of which 39.0% of patients reported long-term symptoms such as fatigue (20.7%), loss of taste or smell (16.8%), shortness of breath (11.7%), and headache (10.0%), including among young, previously healthy people [6]. In another study by Chinese scientists, 1,733 patients were examined 6 months after acute COVID-19, in which 9% reported a long-term sensation of palpitations and 5% reported chest pain [2]. Cognitive impairments were noted, manifested by difficulty concentrating, deteriorating memory, perception, and/or speech reproduction [8]. In a study by Chinese scientists, approximately a quarter of patients reported anxiety, depression, and sleep disturbances 6 months after COVID-19 [2]. However, reports of similar complaints after mild COVID-19 suggest a contribution to their development by dysfunction of the autonomic nervous system [1]. Long-term cognitive impairment has been noted in studies aimed at assessing the condition of patients who have suffered critical illnesses; it occurs in 20-40% of patients hospitalized with COVID-19 [10]. R.M. Ruggeri et al. write about subacute thyroiditis with clinical manifestations of thyrotoxicosis weeks after the disappearance of respiratory symptoms [9]. COVID-19 can lead to the manifestation of latent autoimmune thyroiditis in the form of new-onset Hashimoto's thyroiditis [11] or Graves' disease [5]. Endocrine manifestations of post-COVID syndrome can be a consequence of direct damage by the virus,

immunological and inflammatory damage, as well as iatrogenic complications.

Thus, in the literature there are indications of various clinical pathological manifestations of post-covid syndrome, but at the same time, there is no systematization of these studies, and there is no data on the pathogenesis of the formation of clinical manifestations of post-covid syndrome. In addition, if the immune system of patients with acute coronavirus infection has been studied quite well, then the state of the immune system of post-covid patients remains practically unstudied. All this served as the basis for our studies of post-covid patients.

The aim of the study was to assess the impact of the degree of lung damage in the acute period of COVID-19 on the severity of clinical manifestations of post-COVID syndrome using the example of immune-mediated symptom complexes – auto-immune, proliferative, and allergopathology.

Materials and methods

A total of 131 patients who had recovered from SARS-CoV-2 infection were examined. Of these, 48 were men aged 20 to 76 years (mean age 55.3 years) and 83 were women aged 21 to 79 years (mean age 53.4 years). The inclusion criteria in the study groups were: confirmed diagnosis of SARS-CoV-2 infection by polymerase chain reaction (PCR), the presence of IgA, M to the SARS-CoV-2 virus in the acute and post-acute periods of infection and IgG to the SARS-CoV-2 virus during the recovery period, computed tomography data of the lungs on the presence or absence of changes of the “ground glass” type. This study was conducted at least 6-12 months after the infection caused by SARS-CoV-2. All patients were preliminarily examined by a general practitioner and an immunologist-allergist in order to identify concomitant diseases, as well as by doctors of other specialties before COVID-19 to establish concomitant diagnoses. The groups were randomized by gender, age, concomitant diseases according to the χ^2 criterion. All studies were approved by the Independent Local Ethics Committee at the State Autonomous Healthcare Institution of the Republic of Chelyabinsk “City Clinical Hospital No. 1” of Chelyabinsk (protocol No. 8 dated 04/11/2022), on the basis of which these studies were conducted, and by the Independent Local Ethics Committee at the Federal Research Institute of Virology and Infection “Virom” of Rospotrebnadzor of Yekaterinburg,

protocol No. 1 dated 03/22/2024, on the basis of which these studies were conducted.

Clinical research methods:

- Identification of persons with post-COVID syndrome after examination by doctors: therapist, allergist-immunologist, pulmonologist, ENT doctor.
- Filling out the immunological examination card.
- Physical, laboratory and instrumental examinations for diagnosis.

Immunological research methods

ELISA diagnostic methods. Determination of the level of specific IgA, M, G to the SARS-CoV-2 coronavirus, C1 inhibitor, C3a and C5a complement components by enzyme immunoassay and immunofluorescence analysis on a Multiscan FC Thermoscientific enzyme immunoassay analyzer (China). The study was conducted using generally accepted standardized enzyme immunoassay methods (test systems of Vector-Best, Russia; Cytokine LLC, Russia).

Statistical research methods

Based on the study results, a database was created in Excel (MS Office 2007). Data processing and analysis were performed using R 3.1.1 12 (RFoundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) and Microsoft Excel version 14.0. Student's t-tests were used for parametric data; differences were considered significant at $p < 0.05$.

Equipment

The following equipment was used: Multiscan FC Thermoscientific enzyme immunoassay analyzer (China), Mindray SL-1200 A immunochemiluminometer (China), related equipment (centrifuges, shakers, thermostats, etc.), computers with software packages required for mathematical and statistical analysis of the results.

Results and discussion

According to the data presented in Table 1, reliable differences were obtained between groups KT0 and KT1-2, as well as KT0 and KT3-4 – the frequency of exacerbations of rheumatoid arthritis in the post-COVID period is significantly higher in the group with lung damage of less than 50% in the acute period of COVID-19 compared to the group of patients without lung damage, while the frequency of exacerbations of autoimmune thyroiditis is significantly higher in patients without lung damage in the acute period of COVID-19 compared to the other groups.

TABLE 1. SEVERITY OF CLINICAL MANIFESTATIONS OF THE AUTOIMMUNE SYMPTOM COMPLEX IN POST-COVID PATIENTS DEPENDING ON THE DEGREE OF LUNG DAMAGE IN THE ACUTE PERIOD OF COVID-19

Diseases with increased incidence of relapses or first identified after clinical recovery from acute COVID-19 infection / degree of lung damage according to CT data	Total number of patients examined (n = 131)		Group 1 CT 0 (n = 38)		Group 2 CT 1-2 (n = 68)		Group 3 CT 3-4 (n = 25)	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Rheumatoid arthritis	30	22.9	4	10.2	19	27.9 $p_{1-2} < 0.05$	7	28.0
Autoimmune thyroiditis	20	15.3	11	29.0	7	10.3 $p_{1-2} < 0.05$	2	8.0 $p_{1-3} < 0.05$

Note. Reliability of differences between groups p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} . Differences $p < 0.05$ (Student's t-test) were considered reliable.

TABLE 2. SEVERITY OF CLINICAL MANIFESTATIONS OF THE SYMPTOM COMPLEX OF ALLERGOPATHOLOGY IN POST-COVID PATIENTS DEPENDING ON THE DEGREE OF LUNG DAMAGE IN THE ACUTE PERIOD OF COVID-19

Diseases with increased incidence of relapses or first identified after clinical recovery from acute COVID-19 infection / degree of lung damage according to CT data	Total number of patients examined (n = 131)		Group 1 CT 0 (n = 38)		Group 2 CT 1-2 (n = 68)		Group 3 CT 3-4 (n = 25)	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Eczema, contact dermatitis, psoriasis	36	27.5	11	29.0	18	26.7	7	28.0
Quincke's edema, urticaria, anaphylaxis, vasculitis, alveolitis, bronchiolitis	68	51.9	20	52.3	35	51.5	13	52.0
Seasonal rhinitis, conjunctivitis	32	24.4	10	26.3	17	25.0	5	20.0
Bronchial asthma	19	14.5	4	10.5	14	20.6	1	4.0

Note. As for Table 1.

TABLE 3. SEVERITY OF CLINICAL MANIFESTATIONS OF THE PROLIFERATIVE SYMPTOM COMPLEX IN POST-COVID PATIENTS DEPENDING ON THE DEGREE OF LUNG DAMAGE IN THE ACUTE PERIOD OF COVID-19

Diseases with increased incidence of relapses or first identified after clinical recovery from acute COVID-19 infection / degree of lung damage according to CT data	Total number of patients examined (n = 131)		Group 1 CT 0 (n = 38)		Group 2 CT 1-2 (n = 68)		Group 3 CT 3-4 (n = 25)	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Frequent lymphadenitis	41	31.3	13	34.2	20	29.4	8	32.0
Benign tumors: fibroids, cysts, polyps, fibroadenomas, endometriosis	54	41.2	12	31.6	30	44.1	12	48.0

Note. As for Table 1.

TABLE 4. ANALYSIS OF COMPLEMENT SYSTEM PARAMETERS IN POST-COVID PATIENTS DEPENDING ON THE DEGREE OF LUNG DAMAGE ACCORDING TO COMPUTED TOMOGRAPHY DATA IN THE ACUTE PERIOD OF COVID-19

Degree of lung damage according to CT data / level of complement system indicators	Group 1 CT 0 (n = 38) M±m, p	Group 2 CT 1-2 (n = 68) M±m, p	Group 3 CT 3-4 (n = 25) M±m, p	Group 4 Conditionally healthy individuals who have not had COVID-19 (n = 16) M±m, p
C1q, mcg/mL	273.9±31.7	275.5±27.9	199.1±20.3 p ₁₋₃ < 0.05 p ₂₋₃ < 0.05 p ₃₋₄ < 0.05	287.2±31.2
C3a, ng/mL	109.7±6.4	115.3±6.9	106.3±13.0	119.7±18.3
C5a, ng/mL	27.2±3.5 p ₁₋₄ < 0.05	25.2±2.6 p ₂₋₄ < 0.05	27.1±5.9 p ₃₋₄ < 0.05	15.1±2.7

Note. As for Table 1.

When analyzing the effect of the degree of lung damage in the acute period of COVID-19 infection on the increase in the frequency of exacerbations of allergic diseases in the post-COVID period (Table 2), no dependence was found. However, at the same time, a tendency towards an increase in the most clinically severe allergopathology was revealed in post-COVID patients: firstly, in all groups (52%), exacerbations of such pathologies as Quinke's edema, urticaria, anaphylaxis, vasculitis, alveolitis, and bronchiolitis became more frequent in the post-COVID period. All this indicates that the deterioration of the condition of these patients in the post-COVID period was influenced by the infection caused by the SARS-CoV-2 virus. Allergic skin lesions were in second place in terms of exacerbation frequency – about 28%.

The frequency of exacerbations of proliferative diseases did not show significant differences between patient groups depending on the degree of lung damage in the acute period of infection (Table 3), but there was a tendency for the frequency of exacerbations to increase in patients with more severe forms of acute COVID-19 infection. It should also be noted that the percentage of such patients is quite high – from 31.6% to 48%. These data further indicate that post-COVID patients develop multiple organ pathology.

One of the key indicators of immune status is the complement system. Disturbances in the activity of the complement system can lead to serious consequences for various organs and tissues – the central nervous system, liver, lungs, and the immune system as a whole [4]. Therefore, the next stage of the study was to compare the level of complement system indicators in post-COVID patients depending on the severity of acute coronavirus infection (Table 4).

As can be seen from Table 4, all patients who have had COVID-19 have increased activity of the complement fragment C5a, which indicates long-term (at least six months) stimulation of the classical complement activation pathway. Also noteworthy is the persistent decrease in the activity of C1q, which is responsible for the normalization of activated complement, in the most clinically severe patients.

Conclusions

Autoimmune, proliferative and allergic diseases are directly related to disorders of the immune system. Summarizing the results of this study, we can make the following conclusions:

1. The severity of autoimmune disorders in the post-COVID period is not directly related to the severity of the disease, but is more associated with basic corticosteroid therapy (GCS) both for

the treatment of autoimmune processes and for the treatment of COVID-19. If GCS are not used for autoimmune thyroiditis, then their use in the acute period of infection subsequently reduced the number of relapses. Whereas with rheumatoid arthritis, the situation is the opposite: the use of GCS in the acute period of infection in patients already on basic corticosteroid therapy subsequently leads to an increase in the number of relapses in post-COVID patients.

2. In post-COVID patients, a tendency towards an increase in the most clinically severe allergopathology was revealed: firstly, in all groups (52%) in the post-COVID period, exacerbations of such pathologies as Quincke's edema, urticaria, anaphylaxis, vasculitis, alveolitis, and bronchiolitis became more frequent. All this indicates that the deterioration of the condition of these patients in the post-COVID period was influenced by the past infection caused by the SARS-CoV-2 virus. Allergic skin lesions were in second place in terms of the frequency of exacerbations – about 28%.

3. There is a tendency towards an increase in the frequency of exacerbations of proliferative diseases in patients with more severe forms of acute COVID-19 infection. It should also be noted that the percentage of such patients is quite high – from 31.6% to 48%.

4. The SARS-CoV-2 virus can affect the activation of the complement system, which explains the presence of clinical manifestations of post-COVID syndrome in individuals who have had an acute form of COVID-19 in a mild form without lung damage according to computed tomography data and who do not have the phenotypes of immune system damage that we have previously identified. The data obtained indicate that the examination of post-COVID patients should be carried out not only by assessing their clinical characteristics, but also by examining the state of the immune system of such patients in order to make a correct diagnosis and prescribe etiological and pathogenetic therapy, including immune therapy.

References

1. Dani M., Dirksen A., Taraborrelli P., Torocastro M., Panagopoulos D., Sutton R., Lim R.B. Autonomic dysfunction in 'long-COVID': rationale, physiology and management strategies. *Clin. Med.*, 2021, Vol. 21, no. 1, pp. e63-e67.
2. Huang C., Huang L., Wang Y., Li X., Ren L., Gu X., Kang L., Guo L., Liu M., Zhou X., Luo J., Huang Z., Tu S., Zhao Y., Chen L., Xu D., Li Y., Li C., Peng L., Li Y., Xie W., Cui D., Shang L., Fan G., Xu J., Wang G., Wang Y., Zhong J., Wang C., Wang J., Zhang D., Cao B. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet*, 2021, Vol. 397, no. 10270, pp. 220-232.
3. Kanorskii S.G. Post-COVID syndrome: prevalence, organ pathogenesis and routes of correction. A systematic review. *Kuban Scientific Medical Bulletin*, 2021, Vol. 28, no. 6, pp. 90-116. (In Russ.)
4. Kunz N., Kemper C. Complement has brains-do intracellular complement and immunometabolism cooperate in tissue homeostasis and behavior. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 629986. doi:10.3389/fimmu.2021.629986.
5. Mateu-Salat M., Urgell E., Chico A. SARS-CoV-2 as a trigger for autoimmune disease: report of two cases of Graves' disease after COVID-19. *J. Endocrinol. Invest.*, 2020, Vol. 43, no. 10, pp. 1527-1528.
6. Nehme M., Braillard O., Chappuis F., Courvoisier D.S., Idris Guessous I.; CoviCare Study Team CoviCare Study Team. Prevalence of symptoms more than seven months after diagnosis of symptomatic COVID-19 in an outpatient setting. *Ann. Intern. Med.*, 2021, Vol. 174, no. 9, pp. 1252-1260.
7. Pierce J.D., Shen Q., Cintron S.A., Hiebert J.B. Post-COVID-19 Syndrome. *Nurs. Res.*, 2022, Vol. 71, no. 2, pp. 164-174.
8. Ritchie K., Chan D., Watermeyer T. The cognitive consequences of the COVID-19 epidemic: collateral damage? *Brain Commun.*, 2020, Vol. 2, no. 2, fcaa069. doi: 10.1093/braincomms/fcaa069.
9. Ruggeri R.M., Campenni A., Siracusa M., Frazzetto G., Gullo D. Subacute thyroiditis in a patient infected with SARS-CoV-2: an endocrine complication linked to the COVID-19 pandemic. *Hormones*, 2021, Vol. 20, no. 1, pp. 219-221.

10. Sakusic A., Rabinstein A.A. Cognitive outcomes after critical illness. *Curr. Opin. Crit. Care*, 2018, Vol. 24, no. 5, pp. 410-414.
11. Tee L.Y., Hajanto S., Rosario B.H. COVID-19 complicated by Hashimoto's thyroiditis. *Singapore Med. J.*, 2021, Vol. 62, no. 5, 265. doi: 10.11622/smedj.2020106.

Авторы:

Добрынина М.А. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Виром” Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Россия

Зурочка В.А. — д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунобиотехнологии Российско-Китайского Центра Южно-Уральского государственного университета (НИУ), г. Челябинск, Россия

Зурочка А.В. — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных вирусных инфекций ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Виром” Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Dobrynina M.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Transmissible Viral Diseases, Federal Research Institute of Viral Infections “Virom”, Ekaterinburg, Russian Federation

Zurochka V.A., PhD, MD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunobiotechnology, Russian-Chinese Center, South Ural State University (NRU), Chelyabinsk, Russian Federation

Zurochka A.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Leading Researcher, Laboratory of Transmissible Viral Infections, Federal Research Institute of Viral Infections “Virom”, Ekaterinburg, Russian Federation

Поступила 14.03.2025
Принята к печати 30.04.2025

Received 14.03.2025
Accepted 30.04.2025

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИММУНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ЭНТЕРОКОККОВ И СТАФИЛОКОККОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ БАКТЕРИАЛЬНОМ ПРОСТАТИТЕ

Пашинина О.А., Пашкова Т.М., Карташова О.Л., Попова Л.П.,
Кузьмин М.Д., Гриценко В.А.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук –
обособленное структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр»
Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Резюме. Цель исследования – провести сравнительный анализ факторов иммунорезистентности у штаммов энтерококков и стафилококков, выделенных при хроническом бактериальном простатите (ХБП). Исследования *in vitro* проведены на 24 клинических штаммах грамположительных кокков разных видов: *Enterococcus faecalis* (n = 6), *Staphylococcus aureus* (n = 6), коагулазонегативные стафилококки (coagulase-negative staphylococci – CoNS): *S. haemolyticus* (n = 6), *S. epidermidis* (n = 6), выделенные из секрета простаты у мужчин с ХБП. Антилизоцимную активность (АЛА) бактерий и их способность образовывать биопленки определяли фотометрическим методом; sIgA-протеазную активность бактерий и их антицитокиновую активность (АЦА) в отношении про- и противовоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, IL-17A, TNF α и IL-4) определяли иммуноферментным методом. Полученные данные обработаны методами вариационной статистики и методом ранговой корреляции по Спирмену. При проведении сравнительного анализа факторов иммунорезистентности у энтерококков и стафилококков, выделенных при ХБП, не обнаружено существенных различий в уровнях выраженности АЛА, БПО и АЦА в отношении IL-8 и TNF α между изолятами бактерий изученных видов, но выявлена их межвидовая вариабельность по экспрессии sIgA-протеазной активности и АЦА в отношении IL-4, IL-6 и IL-17A. Результаты корреляционного анализа свидетельствовали о наличии у изолятов CoNS и *S. aureus* тесной положительной связи между экспрессией АЦА IL-8 и АЦА IL-6, а также у штаммов CoNS и *E. faecalis* – между sIgA-протеазной активностью и АЦА IL-6. Обратные корреляционные зависимости между АЦА IL-8 и АЦА IL-17A, АЦА IL-8 и БПО; а также БПО и АЦА TNF α выявлены у *E. faecalis*. Проведенные исследования позволили охарактеризовать у штаммов *E. faecalis*, *S. aureus* и CoNS разных видов, выделенных от больных с ХБП, ряд факторов иммунорезистентности, связанных с инактивацией/супрессией антимикробных механизмов защиты, которые могут способствовать вы-

Адрес для переписки:

Пашинина Ольга Александровна
Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза
Уральского отделения Российской академии наук
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11.
Тел.: 8 (922) 543-91-41.
E-mail: olga25mikro@mail.ru

Address for correspondence:

Olga A. Pashinina
Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis
11 Pionerskaya St
Orenburg
460000 Russian Federation
Phone: +7 (922) 543-91-41.
E-mail: olga25mikro@mail.ru

Образец цитирования:

О.А. Пашинина, Т.М. Пашкова, О.Л. Карташова,
Л.П. Попова, М.Д. Кузьмин, В.А. Гриценко
«Сравнительный анализ иммунорезистентности
клинических изолятов энтерококков и стафилококков
при хроническом бактериальном простатите»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 1047-1054.
doi: 10.46235/1028-7221-17260-CIR

© Пашинина О.А. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.A. Pashinina, T.M. Pashkova, O.L. Kartashova,
L.P. Popova, M.D. Kuzmin, V.A. Gritsenko “Comparative
immune resistance of Enterococci and Staphylococci
isolated in chronic bacterial prostatitis”, *Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2025,
Vol. 28, no. 4, pp. 1047-1054.
doi: 10.46235/1028-7221-17260-CIR

© Pashinina O.A. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17260-CIR

живанию и длительной персистенции патогенов в предстательной железе. Дальнейшие исследования в этом направлении могут дать новые практически полезные сведения, в том числе касающиеся прогнозирования персистенции конкретных штаммов.

Ключевые слова: хронический бактериальный простатит, энтерококки, стафилококки, антилизозимная активность, способность к биопленкообразованию, sIgA-протеазная активность, антицитокиновая активность

COMPARATIVE IMMUNE RESISTANCE OF ENTEROCOCCI AND STAPHYLOCOCCI ISOLATED IN CHRONIC BACTERIAL PROSTATITIS

Pashinina O.A., Pashkova T.M., Kartashova O.L., Popova L.P., Kuzmin M.D., Gritsenko V.A.

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis – a Separate Structural Unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to conduct a comparative analysis of immunoresistance factors in enterococci and staphylococci strains isolated in chronic bacterial prostatitis (CBP). *In vitro* studies were conducted on 24 clinical strains of Gram-positive cocci of different species: *Enterococcus faecalis* (n = 6), *Staphylococcus aureus* (n = 6), coagulase-negative staphylococci (CoNS): *S. haemolyticus* (n = 6), *S. epidermidis* (n = 6), isolated from prostatic secretion in men with CBP. Antilysozyme activity (ALA) of bacteria and their ability to form biofilms (BFA) were determined photometrically; sIgA protease activity of bacteria and their anticytokine activity (ACA) in relation to pro- and anti-inflammatory cytokines (IL-6, IL-8, IL-17A, TNF α and IL-4) were determined by the enzyme immunoassay. The obtained data were processed by the methods of variation statistics and the Spearman correlation criterion. Upon the comparative analysis of immunoresistance factors in enterococci and staphylococci isolated in CBP, no significant differences in the expression levels of ALA, BPO, and ACA in relation to IL-8 and TNF α were revealed between the isolates of bacteria of the studied species, but their interspecies variability in sIgA protease expression and ACA against IL-4, IL-6, and IL-17A were noted. The results of correlation analysis have shown a close positive relationship between the expression of ACA IL-8 and ACA IL-6 in CoNS and *S. aureus* isolates, as well as between sIgA protease activity and ACA IL-6 in CoNS and *E. faecalis* strains. Inverse correlations were found between ACA to IL-8 and ACA to IL-17A, ACA IL-8 and BFA. Moreover, BFA and ACA to TNF α were detected in *E. faecalis*. These results allowed us to characterize a number of immunoresistance factors associated with inactivation/suppression of antimicrobial defense mechanisms in clinical strains of *E. faecalis*, *S. aureus* and CoNS of different species isolated from patients with CBP, which may contribute to the survival and long-term persistence of pathogens in the prostate gland. Further studies in this area can provide new practically useful data, including information related to the prediction of persistence for distinct bacterial strains.

Keywords: chronic bacterial prostatitis, Enterococci, Staphylococci, antilysozyme activity, biofilm formation ability, sIgA protease activity, anticytokine activity

Работа выполнена по теме государственного задания ИКВС УрО РАН № FUUG-2022-0007 «Исследование симбиотических систем про- и эукариот в биологии и медицине».

Введение

Хронические инфекционно-воспалительные заболевания, в том числе хронический бактериальный простатит (ХБП), связаны с персистенцией возбудителей в тканях пораженных органов на фоне ярко выраженного (при рецидиве) или вяло текущего (в период ремиссии) воспа-

лительного процесса. Длительное вегетирование патогенов в пораженных локусах сопряжено с постоянным воздействием на микроорганизмы гуморальных и клеточных факторов врожденного и адаптивного иммунитета. Выживание инфекционных агентов в таких условиях возможно лишь при наличии у них факторов и механизмов супрессии/нейтрализации компонентов антимикробной защиты макроорганизма. Совокупность подобных свойств, называемых факторами персистенции или импединами (от *лат.* impede – мешать, препятствовать, задерживать), так как

их функция ограничивается «обороной без повреждения», обеспечивает возбудителям иммунорезистентность (по аналогии с антибиотикостойчивостью), которая препятствует процессу саногенеза и элиминации патогенов из инфицированных органов [1, 3, 6].

Несмотря на то, что при хроническом течении ряда инфекционно-воспалительных заболеваний у возбудителей охарактеризован широкий спектр факторов персистенции, включая антилизоцимную, антикомплементарную, антилактоферриновую, sIgA-протеазную, антицитокинную активность и способность формировать биопленки [8, 12, 16], при ХБП иммунорезистентность приоритетных патогенов, к которым, в частности, относятся энтерококки и стафилококки [17], охарактеризована фрагментарно [10, 11]. При этом особый интерес представляет анализ взаимосвязей персистентных характеристик между собой у грамположительных кокков изученных видов, результаты которого позволят точнее представить видоспецифические особенности паттернов иммунорезистентности данных возбудителей ХБП.

Цель исследования – провести сравнительный анализ факторов иммунорезистентности штаммов энтерококков и стафилококков, выделенных при хроническом бактериальном простатите.

Материалы и методы

В работе использованы культуры стафилококков и энтерококков, выделенные из секрета предстательной железы у больных ХБП классическим бактериологическим методом. Для выделения стафилококков использовали желточно-солевой агар; для энтерококков – Enterococcusel-Agar (CONDA, Испания) и желчно-эскулиновый агар с азидом натрия (HiMedia, Индия). Посевы бактерий инкубировали при 37 °С в течение 18-24 часов.

Видовую принадлежность микроорганизмов оценивали с помощью масс-спектрометра MALDI-TOF серии Microflex (Bruker Daltonics, Германия), идентификацию микроорганизмов с расчетом коэффициента достоверности проводили с использованием программного обеспечения Maldi BioType 3.0.

Материалом для экспериментов *in vitro* послужили 24 клинических штамма грамположительных кокков разных видов: *Enterococcus faecalis* (n = 6), *Staphylococcus aureus* (n = 6), коагулазо-негативные стафилококки (coagulase-negative staphylococci – *CoNS*), в том числе: *S. haemolyticus* (n = 6) и *S. epidermidis* (n = 6).

Фотометрическим методом определяли антилизоцимную активность (АЛА) [2] бактерий и их способность к биопленкообразованию (БПО) [18]; иммуноферментным методом (ИФА) определяли

sIgA-протеазную активность бактерий [4] и их антицитокинную активность (АЦА), т. е. способность микроорганизмов инактивировать в среде про- (IL-6, IL-8, IL-17A, TNF α) и противовоспалительные цитокины (IL-4) [5].

Полученные данные обработаны методами вариационной статистики и методом ранговой корреляции по Спирмену с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США). Результаты представлены в виде средних значений и ошибок средних ($M \pm m$), для сравнения групп использовали критерий Стьюдента, значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ изученных факторов иммунорезистентности у энтерококков и стафилококков, выделенных при ХБП, показал их сходство по таким персистентным характеристикам, как АЛА, БПО и АЦА в отношении IL-8 и TNF α , а также выявил межвидовую вариабельность данных микроорганизмов по уровням экспрессии ряда изученных свойств, в частности по выраженности у них sIgA-протеазной активности и АЦА в отношении IL-4, IL-6 и IL-17A (табл. 1).

Как видно из представленной таблицы 1, между клиническими штаммами бактерий изученных видов отсутствовали существенные различия в уровнях экспрессии таких персистентных характеристик, как АЛА, БПО и АЦА в отношении IL-8 и TNF α , что косвенно указывало, с одной стороны, на весомый вклад данных свойств в формирование иммунорезистентности возбудителей ХБП, с другой стороны, на их важное значение в обеспечении персистенции патогенов в тканях предстательной железы при этой патологии.

В то же время были обнаружены межвидовые отличия бактерий по выраженности у них других факторов иммунорезистентности (табл. 1).

Так, при определении у клинических штаммов экспрессии sIgA-протеазной активности установлено, что максимальный уровень этого признака регистрировался у изолятов *E. faecalis* ($24,9 \pm 0,3\%$), что в 2,1 раза превышало аналогичный показатель у культур *CoNS* ($11,9 \pm 0,3\%$, $p < 0,01$) и в 11,9 раз – у *S. aureus* ($2,1 \pm 0,1\%$, $p < 0,001$).

Что касается АЦА в отношении IL-6, то ее максимальный уровень демонстрировали штаммы *S. aureus* ($7,8 \pm 0,8$ пг/мл), который был выше этих показателей у изолятов *CoNS* ($5,6 \pm 0,3$ пг/мл, $p < 0,05$) и *E. faecalis* ($5,5 \pm 0,2$ пг/мл, $p < 0,05$). Кроме того, изоляты *S. aureus* отличались от бактерий других видов по уровню АЦА в отношении IL-17A, он у них был выше ($34,2 \pm 2,1$ пг/мл), чем у штаммов *CoNS* ($23,2 \pm 1,9$ пг/мл, $p < 0,05$) и *E. faecalis* ($19,9 \pm 1,8$ пг/мл, $p < 0,01$). Межвидовые

ТАБЛИЦА 1. ЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРОВ ИММУНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭНТЕРОКОККОВ И СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ БАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРОСТАТИТОМ

TABLE 1. EXPRESSION OF IMMUNORESISTANCE FACTORS OF ENTEROCOCCI AND STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM PATIENTS WITH CHRONIC BACTERIAL PROSTATITIS

Факторы иммунорезистентности immunoresistance factors		Группы бактерий Groups of bacteria		
		<i>E. faecalis</i> (n = 6)	<i>S. aureus</i> (n = 6)	CoNS (n = 12)
АЛА, мкг/мл ALA, µg/mL		1,7±0,1	1,9±0,1	1,8±0,3
БПО, у. е. BFF, c. u.		1,3±0,1	1,41±0,10	1,3±0,1
sIgA-протеазная активность, % sIgA-protease activity, %		24,9±0,3*	2,1±0,1	11,9±0,3*
АЦА в отношении цитокинов (пг/мл) ACA in relation to cytokines (pg/mL)	IL-4	16,7±1,5	0	23,2±1,8*
	IL-6	5,5±0,2	7,8±0,8*	5,6±0,3
	IL-17A	19,9±1,8*	34,2±2,1	23,2±1,9*
	TNFα	52,7±4,1	47,0±3,2	52,8±3,3
	IL-8	46,8±3,5	41,0±3,1	44,9±2,6

Примечание. АЛА – антилизоцимная активность (мкг/мл); БПО – биопленкообразование (у. е.); sIgA-протеазная активность – способность секретировать протеолитические ферменты, разрушающие sIgA (%); АЦА – антицитокиновая активность (пг/мл). * – достоверные межвидовые различия экспрессии признаков (p < 0,05).

Note. ALA, antilysozyme activity (µg/mL); BFF, biofilm formation (c. u); sIgA-protease activity, the ability to secrete proteolytic enzymes that destroy sIgA (%); ACA, anticytokine activity (pg/mL). *, significant interspecific differences in trait expression (p < 0.05).

различия наблюдались и по АЦА в отношении IL-4: у культур *S. aureus* данный признак отсутствовал, тогда как самый высокий его уровень наблюдался у изолятов *CoNS* (23,2±1,8 пг/мл), который достоверно превышал таковой у штаммов *E. faecalis* (16,7±1,5 пг/мл, p < 0,05).

Эти данные, очевидно, свидетельствуют о существенном вкладе АЦА в отношении различных цитокинов в формирование видоспецифичности паттернов иммунорезистентности возбудителей ХБП разной таксономической принадлежности.

Для выявления возможных взаимосвязей между свойствами исследуемых штаммов микроорганизмов нами был проведен корреляционный анализ и выявлены взаимосвязи между персистентными свойствами изучаемых видов микроорганизмов (рис. 1).

Так, у штаммов *S. aureus* экспрессия АЦА в отношении IL-8 положительно коррелировала с sIgA-протеазной активностью, АЦА IL-6, АЦА TNFα (r = 0,94, r = 0,7 и r = 0,76 соответственно; p < 0,05). Установлена высокая степень корреляционной зависимости между АЦА IL-6 и АЦА

TNFα (r = 0,8; p < 0,05), а также АЦА IL-6 и БПО (r = 0,8; p < 0,05).

У изолятов *CoNS* отмечена высокая корреляционная зависимость экспрессии АЦА IL-8 и sIgA-протеазной активности; АЦА IL-8 и АЦА IL-6 (r = 0,92; p < 0,05), sIgA-протеазной активности и АЦА IL-6 (r = 0,86; p < 0,05).

У штаммов *E. faecalis*, также как и у *S. aureus*, отмечен высокий уровень корреляции между экспрессией АЦА IL-8 и АЦА TNFα (r = 0,75; p < 0,05), и также как у изолятов *CoNS* – sIgA-протеазной активностью и АЦА IL-6 (r = 0,7; p < 0,05). Отмечены корреляции между экспрессией АЦА IL-4 и БПО (r = 0,87, p < 0,05), АЛА и АЦА IL-17A (r = 0,94, p < 0,05).

У культур энтерококков выявлена обратная корреляционная зависимость выраженности АЦА IL-8 и АЦА IL-17A, АЦА IL-8 и БПО (r = -0,7; p < 0,05); а также БПО и АЦА TNFα (r = -0,76; p < 0,05).

Таким образом, проведенный корреляционный анализ выявил высокую силу корреляционной зависимости у изолятов *CoNS* и *S. aureus* между экспрессией АЦА IL-8 и АЦА IL-6, и у

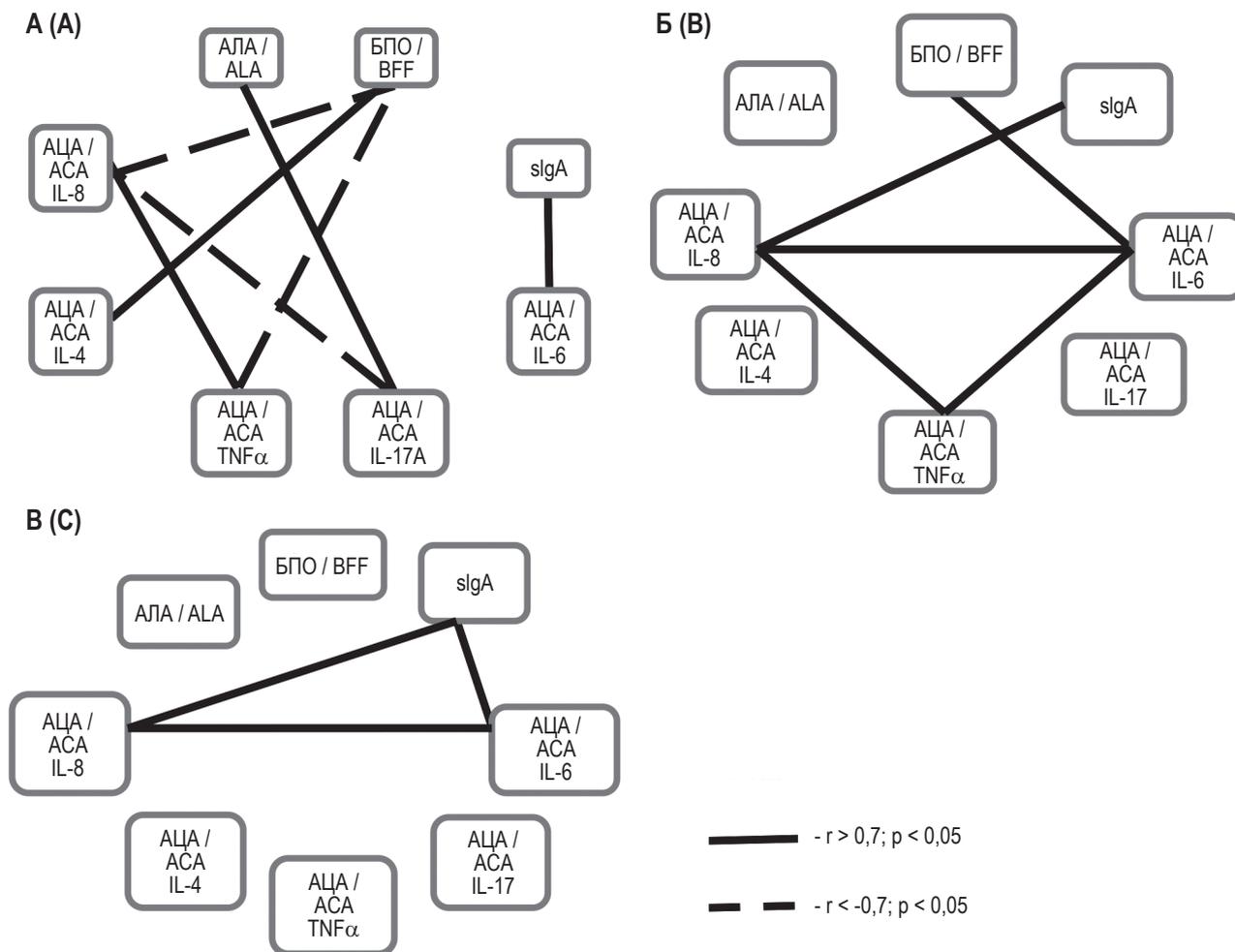


Рисунок 1. Корреляционные плеяды между уровнями экспрессии факторов иммунорезистентности у штаммов: А – *E. faecalis*, Б – *S. aureus*, В – *CoNS*

Figure 1. Correlation pleiades between the expression levels of immunoresistance factors in strains: A, *E. faecalis*; B, *S. aureus*; C, *CoNS*

штаммов *CoNS* и *E. faecalis* между sIgA-протеазной активностью и АЦА IL-6. Обратные корреляционная зависимости между свойствами выявлены у *E. faecalis*.

Проведенные исследования позволили определить факторы, инактивирующие/супрессирующие антимикробные механизмы защиты у стафилококков разных видов и энтерококков, выделенных при хроническом течении бактериального простатита.

Основной стратегией патогенных микроорганизмов при хронической инфекции является адаптация, направленная на длительное выживание, которое возможно только при реализации эффективных механизмов защиты и нападения.

Развитие и исход заболеваний микробной этиологии зависят от персистентных свойств микроорганизмов, направленных на инактивацию

факторов естественной резистентности организма человека.

Факторы, способствующие персистенции, рассматриваются в качестве маркера, обуславливающего длительное переживание патогена в организме хозяина. К таким факторам относят, в частности, способность бактерий деградировать лизоцим, что может приводить в конечном итоге к развитию местного иммунодефицита, с последующим формированием хронического воспалительного процесса, и, несомненно, повлечет за собой дегенеративные изменения в различных отделах репродуктивного тракта.

В нашем исследовании установлен высокий уровень экспрессии sIgA-протеазной активности у штаммов энтерококков, что, очевидно, необходимо для их выживания в условиях действия секреторного иммуноглобулина А, а также свиде-

тельствует о способности sIgA-протеаз *E. faecalis* поддерживать воспалительный процесс и участвовать в его хронизации [13].

Иммунорезистентность бактерий связана также с их способностью формировать биопленки, которые, прикрепившись к эпителию системы протоков, образуют слизь экзополисахарида или защитные оболочки гликокаликса, что приводит к стойкой иммунологической стимуляции и последующему хроническому воспалению [7].

В настоящее время продолжает активно изучаться способность микроорганизмов к инактивации/нейтрализации различных видов цитокинов [14, 15]. Нами установлено, что энтерококки и стафилококки, выделенные из клинического материала при ХБП, обладают высоким потенциалом к инактивации TNF α , IL-8, IL-6, IL-17A, что, вероятно, позволяет им вмешиваться в формирование иммунного ответа на бактериальную агрессию и тем самым существенно влиять на течение и исход инфекционного процесса. Вместе с тем самая высокая антицитокиновая активность в отношении IL-4 отмечена у *CoNS*. Эти данные согласуются с результатами другого ис-

следования, в частности [9], где было показано, что наиболее высокий уровень АЦА в отношении IL-4 демонстрировали бактерии вида *S. xyloshis*, относящегося к группе коагулазонегативных стафилококков. Авторы предполагают, что дальнейшие исследования антицитокиновой активности у штаммов стафилококков, выделенных из секрета предстательной железы мужчин с симптомами урогенитальной инфекции, позволят выявить информативные параметры, пригодные для оценки степени тяжести заболевания.

Заключение

Иммунологические особенности местного иммунитета играют ключевую роль в торможении персистенции микроорганизмов. В свою очередь, дисфункция иммунной системы способствует изменению цитокинового профиля и формированию аутоиммунных процессов, хронизации инфекционно-воспалительного процесса. Постоянное воздействие патогенных микроорганизмов приводит к срыву защитных реакций, а следовательно – к декомпенсации и нарушению функции предстательной железы.

Список литературы / References

1. Бургасов П.Н., Румянцев С.Н. Антимикробный конституциональный иммунитет. М.: Медицина, 1985. 256 с. [Burgasov P.N., Rumiyansev S.N. Antimicrobial constitutional immunity]. Moscow: Meditsina, 1985. 256 p.
2. Бухарин О.В., Вальшев А.В., Елагина Н.Н. Фотометрическое определение антилизозимной активности микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1997. № 4. С. 117-120. [Bukharin O.V., Valyshev A.V., Elagina N.N. Photometric determination of antilysozyme activity of microorganisms. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1997, no. 4, pp. 117-120. (In Russ.)]
3. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999. 365 с. [Bukharin O.V. Persistence of pathogenic bacteria]. Moscow: Meditsina, 1999. 365 p.
4. Бухарин О.В., Чайникова И.Н., Вальшев А.В. Способ определения антииммуноглобулиновой активности микроорганизмов. Патент RU 2236465 C2, 20.09.2004. [Bukharin O.V., Chaynikova I.N., Valyshev A.V. Method for determining the anti-immunoglobulin activity of microorganisms. RU 2236465 C2, 20.09.2004].
5. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н., Иванова Е.В., Смолягин А.И. Антицитокиновая активность микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2011. № 4. С. 56-61. [Bukharin O.V., Perunova N.B., Chajnikova I.N., Ivanova E.V., Smolyagin A.I. Anti-cytokine activity of microorganisms. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2011, no. 4, pp. 56-61. (In Russ.)]
6. Вялкова А.А., Гриценко В.А. Глава 3. Роль инфекции в развитии соматической патологии у детей. В: Игнатова М.С. (ред.). Соматические болезни у детей: руководство для врачей. М. – Оренбург: Южный Урал, 2002. С. 40-73. [Vyalkova A.A., Gritsenko V.A. Chapter 3. The role of infection in the development of somatic pathology in children. In: Ignatova M.S. (ed.). Somatic diseases in children: A guide for doctors]. Moscow-Orenburg: Yuzhnyy Ural, 2002, pp. 40-73.
7. Ермоленко З.М., Слукин П.В., Фурсова Н.К. Биопленки микроорганизмов в урологии: клиническая значимость и контроль связанных с ними инфекций // Бактериология, 2021. Т. 6, № 2. С. 47-61. [Ermolenko Z.M., Slukin P.V., Fursova N.K. Microbial biofilms in urology: clinical significance and control of associated infections. *Bakteriologiya = Bacteriology*, 2021, Vol. 6, no. 2, pp. 47-61. (In Russ.)]
8. Карташова О.Л., Боклин А.К., Киргизова С.Б. Характеристика биологических свойств возбудителей хронических синуситов // Российская ринология, 2005. № 2. С. 71. [Kartashova O.L., Boklin A.K., Kirgizova S.B. Characteristics of biological properties of pathogens causing chronic sinusitis. *Rossiyskaya rinologiya = Russian Rhinology*, 2005, no. 2, p. 71. (In Russ.)]
9. Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Пашина О.А., Морозова Н.В. Антицитокиновая активность и способность к продукции цитокиноподобных веществ стафилококков, выделенных из секрета предста-

тельной железы у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 2. С. 257-260. [Kartashova O.L., Pashkova T.M., Pashinina O.A., Morozova N.V. Anticytokine activity and ability to produce cytokine-like substances of staphylococci isolated from prostatic secretion in men with symptoms of urogenital infection. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2021, Vol. 24, no. 2, pp. 257-260. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-995-AAA.

10. Карташова О.Л., Пашина О.А., Пашкова Т.М., Гриценко В.А., Михайленко С.В. Биопрофили стафилококков разных видов, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с хроническим бактериальным простатитом // Тихоокеанский медицинский журнал, 2023. № 1. С.70-74. [Kartashova O.L., Pashinina O.A., Pashkova T.M., Gricenko V.A., Mixajlenko S.V. Bioprofiles of different species of staphylococci isolated from prostatic secretion in men with chronic bacterial prostatitis. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2023, no. 1, pp. 70-74. (In Russ.)]

11. Карташова О.Л., Пашина О.А., Пашкова Т.М., Гриценко В.А., Попова Л.П. Факторы патогенности и антибиотикорезистентность штаммов *Enterococcus faecalis*, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с хроническим бактериальным простатитом // Тихоокеанский медицинский журнал, 2024. № 2. С. 60-64. [Kartashova O.L., Pashinina O.A., Pashkova T.M., Gricenko V.A., Popova L.P. Pathogenicity factors and antibiotic resistance of *Enterococcus faecalis* strains isolated from prostatic secretion in men with chronic bacterial prostatitis. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2024, no. 2, pp. 60-64. (In Russ.)]

12. Капустина О.А., Чайникова И.Н., Карташова О.Л. Видовая характеристика и факторы персистенции грибов рода *Candida*, выделенных из разных биотопов при инфекционно-воспалительных заболеваниях и дисбиозе кишечника // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 2012. № 4. С. 37-41. [Kapustina O.A., Chaynikova I.N., Kartashova O.L. Species characteristic and persistent factors of *Candida* genus fungi isolated from various biotopes during infectious-inflammation diseases and intestine dysbiosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2012, no. 4, pp. 37-41. (In Russ.)]

13. Костюкова Н.Н., Бехало В.А. Молекулярно-биологические основы патогенности гонококков и особенности иммунного ответа // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 2006. № 1. С. 105-112. [Kostyukova N.N., Bekhalo V.A. Molecular biological basis of the gonococcal pathogenicity and specific features of immune response. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2006, no. 1, pp. 105-112. (In Russ.)]

14. Пашина О.А., Пашкова Т.М., Карташова О.Л., Морозова Н.В. Антицитокиновая активность грибов рода *Candida* и их способность к продукции цитокиноподобных веществ // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 1. С.57-62. [Pashinina O.A., Pashkova T.M., Kartashova O.L., Morozova N.V. Anticytokine activity of *Candida* fungi and their ability to produce cytokine-like substances. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 26, no. 1, pp. 57-62. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1150-AAO.

15. Пашина О.А., Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Гриценко В.А. Антицитокиновая активность микроорганизмов и их способность продуцировать цитокиноподобные вещества // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2023. № 4. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2023-4/Articles/PAO-2023-4.pdf>. [Pashinina O.A., Kartashova O.L., Pashkova T.M., Gricenko V.A. Anti-cytokine activity of microorganisms and their ability to produce cytokine-like substances. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2023, no. 4. [Electronic resource]. Available at: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2023-4/Articles/PAO-2023-4.pdf>. (In Russ.)]

16. Перепанова Т.С. Значение инфекций, обусловленных образованием биопленок, в урологической практике // Урология и нефрология, 2013. № 4. С. 18-27. [Perepanova T.S. The importance of infections caused by biofilm formation in urological practice. *Urologiya i nefrologiya = Urology and Nephrology*, 2013, no. 4, pp. 18-27. (In Russ.)]

17. Lobel B., Rodriguez A. Chronic prostatitis: what we know, what we do not know and what we should do! *World J. Urol.*, 2003, Vol. 21, no. 2, pp. 57-63.

18. O'Toole G., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2000, no. 54, pp. 49-79.

Авторы:

Пашина О.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Authors:

Pashinina O.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis — a Separate Structural Unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Пашкова Т.М. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Карташова О.Л. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Попова Л.П. — к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Кузьмин М.Д. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории по изучению механизмов формирования микробиоценозов человека Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Гриценко В.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленного структурного подразделения ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Pashkova T.M., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis — a Separate Structural Unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Kartashova O.L., PhD, MD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis — a Separate Structural Unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Popova L.P., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis — a Separate Structural Unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Kuzmin M.D., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Studying the Mechanisms of Formation of Human Microbiocenoses, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis — a Separate Structural Unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Gritsenko V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis — a Separate Structural Unit of the Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Поступила 30.04.2025
Отправлена на доработку 12.05.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 30.04.2025
Revision received 12.05.2025
Accepted 22.06.2025

СИСТЕМНАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ, ГОРМОНАЛЬНЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ У ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

**Азизова З.Ш.¹, Мусаходжаева Д.А.¹, Рузимуродов Н.Ф.¹,
Олимова Н.И.²**

¹ *Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан*

² *Бухарский государственный медицинский университет, г. Бухара, Республика Узбекистан*

Резюме. Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) представляет собой одно из наиболее распространенных эндокринных расстройств у женщин репродуктивного возраста и характеризуется разнообразными клиническими проявлениями, включая нарушение овуляции, гиперандрогению, а также метаболические изменения, такие как инсулинорезистентность и ожирение. В последние годы все больше внимания уделяется роли иммунных факторов и системного воспаления в патогенезе данного синдрома. Целью настоящего исследования явилось определение уровней антимюллера гормона, гонадотропинов, провоспалительных цитокинов, показателей углеводного обмена и индекса инсулинорезистентности у женщин с различными клиническими формами СПКЯ, в зависимости от характера менструального цикла. В исследование были включены 86 женщин репродуктивного возраста, которые были разделены на четыре группы: контрольную (женщины без нарушений менструального цикла) и три группы пациенток с СПКЯ, стратифицированные по типу менструального нарушения: регулярный цикл, олигоменорея и аменорея. У всех участниц определялись уровни антимюллера гормона, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, глюкозы, инсулина, а также провоспалительных цитокинов – IL-6, TNF α и IL-17A. Рассчитывался индекс инсулинорезистентности. Полученные данные показали достоверное повышение уровней всех изучаемых гормональных и иммунных показателей у женщин с СПКЯ по сравнению с контрольной группой, с наибольшими изменениями в группе с аменореей. Результаты исследования подтверждают наличие системной взаимосвязи между воспалительными, гормональными и метаболическими нарушениями у женщин с СПКЯ. Провоспалительные цитокины могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров тяжести заболевания, а их комплексная оценка наряду с гормональными и метаболическими показателями может способствовать улучшению диагностики и индивидуализации терапии при данном синдроме.

Ключевые слова: синдром поликистозных яичников, цитокины, гормоны, женщины, сыворотка, менструация, дисбаланс

Адрес для переписки:

*Азизова Зухра Шухратовна
Институт иммунологии и геномики человека
Академии наук Республики Узбекистан
100060, Республика Узбекистан, г. Ташкент,
ул. Яхъе Гулямова, 74.
Тел.: +998 93 5859853.
E-mail: zuhra_0203@list.ru*

Address for correspondence:

*Zukhra Sh. Azizova
Institute of Immunology and Human Genomics,
Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
4 Yakhyo Gulyamov St
Tashkent
100060 Republic of Uzbekistan
Phone: +998 93 5859853.
E-mail: zuhra_0203@list.ru*

Образец цитирования:

*З.Ш. Азизова, Д.А. Мусаходжаева, Н.Ф. Рузимуродов, Н.И. Олимова «Системная взаимосвязь воспалительных, гормональных и метаболических маркеров у женщин с синдромом поликистозных яичников» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 1055-1060.
doi: 10.46235/1028-7221-17224-SRO*

© Азизова З.Ш. и соавт., 2025

*Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0*

For citation:

*Z.Sh. Azizova, D.A. Musakhodzhayeva, N.F. Ruzimurodov, N.I. Olimova "Systemic relationships of inflammatory, hormonal, and metabolic markers in women with polycystic ovary syndrome", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 1055-1060.
doi: 10.46235/1028-7221-17224-SRO*

© Azizova Z.Sh. et al., 2025

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17224-SRO

SYSTEMIC RELATIONSHIPS OF INFLAMMATORY, HORMONAL, AND METABOLIC MARKERS IN WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Azizova Z.Sh.^a, Musakhodzhayeva D.A.^a, Ruzimurodov N.F.^a, Olimova N.I.^b

^a Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

^b Bukhara State Medical University, Bukhara, Republic of Uzbekistan

Abstract. Polycystic ovary syndrome (PCOS) is among the most common endocrine disorders observed in women of reproductive age and is characterized by a wide range of clinical manifestations, including ovulatory dysfunction, hyperandrogenism, and metabolic alterations, such as insulin resistance and obesity. In recent years, increasing attention has been given to immune factors and systemic inflammation in pathogenesis of this syndrome. Our objective was to determine the levels of anti-Müllerian hormone, gonadotropins, proinflammatory cytokines, carbohydrate metabolism parameters, and insulin resistance index in women with different clinical phenotypes of PCOS depending on the type of menstrual cycle. The study included 86 women at their reproductive age, being divided into four groups: a control group (women without menstrual cycle disturbances) and three groups of patients with PCOS, stratified by the type of menstrual irregularity: regular cycle, oligomenorrhea, and amenorrhea. All participants underwent evaluation of serum levels of anti-Müllerian hormone, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, glucose, insulin, and proinflammatory cytokines including IL-6, TNF α , and IL-17A. Insulin resistance index was also calculated in accordance with a homeostatic model. The findings demonstrated significantly increased levels of all evaluated hormonal and immune parameters in women with PCOS compared to the control group, with the most pronounced changes observed in amenorrhoeic subgroup. The results of the study confirm a systemic interrelationship between inflammatory, hormonal, and metabolic disturbances in women with PCOS. Proinflammatory cytokines may serve as potential biomarkers of disease severity, and their comprehensive assessment, along with hormonal and metabolic markers may enhance the accuracy of diagnosis and support a more individualized approach to therapy in this patient population.

Keywords: polycystic ovary syndrome, cytokines, hormones, women, serum, menstruation, imbalance

Введение

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) является одной из наиболее распространенных форм эндокринной патологии у женщин репродуктивного возраста, затрагивая, по оценкам, от 8% до 15% в популяции [1].

На протяжении последних лет особое внимание исследователей привлекает роль иммунных и провоспалительных факторов в патогенезе СПКЯ. Согласно современным представлениям, хроническое низкоуровневое воспаление рассматривается как ключевой компонент заболевания [6]. Установлено, что у пациенток с СПКЯ повышены уровни провоспалительных цитокинов, играющих важную роль в нарушении метаболического гомеостаза и овариальной функции [2, 9].

Дополнительный интерес представляет цитокин IL-17A, принадлежащий к Th17-подгруппе и способствующий активации нейтрофилов и усилению тканевого воспаления. Повышение уров-

ня IL-17A у женщин с СПКЯ может быть связано с инсулинорезистентностью и метаболическим синдромом, как это показано в работе Н. Kuang и соавт. [7].

Важную регуляторную роль в росте и созревании фолликулов играет антимюллеров гормон (АМГ), уровень которого у пациенток с СПКЯ значимо повышен и коррелирует с количеством антральных фолликулов [10]. Более того, последние исследования свидетельствуют о возможной взаимосвязи между концентрацией АМГ и уровнем провоспалительных цитокинов, что может указывать на участие АМГ не только как биомаркера овариального резерва, но и как активного участника патологического фолликулогенеза [4].

Не менее важными в патогенезе СПКЯ являются классические гонадотропины – фолликулостимулирующий (ФСГ) и лютеинизирующий гормоны (ЛГ). Нарушение соотношения ЛГ/ФСГ, особенно преобладание ЛГ, способствует стимуляции андрогенпродуцирующих клеток

теки и нарушает нормальный механизм овуляции. Повышение ЛГ также связано с усилением синтеза АМГ и нарушением выбора доминантного фолликула [5]. В то же время снижение чувствительности к ФСГ на фоне высокой продукции АМГ может препятствовать нормальному фолликулогенезу и провоцировать его блокаду на ранних стадиях [10].

Гиперинсулинемия и повышение глюкозы натощак, сопровождающие инсулинорезистентность, играют дополнительную роль в поддержании гиперандрогенного фона, усиливая активность стероидогенеза в яичниках и подавляя синтез глобулина, связывающего половые гормоны в печени, что увеличивает биодоступность тестостерона, что, в свою очередь, приводит к формированию клинических проявлений СПКЯ и нарушению овуляторной функции [4, 8].

Таким образом, СПКЯ обусловлен сложным взаимодействием эндокринной, иммунной и метаболической систем. В этой связи актуально исследование взаимосвязей между иммунными и гормональными показателями у женщин с разными клиническими формами СПКЯ для выявления новых прогностических маркеров нарушения овариальной функции.

Целью настоящего исследования явилось определение особенностей концентраций антимюллера гормона, провоспалительных цитокинов, гонадотропинов и показателей углеводного обмена у женщин с СПКЯ в зависимости от типа МЦ.

Материалы и методы

Проведено проспективное клинико-лабораторное исследование, включившее 86 женщин репродуктивного возраста (18–35 лет) с различными формами СПКЯ. Основную группу составили пациентки, соответствующие критериям Роттердамского консенсуса (наличие ≥ 2 из 3 признаков: ановуляция, гиперандрогения, поликистозные яичники). Участницы были распределены на три подгруппы: с регулярным циклом ($n = 22$), олигоменореей ($n = 18$) и аменореей ($n = 21$). Контрольную группу составили 25 здоровых женщин.

Критерии исключения: возраст < 18 и > 35 лет, гиперпролактинемия, врожденная гиперплазия коры надпочечников, синдром Иценко–Кушинга, острые воспалительные или аутоиммунные заболевания, прием гормональных препаратов за 3 месяца до исследования.

Обследование включало сбор анамнеза, оценку ИМТ, гирсутизма (по шкале Ферримана–Голлвея) и УЗИ органов малого таза. В сыворотке крови определяли уровни АМГ, ФСГ, ЛГ, глюкозы, инсулина с расчетом НОМА-IR (глюкоза \times инсулин / 22,5) с применением радиоиммунного

и ИФА-методов. Иммунологическое исследование (IL-6, TNF α , IL-17A) выполнялось методом ИФА с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (Россия). Забор крови осуществлялся натощак в раннюю фолликулярную фазу.

Статистическая обработка данных выполнена в BioStat LE 7.6.5. Результаты представлены как $M \pm m$. Для межгрупповых сравнений применен t-критерий Стьюдента. Статистическая значимость установлена при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

С целью оценки клинико-лабораторных и иммунологических особенностей при различных формах СПКЯ проведено сравнительное исследование функционального состояния гормональной и иммунной систем. Ниже в таблице 1 приведены данные по ключевым маркерам в контрольной и исследуемых группах в зависимости от типа менструального цикла.

Анализ полученных данных показал наличие достоверных различий по ряду параметров между группами.

Антимюллеров гормон – гликопротеин, синтезируемый гранулезными клетками малых фолликулов, регулирующий ранние этапы фолликулогенеза за счет подавления их рекрутирования и снижения чувствительности к ФСГ [3, 10]. Согласно результатам анализа уровень АМГ в контрольной группе в среднем составил $4,29 \pm 0,25$ нг/мл. У пациенток с СПКЯ наблюдалось значительное повышение АМГ по мере нарастания выраженности нарушений менструального цикла: при регулярном менструальном цикле – $18,39 \pm 1,04$ нг/мл, при олигоменорее – $29,61 \pm 1,02$ нг/мл, и при аменорее – $42,52 \pm 1,74$ нг/мл. Полученные данные подтверждают гиперпродукцию АМГ у женщин с СПКЯ и ее прогрессирующее нарастание при выраженных формах дисфункции овариального цикла.

ФСГ и ЛГ – основные гонадотропины, регулирующие овариальную функцию: ФСГ стимулирует рост фолликулов и синтез эстрогенов, ЛГ – овуляцию и продукцию андрогенов [5]. Так, уровень ФСГ у пациенток с СПКЯ был статистически значимо снижен по сравнению с контролем: при регулярном цикле – $5,21 \pm 0,20$ мМЕ/мл, при олигоменорее – $4,10 \pm 0,29$ мМЕ/мл, при аменорее – $3,60 \pm 0,27$ мМЕ/мл. В то же время уровень ЛГ прогрессивно увеличивался: от $7,10 \pm 0,30$ мМЕ/мл в контрольной группе до $10,20 \pm 0,29$; $12,51 \pm 0,48$ и $13,93 \pm 0,56$ мМЕ/мл соответственно. Повышенное соотношение ЛГ/ФСГ является типичным маркером СПКЯ и отражает нарушение гипоталамо-гипофизарной регуляции.

ТАБЛИЦА 1. ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН, М±m

TABLE 1. HORMONAL STATUS OF THE EXAMINED WOMEN, M±m

Показатель Indicator	Контрольная группа Control group n = 25	СПКЯ PCOS		
		Регулярный МЦ Regular MC n = 22	Олигоменорея Oligomenorrhea n = 18	Аменорея Amenorrhea n = 21
АМГ (нг/мл) AMH (ng/mL)	4,29±0,25	18,39±1,04*	29,61±1,02*	42,52±1,74*
ФСГ (мМЕ/мл) FSH (mIU/mL)	6,49±0,32	5,21±0,20*	4,10±0,29*	3,60±0,27*
ЛГ (мМЕ/мл) LH (mIU/mL)	7,10±0,30	10,20±0,29*	12,51±0,48*	13,93±0,56*
Глюкоза (ммоль) Glucose (mmol/L)	4,80±0,24	5,09±0,30^	5,41±0,25^	5,70±0,31*
Инсулин (мМЕ/мл) Insulin (μIU/mL)	6,02±0,18	12,10±0,49*	14,52±0,89*	16,21±0,86*
НОМА-IR	1,80±0,13	3,51±0,21*	4,20±0,31*	5,11±0,23*

Примечание. * – достоверно по сравнению с данными контрольной группы (p < 0,05 – p < 0,001). ^ – недостоверно по сравнению с данными контрольной группы.

Note. *, statistically significant compared to the control group (p < 0.05 – p < 0.001); ^ – not statistically significant compared to the control group.

ТАБЛИЦА 2. ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН, М±m

TABLE 2. CYTOKINE STATUS OF THE EXAMINED WOMEN, M±m

Показатель, пг/мл Indicator, pg/mL	Контрольная группа Control group n = 25	СПКЯ PCOS		
		Регулярный МЦ Regular MC n = 22	Олигоменорея Oligomenorrhea n = 18	Аменорея Amenorrhea n = 21
IL-6	5,90±0,26	35,91±2,29*	41,74±2,15*	50,93±1,99*
TNFα	17,94±0,63	45,97±1,65*	55,50±2,86*	60,61±2,44*
IL-17A	12,55±0,58	44,49±1,45*	48,93±2,63*	51,20±1,98*

Примечание. * – достоверно по сравнению с данными контрольной группы (p < 0,05 – p < 0,001).

Note. *, statistically significant compared to the control group (p < 0.05 – p < 0.001).

Глюкоза – основной энергетический субстрат организма, уровень которого в крови регулируется инсулином [8]. У женщин с СПКЯ отмечено умеренное повышение глюкозы натощак, статистически значимое лишь при аменорее; в остальных группах различия были недостоверны.

Инсулин – гормон поджелудочной железы, регулирующий уровень глюкозы и участвующий в обмене жиров [8]. Согласно анализу данных, инсулин натощак у женщин с СПКЯ был значительно выше, чем в контрольной группе: 12,10±0,49 мкЕд/мл при регулярном МЦ,

14,52±0,89 – при олигоменорее и 16,21±0,86 – при аменорее.

Индекс НОМА-IR, отражающий степень инсулинорезистентности, рассчитывается по уровням глюкозы и инсулина и служит интегральным маркером метаболического дисбаланса при СПКЯ [8]. Так, в настоящем исследовании индекс НОМА-IR у обследованных женщин последовательно возрастал от 1,80±0,13 в контроле до 3,51±0,21, 4,20±0,31 и 5,11±0,23 в исследуемых группах СПКЯ соответственно, что свидетельствует о выраженной инсулинорезистентности,

ассоциированной с прогрессированием патологии.

В таблице 2 представлены значения провоспалительных цитокинов в сыворотке крови женщин контрольной группы и пациенток с СПКЯ, стратифицированных по характеру МЦ.

Интерлейкин-6 (IL-6) – провоспалительный цитокин, участвующий в воспалении, инсулинорезистентности и нарушении овариальной функции, влияет на синтез белков острой фазы и секрецию гонадотропинов [9].

Согласно анализу цитокинового статуса, у женщин с СПКЯ наблюдалось значительное повышение уровня IL-6 по сравнению с контрольной группой. Так, при регулярном менструальном цикле концентрация IL-6 составила $35,91 \pm 2,29$ пг/мл, при олигоменорее – $41,74 \pm 2,15$ пг/мл, а при аменорее – $50,93 \pm 1,99$ пг/мл. Во всех случаях эти значения были статистически достоверно выше, чем в группе контроля, что свидетельствует о выраженном субклиническом воспалении у пациенток с СПКЯ и его нарастании по мере ухудшения менструального ритма.

Фактор некроза опухоли альфа (TNF α) – ключевой медиатор воспаления, снижает чувствительность к инсулину и подавляет стероидогенез в яичниках [9]. Так, в группе женщин с СПКЯ содержание TNF α было значительно выше, чем в контрольной группе: при регулярном МЦ – $45,97 \pm 1,65$ пг/мл, при олигоменорее – $55,50 \pm 2,86$ пг/мл, и при аменорее – $60,61 \pm 2,44$ пг/мл. Повышенный уровень TNF α , вероятно, способствует формированию инсулинорезистентности и нарушению овариальной стероидной функции.

Интерлейкин-17А представляет собой провоспалительный цитокин, синтезируемый преимущественно Th17-лимфоцитами. Он усиливает экспрессию провоспалительных медиаторов, хемокинов и молекул адгезии, вовлеченных в развитие хронического воспаления [7]. Анализ полученных результатов выявил, что уровень IL-17А у пациенток с СПКЯ также был значительно повышен по сравнению с контролем: при регулярном МЦ – $44,49 \pm 1,45$ пг/мл, при олигоменорее – $48,93 \pm 2,63$ пг/мл, и при аменорее – $51,20 \pm 1,98$ пг/мл. Полученные данные, вероятно, свидетельствуют об активации Th17-звена иммунного ответа и его вовлеченности в поддержание хронического воспаления и метаболических нарушений при СПКЯ.

Таким образом, результаты настоящего исследования подтверждают важность комплексной оценки иммунного, метаболического и гормонального профиля у женщин с СПКЯ.

Выводы

1. Уровни АМГ, IL-6, TNF α , IL-17А, инсулина и НОМА-IR значимо повышаются у женщин с СПКЯ по мере нарастания выраженности нарушений менструального цикла.
2. Провоспалительные цитокины IL-6, TNF α и IL-17А могут рассматриваться и использоваться как потенциальные биомаркеры тяжести СПКЯ.
3. Комплексная оценка иммунного и метаболического статуса имеет диагностическую и прогностическую значимость в персонализированном подходе к СПКЯ.

Список литературы / References

1. Azziz R., Carmina E., Chen Z., Dunaif A., Laven J.S., Legro R.S., Lizneva D., Natterson-Horowitz B., Teede H.J., Yildiz B.O. Polycystic ovary syndrome. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 2016, Vol. 2, 16057. doi: 10.1038/nrdp.2016.57.
2. Chakraborty P., Goswami S.K., Rajani S., Sharma S., Kabir S.N., Chakravarty B., Jana K. Recurrent pregnancy loss in polycystic ovary syndrome: role of hyperhomocysteinemia and insulin resistance. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 5, e64446. doi: 10.1371/journal.pone.0064446.
3. Dewailly D., Barbotin A.L., Dumont A., Catteau-Jonard S., Robin G. Role of Anti-Müllerian Hormone in the Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome. *Front. Endocrinol.*, 2020, Vol. 11, 641. doi: 10.3389/fendo.2020.00641.
4. Di Pietro M., Pascuali N., Parborell F., Abramovich D. Ovarian angiogenesis in polycystic ovary syndrome. *Reproduction*, 2018, Vol. 155, no. 5, pp. R199-R209.
5. Franks S., Stark J., Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod. Update*, 2008, Vol. 14, no. 4, pp. 367-378.
6. González F. Inflammation in Polycystic Ovary Syndrome: underpinning of insulin resistance and ovarian dysfunction. *Steroids*, 2012, Vol. 77, no. 4, pp. 300-305.
7. Kuang H., Duan Y., Li D., Xu Y., Ai W., Li W., Wang Y., Liu S., Li M., Liu X., Shao M. The role of serum inflammatory cytokines and berberine in the insulin signaling pathway among women with polycystic ovary syndrome. *PLoS One*, 2020, Vol. 15, no. 8, e0235404. doi: 10.1371/journal.pone.0235404.

8. Legro R.S., Arslanian S.A., Ehrmann D.A., Hoeger K.M., Murad M.H., Pasquali R., Welt C.K. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2013, Vol. 98, no. 12, pp. 4565-4592.
9. Mazloomi S., Barartabar Z., Pilehvari S. The Association Between Increment of Interleukin-1 and Interleukin-6 in Women with Polycystic Ovary Syndrome and Body Mass Index. *J. Reprod. Infertil.*, 2023, Vol. 24, no. 1, pp. 26-34.
10. Pigny P., Jonard S., Robert Y., Dewailly D. Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006, Vol. 91, no. 3, pp. 941-945.

Авторы:

Азизова З.Ш. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории «Иммунология репродукции», Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Мусаходжаева Д.А. — д.б.н., профессор, заведующая лабораторией лаборатории «Иммунология репродукции», Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Рузимуродов Н.Ф. — д.м.н., ведущий научный сотрудник Института иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Олимова Н.И. — к.м.н., самостоятельный соискатель Бухарского государственного медицинского университета, г. Бухара, Республика Узбекистан

Authors:

Azizova Z.Sh., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Reproductive Immunology, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Musakhodzhayeva D.A., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Laboratory of Reproductive Immunology, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Ruzimurodov N.F., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Olimova N.I., PhD (Medicine), Independent Researcher, Bukhara State Medical University, Bukhara, Republic of Uzbekistan

Поступила 08.04.2025
Отправлена на доработку 15.04.2025
Принята к печати 21.05.2025

Received 08.04.2025
Revision received 15.04.2025
Accepted 21.05.2025

ОСОБЕННОСТИ ХЕМОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ЖЕНЩИН С АДЕНОМИОЗОМ

Мусаходжаева Д.А.¹, Рустамова Н.Б.¹, Азизова З.Ш.¹,
Маннопжонов П.Б.¹, Исмаилова Д.У.²

¹ Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

² Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии, г. Ургенч, Республика Узбекистан

Резюме. Аденомиоз – это хроническое воспалительное заболевание, которое характеризуется проникновением эндометриоидной ткани в миометрий и активацией иммунно-воспалительных реакций как на местном, так и на системном уровне. Важным аспектом патогенеза заболевания являются изменения в регуляции баланса цитокинов и хемокинов, нарушения ангиогенеза и процессы ремоделирования стенки матки. Все эти факторы приводят к прогрессированию заболевания и ухудшению состояния пациенток. Современные исследования все чаще акцентируют внимание на роли иммунной системы, в частности хемокинов, в развитии аденомиоза, а также на возможностях использования иммунологических маркеров для диагностики и мониторинга прогрессирования патологии. Цель проведенного исследования заключалась в анализе хемокинового профиля у женщин с аденомиозом степени I-II. Были изучены концентрации следующих хемокинов в плазме крови: IL-8, MCP-1, IP-10, MIP-1 β . В исследовании приняла участие 81 женщина репродуктивного возраста, проживающие в городе Ургенч Хорезмской области, из которых 56 пациенток имели диагностированный аденомиоз разной степени (степень I и II), а 25 здоровых женщин составили контрольную группу. Методом определения концентрации хемокинов был выбран иммуноферментный анализ (ИФА), а для обработки статистических данных использовался t-критерий Стьюдента. Результаты исследования показали значительные изменения хемокинового профиля у пациенток с аденомиозом. Уровни IL-8, MCP-1 и MIP-1 β значительно повышены у пациенток (в 3,7, 1,9 и 1,6 раза соответственно), что свидетельствует о развитии воспалительного процесса и активизации различных компонентов иммунного ответа. Повышение уровня IL-8 связано с ангиогенезом и нейтрофильной инфильтрацией тканей, MCP-1 – с привлечением моноцитов и макрофагов в очаг воспаления, а MIP-1 β – с активацией врожденного иммунитета. При этом уровень IP-10 продемонстрировал тенденцию к снижению (~12%), что может указывать на снижение антиангиогенной активности и нарушение Th1-ответа. Таким образом, результаты исследования подтвердили наличие выраженного дисбаланса хемокинов

Адрес для переписки:

Мусаходжаева Дилорам Абдуллаевна
Институт иммунологии и геномики человека
Академии наук Республики Узбекистан
100060, Республика Узбекистан, г. Ташкент,
ул. Яхъе Гулямова, 74.
Тел.: +998 93 5889965.
E-mail: nozam91@mail.ru

Address for correspondence:

Diloram A. Musakhodzhayeva
Institute of Immunology and Human Genomics,
Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
4 Yakhyo Gulyamov St
Tashkent
100060 Republic of Uzbekistan
Phone: +998 93 5889965.
E-mail: nozam91@mail.ru

Образец цитирования:

Д.А. Мусаходжаева, Н.Б. Рустамова, З.Ш. Азизова,
П.Б. Маннопжонов, Д.У. Исмаилова «Особенности
хемокинового профиля у женщин с аденомиозом»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 1061-1066.
doi: 10.46235/1028-7221-17226-COT

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

For citation:

D.A. Musakhodzhayeva, N.B. Rustamova, Z.Sh. Azizova,
P.B. Mannopzhonov, D.U. Ismailova "Characteristics
of the chemokine profile in women with adenomyosis", Russian
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii
Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 1061-1066.
doi: 10.46235/1028-7221-17226-COT

© Musakhodzhayeva D.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17226-COT

при аденомиозе и обозначили перспективные направления в диагностике и мониторинге данного заболевания. Изучение иммунных механизмов может быть полезным для разработки новых подходов к терапии, основанной на коррекции выявленных нарушений.

Ключевые слова: аденомиоз, женщины, хемокины, интерлейкин, сыворотка, иммунитет

CHARACTERISTICS OF THE CHEMOKINE PROFILE IN WOMEN WITH ADENOMYOSIS

Musakhodzhayeva D.A.^a, Rustamova N.B.^a, Azizova Z.Sh.^a,
Mannopzhonov P.B.^a, Ismailova D.U.^b

^a Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

^b Urgench branch of Tashkent Medical Academy, Urgench, Republic of Uzbekistan

Abstract. Adenomyosis is a chronic inflammatory disease characterized by the infiltration of endometrial tissue into the myometrium and the activation of immune-inflammatory responses at both local and systemic levels. A key aspect of the disease's pathogenesis involves alterations in the regulation of cytokine and chemokine balance, disturbances in angiogenesis, and processes of uterine wall remodeling. All these factors contribute to disease progression and worsening of patients' conditions. Recent studies increasingly emphasize the role of the immune system, particularly chemokines, in the development of adenomyosis, as well as the potential use of immunological markers for diagnosis and monitoring of disease progression. The aim of the present study was to analyze the chemokine profile in women with stage I-II adenomyosis. Concentrations of the following chemokines in blood plasma were studied: IL-8, MCP-1, IP-10, and MIP-1 β . The study included 81 women of reproductive age residing in the city of Urgench, Khorezm region, of whom 56 patients were diagnosed with adenomyosis (stage I or II), and 25 healthy women served as the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine chemokine concentrations, and Student's t-test was employed for statistical analysis. The results revealed significant changes in the chemokine profile in patients with adenomyosis. Levels of IL-8, MCP-1, and MIP-1 β were significantly elevated (by 3.7-, 1.9-, and 1.6-fold, respectively), indicating the development of an inflammatory process and activation of various components of the immune response. Elevated IL-8 levels were associated with angiogenesis and neutrophil infiltration of tissues, MCP-1 with the recruitment of monocytes and macrophages to the inflammatory site, and MIP-1 β with activation of innate immunity. Meanwhile, IP-10 levels showed a tendency to decrease (~12%), which may indicate a reduction in anti-angiogenic activity and disruption of the Th1 response. Thus, the study confirmed a pronounced imbalance of chemokines in adenomyosis and highlighted promising directions for the diagnosis and monitoring of this disease. Investigating immune mechanisms may be valuable for developing new therapeutic approaches based on correcting the identified abnormalities.

Keywords: adenomyosis, women, chemokines, interleukin, serum, immunity

Введение

Аденомиоз, или внутренняя форма генитального эндометриоза, является распространенным гинекологическим заболеванием, при котором элементы эндометрия проникают в толщу миометрия, вызывая воспалительные и пролиферативные изменения [2, 3]. Заболевание чаще всего диагностируется у женщин репродуктивного возраста, преимущественно в возрасте 25–35 лет.

Наиболее часто встречаются начальные и умеренные формы аденомиоза (степень I-II), сопровождающиеся меноррагиями, дисменореей, хронической тазовой болью и снижением фертильности [8].

Иммуновоспалительные механизмы играют ключевую роль в патогенезе аденомиоза [7]. В условиях нарушенного локального иммунного ответа активируются сигнальные молекулы, включая хемокины — низкомолекулярные ци-

токины, регулирующие миграцию и активацию иммунных клеток. Хемокины также участвуют в ремоделировании тканей и ангиогенезе, что способствует прогрессированию заболевания [3, 9].

К числу наиболее изученных хемокинов при гинекологической патологии относятся IL-8 – активатор нейтрофилов и ангиогенеза, MCP-1 – хемоаттрактант моноцитов, IP-10 – медиатор Th1-ответа с антиангиогенными свойствами и MIP-1 β – регулятор активности макрофагов и NK-клеток [4, 7].

Несмотря на наличие отдельных публикаций, роль хемокинов в патогенезе аденомиоза остается недостаточно изученной, особенно на ранних стадиях заболевания.

Целью настоящего исследования являлось определение уровней IL-8, MCP-1, IP-10 и MIP-1 β в плазме крови у женщин с аденомиозом степени I-II и их сравнительный анализ с контрольной группой.

Материалы и методы

Исследование включало 81 женщину репродуктивного возраста, проживающих в г. Ургенч Хорезмской области и обратившихся в гинекологическое отделение кафедры акушерства и гинекологии Ургенчского филиала Ташкентской медицинской академии. Основную группу составили 56 пациенток с установленным диагнозом «аденомиоз степени I-II». Диагноз подтверждался клинико-инструментально (трансвагинальное УЗИ, при необходимости – МРТ). Из исследования были исключены пациентки с другими формами эндометриоза, тяжелыми соматическими патологиями, а также с недавним приемом иммуномодулирующих препаратов. Контрольную группу составили 25 практически здоровых женщин без признаков воспалительных, гинекологических и аутоиммунных заболеваний. Средний возраст обследованных пациенток с аденомиозом составил 31,2 \pm 4,6 года.

Уровни хемокинов (IL-8, MCP-1, IP-10, MIP-1 β) изучали в сыворотке крови методом ИФА с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Исследования по изучению уровня хемокинов выполнены на базе лаборатории Иммунологии репродукции Института иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан. Статистическая обработка результатов исследований проводилась методами вариационной статистики. Результаты представлены как выборочное среднее (M) и стандартная ошибка (m). Достоверность различий средних величин (p) сравниваемых показателей оценивали по критерию Стьюдента (t).

Результаты и обсуждение

Результаты наших исследований показали, что у женщин с аденомиозом наблюдается выраженное изменение хемокинового профиля (IL-8, MCP-1, IP-10, MIP-1 β) по сравнению с контрольной группой.

Одним из основных хемокинов IL-8 (CXCL8) – это из подсемейства СХС, продуцируемый преимущественно мононуклеарными фагоцитами, эндотелиальными клетками и фибробластами в ответ на провоспалительные стимулы. Одной из основных функций IL-8 является хемотаксис и активация нейтрофилов, а также участие в неоангиогенезе и ремоделировании тканей [7]. Согласно результатам, приведенным в таблице 1, уровень IL-8 (CXCL8) у пациенток с аденомиозом составил 53,83 \pm 2,45 пг/мл, что в 3,7 раза превышает показатель контрольной группы (14,42 \pm 1,71 пг/мл, p < 0,001). Этот хемокин, как известно, является активатором нейтрофильной инфильтрации и ангиогенеза, и его повышение свидетельствует о наличии выраженного воспалительного и сосудистого компонента в патогенезе заболевания.

Анализ полученных результатов содержания IL-8 у обследованных женщин показал, что его повышенная экспрессия может быть ассоциирована с активацией воспалительных каскадов и индукцией ангиогенеза, что типично для хронического воспалительного процесса в миометрии. Полученные результаты свидетельствуют о том, что IL-8 может играть ключевую роль в формировании патологической микросреды при аденомиозе.

Как известно, одним из основных биологических эффектов хемокина MCP-1 (CCL2), относящегося к семейству СС-хемокинов, является направленная миграция моноцитов, а также активация макрофагов в зоне воспаления [1]. Кроме того, он вовлечен в регуляцию экспрессии адгезионных молекул и продукции провоспалительных цитокинов [4]. В нашем исследовании наблюдалось достоверное повышение уровня MCP-1 в основной группе (327,81 \pm 10,23 пг/мл) по сравнению с данными контрольной группы (171,14 \pm 7,02 пг/мл, p < 0,001). Анализ полученных результатов содержания MCP-1 показал его увеличение почти в 1,9 раза (табл. 1). Полученные нами данные свидетельствуют об активации моноцитарно-макрофагального звена врожденного иммунитета, которая играет значительную роль в патогенезе аденомиоза, поддерживая хроническое воспаление и клеточную инфильтрацию в миометрии [8, 10].

IP-10 (CXCL10) – это интерферон-индуцируемый хемокин, принадлежащий к семейству СХС, играющий ключевую роль в реализации

ТАБЛИЦА 1. УРОВНИ ХЕМОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН, М±m

TABLE 1. LEVELS OF CHEMOKINES IN THE BLOOD PLASMA OF THE EXAMINED WOMEN, M±m

Показатель, пг/мл Indicator, pg/mL	Основная группа Main group (n = 56)	Контрольная группа Control group (n = 25)	p
IL-8	53,83±2,45***	14,42±1,71	< 0,001
MCP-1	327,81±10,23***	171,14±7,02	< 0,001
IP-10	97,42±5,95*	110,61±4,18	> 0,05
MIP-1β	147,71±6,57***	90,25±4,51	< 0,001

Примечание. * – достоверно по сравнению с данными контрольной группы (* – p < 0,05, ** – p < 0,01, *** – p < 0,001).

Note. *, significant compared to the control group (*, p < 0.05; **, p < 0.01; ***, p < 0.001).

Th1-опосредованного иммунного ответа и обладающий выраженным антиангиогенным действием. Он синтезируется различными клетками, включая эпителиоциты, фибробласты, макрофаги и эндотелиальные клетки, в ответ на воспалительные стимулы [5]. Функцией IP-10 является хемотаксис Th1-лимфоцитов, NK-клеток и дендритных клеток в очаг воспаления. Помимо хемотаксических свойств, CXCL10 также обладает выраженной антиангиогенной активностью, ингибируя пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток [7]. В наших исследованиях наблюдалась тенденция к снижению сывороточного уровня IP-10 (CXCL10) у женщин основной группы (97,42±5,95 пг/мл) по сравнению с данными контрольной группы (110,61±4,18 пг/мл), (p > 0,05). Поскольку данный хемокин обладает антиангиогенными свойствами и регулирует Th1-ответ, его возможное снижение может иметь значение в патогенезе, несмотря на отсутствие статистической значимости (табл. 1). Снижение уровня IP-10 может быть связано с ослаблением антиангиогенного контроля и дисбалансом Th1/Th2-иммунного ответа, что, в свою очередь, может способствовать прогрессированию патологических процессов в миометрии при аденомиозе [3].

MIP-1β (CCL4) – макрофагальный воспалительный протеин-1β, продуцируемый преимущественно макрофагами и Т-клетками, является хемоаттрактантом клеток врожденного (моноциты, дендритные клетки, NK-клетки) и адаптивного (активированные Т-клетки) иммунитета, экспрессирующих рецептор CCR5, которые рециркулируют в пораженной ткани при различных заболеваниях [6]. Одной из основных функций хемокина MIP-1β (CCL4) является активация макрофагов и NK-клеток, а также стимуляция

синтеза провоспалительных цитокинов, что может способствовать хронизации воспалительного процесса в миометрии. Эти данные указывают на вовлеченность MIP-1β в иммунопатогенез аденомиоза [10]. Было установлено, что в сыворотке крови пациенток с аденомиозом уровень хемокина MIP-1β (CCL4) был в 1,64 раза выше значений контрольной группы и составил в среднем 147,71±6,57 пг/мл, против 90,25±4,51 пг/мл в контроле (p < 0,001). Полученные результаты свидетельствуют о значительном усилении воспалительного компонента и вовлечения эффекторных клеток врожденного иммунитета в воспалительный процесс (табл. 1).

Таким образом, при аденомиозе формируется характерный хемокиновый профиль с преобладанием провоспалительных и ангиогенных компонентов и снижением антиангиогенного контроля, что отражает хронизацию воспаления и участие иммунной системы в патогенезе такого заболевания, как аденомиоз.

Выводы

1. В плазме крови женщин с аденомиозом выявлено значительное повышение уровня IL-8, что указывает на активацию нейтрофильного звена воспалительного ответа и процесса ангиогенеза.

2. Уровень MCP-1 у женщин с аденомиозом выше в 1,9 раза значений контрольной группы (p < 0,001), что подтверждает вовлеченность моноцитарно-макрофагального звена иммунной системы в патогенез аденомиоза.

3. Наблюдалась тенденция к повышению уровня IP-10 у пациенток с аденомиозом, (p > 0,05), что свидетельствует о вариабельности регуляции этого хемокина и возможной фазозависимости воспаления.

4. Уровень MIP-1 β в основной группе достоверно выше значений контрольной группы, что указывает на активацию воспалительных процессов с участием макрофагов и НК-клеток.

5. В совокупности полученные результаты демонстрируют дисбаланс хемокинового профи-

ля при аденомиозе с преобладанием провоспалительных компонентов, что подчеркивает роль врожденного иммунитета в патогенезе заболевания и может служить основой для дальнейших поисков биомаркеров и терапевтических мишеней.

Список литературы / References

1. Deshmane S.L., Kremlev S., Amini S., Sawaya B.E. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2009, Vol. 29, no. 6, pp. 313-326.
2. García-Solares J., Donnez J., Donnez O., Dolmans M.M. Pathogenesis of uterine adenomyosis: invagination or metaplasia? *Fertil. Steril.*, 2018, Vol. 109, no. 3, pp. 371-379.
3. Lin Y., Wang L., Ye M., Yu K.N., Sun X., Xue M., Deng X. Activation of the cGAS-STING signaling pathway in adenomyosis patients. *Immun. Inflamm. Dis.*, 2021, Vol. 9, no. 3, pp. 932-942.
4. Liu D., Yin X., Guan X., Li K. Bioinformatic analysis and machine learning to identify the diagnostic biomarkers and immune infiltration in adenomyosis. *Front. Genet.*, 2023, Vol. 13, 1082709. doi: 10.3389/fgene.2022.1082709.
5. Luster A.D., Ravetch J.V. Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10). *J. Exp. Med.*, 1987, Vol. 166, no. 4, pp. 1084-1097.
6. Maurer M., von Stebut E. Macrophage inflammatory protein-1. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, Vol. 36, no. 10, pp. 1882-1886.
7. Rakhila H., Girard K., Leboeuf M., Lemyre M., Akoum A. Macrophage migration inhibitory factor is involved in ectopic endometrial tissue growth and peritoneal-endometrial tissue interaction in vivo: a plausible link to endometriosis development. *PLoS One*, 2014, Vol. 9, 10, e110434. doi: 10.1371/journal.pone.0110434.
8. Selntigia A., Molinaro P., Tartaglia S., Pellicer A., Galliano D., Cozzolino M. Adenomyosis: An update concerning diagnosis, treatment, and fertility. *J. Clin. Med.*, 2024, Vol. 13, no. 17, 5224. doi: 10.3390/jcm13175224.
9. Younes G., Tulandi T. Effects of adenomyosis on in vitro fertilization treatment outcomes: a meta-analysis. *Fertil. Steril.*, 2017, Vol. 108, no. 3, 483-490.e3.
10. Zhang X., Lv H., Weng Q., Jiang P., Dai C., Zhao G., Hu Y. "Thin endometrium" at single-cell resolution. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2025, Vol. 232, no. 4S, pp. S135-S148.

Авторы:

Мусаходжаева Д.А. — д.б.н., профессор, заведующая лабораторией лаборатории «Иммунология репродукции», Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Рустамова Н.Б. — базовый докторант Института иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Азизова З.Ш. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории «Иммунология репродукции», Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Authors:

Musakhodzhayeva D.A., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Laboratory of Reproductive Immunology, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Rustamova N.B., Basic Doctoral Student, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Azizova Z.Sh., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Reproductive Immunology, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Маннопжонов П.Б. — младший научный сотрудник лаборатории «Иммунология репродукции», Институт иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Mannopzhonov P.B., Junior Researcher, Laboratory of Reproductive Immunology, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Исмаилова Д.У. — свободный соискатель Института иммунологии и геномики человека Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Ismailova D.U., Independent Researcher, Institute of Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Поступила 09.04.2025
Отправлена на доработку 09.04.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 09.04.2025
Revision received 09.04.2025
Accepted 22.06.2025

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА ЭКСПРЕССИЮ HLA-E ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ

Борисевич В.И.¹, Боева О.С.², Аббасова В.С.¹, Демина Д.В.², Козлов В.А.²

¹ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Резюме. В мировой популяции распространенность только бронхиальной астмы (БА) достигает 19%, а число больных имеет тенденцию к росту. Распространенность же атопического дерматита достигает 25-30% среди детей и до 7-10% среди взрослого населения. Ремиссии у больных не удается достичь даже при применении современной генно-инженерной биологической терапии (ГИБТ). В связи с этим актуальным остается поиск и изучение звеньев иммунопатогенеза, а также разработка новых терапевтических стратегий. Типичный представитель «неклассических» HLA, молекула HLA-E, является перспективной для изучения. Такие молекулы экспрессируются на клетках многих тканей, в том числе на клетках дыхательной системы (бронхиальный эпителий) и кератиноцитах кожи. Так называемые пептиды VL9 стабилизируют экспрессию HLA-E, которая представляет их своей основной группе рецепторов — NKG2 на NK-клетках. В адаптивном иммунитете также отмечается значимая роль HLA-E в качестве лиганда для TCR CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов. Целью данной работы было оценить уровень клеток, несущих молекулу HLA-E на CD4⁺, CD8⁺, CD14⁺ клетках у пациентов с БА и атопическим дерматитом (АД) как до инициации терапии генно-инженерными биологическими препаратами, так и на фоне лечения после инициации генно-инженерной биологической терапии через 12 месяцев. Материалом для исследования были МНК ПК доноров (n = 16), пациентов с БА (n = 4) и АД (n = 5). В качестве таргетной терапии для пациентов с АД был назначен дупилумаб в иницирующей дозировке 300 мг, для пациентов с БА — бенрализумаб в дозировке 30 мг. Для пациентов с АД и БА в предшествующий терапии период отмечалась более низкая доля как CD4⁺Т-клеток, так и CD8⁺Т-клеток, экспрессирующих HLA-E. При оценке CD14⁺ (моноцитов), экспрессирующих молекулы HLA-E, достоверных различий выявлено не было. На фоне лечения наблюдался сопоставимый уровень экспрессии HLA-E на всех типах клеток в группе пациентов в сравнении с условно здоровыми донорами. Такие результаты могут свидетельствовать как об участии данной молекулы в патогенезе указанных заболеваний, так и о влиянии ГИБТ на уровень HLA-E-позитивных клеток.

Ключевые слова: HLA-E, аллергические заболевания, генно-инженерная биологическая терапия, бронхиальная астма, атопический дерматит, бенрализумаб, дупилумаб

Адрес для переписки:

Борисевич Вадим Игоревич
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ
630091, Россия, г. Новосибирск, Красный пр., 52.
Тел.: 8 (383) 227-01-35.
E-mail: borvad2001@mail.ru

Address for correspondence:

Vadim I. Borisevich
Novosibirsk State Medical University
52 Krasny Ave
Novosibirsk
630091 Russian Federation
Phone: +7 (383) 227-01-35.
E-mail: borvad2001@mail.ru

Образец цитирования:

В.И. Борисевич, О.С. Боева, В.С. Аббасова,
Д.В. Демина, В.А. Козлов «Оценка влияния генно-
инженерной биологической терапии на экспрессию
HLA-E при бронхиальной астме и атопическом
дерматите» // Российский иммунологический журнал,
2025. Т. 28, № 4. С. 1067-1072.
doi: 10.46235/1028-7221-17263-EOT

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

For citation:

V.I. Borisevich, O.S. Boeva, V.S. Abbasova, D.V. Demina,
V.A. Kozlov "Evaluation of the impact of genetically engineered
biological therapy on HLA-E expression in bronchial asthma
and atopic dermatitis", Russian Journal of Immunology/
Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4,
pp. 1067-1072.
doi: 10.46235/1028-7221-17263-EOT

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17263-EOT

EVALUATION OF THE IMPACT OF GENETICALLY ENGINEERED BIOLOGICAL THERAPY ON HLA-E EXPRESSION IN BRONCHIAL ASTHMA AND ATOPIC DERMATITIS

Borisevich V.I.^a, Boeva O.S.^b, Abbasova V.S.^a, Demina D.V.^b, Kozlov V.A.^b

^a Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

^b Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Globally, the prevalence of bronchial asthma (BA) alone reaches 19%, with the number of affected individuals showing an upward trend. Atopic dermatitis (AD) affects 25-30% of children and 7-10% of adults. Remission remains elusive even with advanced genetically engineered biological therapies. Consequently, research into immunopathogenic pathways and the development of novel therapeutic strategies remain critical. A typical representative of “non-classical” HLAs, the HLA-E molecule, is a perspective for study. These molecules are also expressed across various tissues, notably in the respiratory system (bronchial epithelium) and skin keratinocytes. As a cell surface protein, HLA-E participates in diverse immune response pathways. VL9 peptides stabilize HLA-E expression, enabling presentation to its primary receptors, NKG2, on natural killer (NK) cells. In adaptive immunity, HLA-E serves as a ligand for CD8⁺ cytotoxic T cell receptors (TCRs). This study aimed to evaluate HLA-E-bearing cells (CD4⁺, CD8⁺, CD14⁺) in patients with BA and AD, both before and 12 months after initiating genetically engineered biological therapy (GEBT). Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were analyzed from healthy donors (n = 16), BA patients (n = 4), and AD patients (n = 5). AD patients received dupilumab (300 mg loading dose), while BA patients were treated with benralizumab (30 mg). Prior to therapy, both AD and BA patients exhibited lower proportions of HLA-E-positive CD4⁺ and CD8⁺T cells compared to healthy donors. No significant differences were observed in HLA-E expression on CD14⁺ monocytes. During treatment, HLA-E levels across all cell types in patients reached levels comparable to those in healthy donors. These findings suggest HLA-E’s involvement in disease pathogenesis and the modulating effects of GEBT on HLA-E-positive cell populations.

Keywords: HLA-E, allergic diseases, genetically engineered biological therapy, bronchial asthma, atopic dermatitis, benralizumab, dupilumab

Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета для выполнения государственного задания на научно-исследовательскую работу «Разработка новых критериев эффективности таргетной иммунотерапии тяжелых форм аллергических заболеваний на основе оценки биомаркеров клеток, участвующих в иммунном ответе на аллерген» (код тематики 0415-2023-0005).

Введение

Эпидемиологические данные указывают на высокую значимость заболеваний аллергической природы на современном этапе медицинской помощи. В мировой популяции распространенность только бронхиальной астмы (БА) достигает 19%, а число больных имеет тенденцию к росту [1]. Распространенность же атопического дерматита (АД) достигает 25-30% среди детей и до 7-10% среди взрослого населения [2], что обуславливает повышенный интерес к данной патологии. Развитие заболевания связано с риском прогрессирования атопии и поэтапной трансформации клинических проявлений: развитию аллергического риноконъюнктивита и БА [13],

что увеличивает процент инвалидизации в популяции. Кроме очевидного неблагоприятного влияния на качество жизни пациентов, такие заболевания связаны со значительными экономическими издержками и высокими требованиями к мерам социальной поддержки больных [1].

На сегодняшний день большинство специализированных клиник Российской Федерации обладает широким арсеналом доступных препаратов для применения в качестве как базисной, так и таргетной терапии нозологий аллергологического профиля. Конечно, наиболее уязвимой и трудной в лечении является группа пациентов с тяжелыми иммунологическими нарушениями и неконтролируемым течением указанных заболеваний. Именно поэтому зачастую требуется инициация генно-инженерной биологической терапии (ГИБТ). Однако, несмотря на прямое ингибирование таких значимых мишеней, как IgE, IL-4, IL-5, IL-13, добиться клинической ремиссии удастся не всегда. Безусловно, ни один из известных механизмов патогенеза и потенциальное влияние на него не могут быть исчерпывающими. Ведь, прежде всего, аллергические заболевания представляют собой группу мультифакториальных заболеваний. В связи с этим до

сих пор актуальным остается поиск и изучение звеньев иммунопатогенеза, а также разработка новых терапевтических стратегий.

В качестве одной из перспективных групп молекул сегодня рассматриваются «неклассические» молекулы главного комплекса гистосовместимости. Это семейство, несмотря на структурную гомологию с «классическими» МНС, имеют более неоднозначную роль в иммунной системе. Гены HLA Ib расположены в главном комплексе гистосовместимости коротком плече 6-й хромосомы [7]. Характерным для данного семейства является ограниченный полиморфизм и низкая конститутивная экспрессия на поверхности клеток. Типичный представитель группы ген и молекула HLA-E. Так, для HLA-E известно 2 преобладающих в популяции аллели HLA-E 01:01 и HLA-E 01:03. Различия между ними обусловлены одной из аминокислот в последовательности (аргинин – глицин). Их распространенность достигает 99% [7, 12]. Остальные варианты генов на сегодняшний день не рассматриваются в научных исследованиях ввиду их ограниченной представленности среди населения.

Физиологическая экспрессия, как было сказано выше, достаточно низкая. В подавляющем большинстве случаев HLA-E-ограниченными клетками являются иммунокомпетентные клетки (В-, Т-лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки), а также эндотелиальные клетки. Однако такие молекулы экспрессируются на клетках многих тканей, в том числе с преобладанием на клетках дыхательной системы (бронхиальный эпителий) и кератиноцитах кожи [7].

Экспрессия молекул HLA-E не является статичной. Индукцию к трансляции соответствующего белка увеличивают факторы провоспалительного окружения. При воздействии таких цитокинов, как TNF, IL-1 β и IFN γ , эндотелиальные клетки экспрессируют на своей поверхности более высокий уровень HLA-E [3]. Плотность экспрессии выше также на клетках, коэкспрессирующих HLA-E и HLA-G. Полученные из HLA-G пептиды, более того, могут определять роль молекулы как лиганда [4, 9].

Собственно, как белок на поверхности клетки, HLA-E может быть задействована в различных сценариях иммунного ответа. В условиях физиологической регуляции HLA-E представляют пептиды из лидерных последовательностей «классических молекул» МНС. Так называемые пептиды VL9 стабилизируют экспрессию HLA-E, которая представляет их своей основной группе рецепторов – NKG2 на NK-клетках [6, 7, 8]. Большой аффинитет молекула имеет к ингибирующему NKG2A-рецептору, чем поддерживает толерантность к клеткам с нормальным уровнем HLA Ia. Интересно, что подобный механизм в первую очередь был показан на опухолевых клетках, которые в результате адаптации приобрели

способность избегать иммунологического NK-надзора. В другом случае, таким рецептором может стать активирующий NKG2C-рецептор. При раке шейки матки была установлена закономерность, когда длительная сверхэкспрессия HLA-E опухолевыми клетками приводила к смещению баланса в сторону активирующих влияний (презентация пептидов NKG2C-рецептору) на NK-клетки [6]. В дополнение к этому существуют сведения, подтверждающие возможность связывания HLA-E пептидов теплового шока (Hsp60). Однако при этом снижается аффинность связывания с NKG2A, NK-клетки получают преимущественно стимулирующие сигналы от таких рецепторов, как NKG2D, NKp46, NKp44 или NKp30 [10]. Активация через NKG2C-рецептор может быть также достигнута при презентации лидерных пептидов из HLA-G [4].

Ингибирующие NKG2A-рецепторы могут встречаться и на Т-клетках. В недавнем исследовании, проведенном O. Fesneau и соавт., было показано, что стимулятором для экспрессии NKG2A на CD8⁺Т-лимфоцитах служит IL-12 и, в меньшей степени, TGF- β [5]. В адаптивном иммунитете также отмечается значимая роль HLA-E в качестве лиганда для TCR CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитах. Подобного рода взаимодействия осуществляется при презентации пептидов, полученных из белков патогенных микроорганизмов. Активирующие сигналы Т-лимфоциты получают от HLA-E, нагруженных пептидами бактерий (*M. tuberculosis*, *Salmonella enterica*), некоторых вирусов (CMV, вирус гриппа, HCV). Интерес представляет и тот факт, что такие CD8⁺Т-лимфоциты способны изменять поляризацию к продукции Th2-специфичных цитокинов и активировать В-клеточное звено [8, 14].

Экспрессия «неклассических» молекул HLA при аллергических заболеваниях рассматривалась и в более ранних исследованиях, речь в которых касалась преимущественно молекул HLA-G [11]. На данный момент анализ литературных данных не позволяет прийти к однозначному пониманию в вопросе влияния на моделирование свойств клеток-участников подобного ответа при БА и АД.

Целью данной работы было оценить уровень клеток, несущих молекулу HLA-E, на CD4⁺, CD8⁺, CD14⁺ клетках у пациентов с БА и АД как до инициации терапии генно-инженерными биологическими препаратами, так и на фоне лечения после инициации генно-инженерной биологической терапии через 12 месяцев.

Материалы и методы

В качестве материала для исследования использовались мононуклеарные клетки периферической крови (МНК ПК) пациентов с аллергическими заболеваниями, находившихся на

лечении в клинике иммунопатологии НИИФКИ, и соматически здоровых доноров, после подписания указанными лицами информированного согласия.

МНК доноров ($n = 16$), пациентов с БА ($n = 4$) и АД ($n = 5$) выделяли из периферической крови методом центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина ($1,077$ г/мл). Затем клетки окрашивали моноклональными антителами, конъюгированными с флуорохромами: анти-CD3-APC, анти-CD4-APC-Cy7, анти-CD8-PE-Cy7, анти-CD-14-FITC и анти-HLA-E-PerCP/Cy5. Фенотип клеток анализировался на проточном цитофлуориметре LongCyte (Challenbio, Китай). Анализ проводился с помощью GraphPad Prism 9.3.1, с использованием критерия Манна–Уитни, значение $p (< 0,05)$ считалось минимальным критерием для статистической значимости.

Исследуемая группа составила 9 пациента с БА и АД, распределение по половому признаку было практически равным, с небольшим преобладанием лиц женского пола. Из них 4 пациента с БА (средний возраст $46 \pm 4,55$ года) и 5 пациентов с АД (средний возраст $38 \pm 5,1$ года). В каче-

стве группы сравнения были обследованы условно здоровые доноры в количестве 16 человек в возрасте $33,56 \pm 3,11$ года.

Для пациентов в соответствии с тяжестью заболевания и рефракторностью к предыдущим ступеням лечения, была инициирована ГИБТ. В качестве таргетной терапии для пациентов с АД был назначен дупилумаб (моноклональные антитела к IL-4R α субъединице, блокирует передачу сигналов от IL-4 и IL-13) в инициирующей дозировке 300 мг, для пациентов с БА – бенрализумаб (моноклональные антитела к IL-5R α субъединице, снижает эозинофильное воспаление) в дозировке 30 мг.

Результаты и обсуждение

Для пациентов с АД в предшествующий терапии период отмечалась более низкая доля как CD4⁺T-клеток, так и CD8⁺T-клеток, экспрессирующих HLA-E (рис. 1). Схожие результаты были получены и для пациентов с БА (рис. 1). Так, до инициации терапии также мы увидели уменьшение экспрессии молекул HLA-E на клетках с фенотипом CD4⁺ и CD8⁺. При оценке CD14⁺ (моноцитов), экспрессирующих молекулы HLA-E, достоверных различий выявлено не было (рис. 2).

Полученные результаты могут свидетельствовать о вовлеченности HLA-E в иммунопатогенез исследуемых заболеваний. Вероятно, более низкая доля лимфоцитов, экспрессирующих HLA-E, может быть связана с недостаточным ингибированием скомпрометированного T-клеточного звена, когда измененная поляризация T-лимфоцитов в сторону Th2-ответа обуславливает основные клинические проявления, такие как бронхоспазм, подслизистый отек и снижение мукоцилиарного клиренса, как в случае с БА [1, 15].

Подобная картина может быть закономерной и для пациентов с АД. Однако известно, что при тяжелом течении заболевания ответ поляризован преимущественно по Th1-типу [2].

Интересно, что такие результаты, однако, не соответствуют предшествующим данным, опубликованными S.R. White и соавт. При аллергическом фенотипе астмы более благоприятное течение заболевания коррелировало с высокой концентрацией sHLA-G [15]. Ранее было показано, что доступность для HLA-E пептидов из HLA-G повышает аффинность связывания с NKG2C. В результате клетки, экспрессирующие NKG2C, получают активирующие сигналы [9]. При более низкой доступности таких пептидов в условиях тяжелого течения в таком случае, мы могли бы ожидать преимущественного взаимодействия с NKG2A, что приводило бы снижению воспалительного ответа, однако для данной группы пациентов такого не происходило. В последующем дополнительная оценка репертуара рецепторов, в частности основных рецепторов

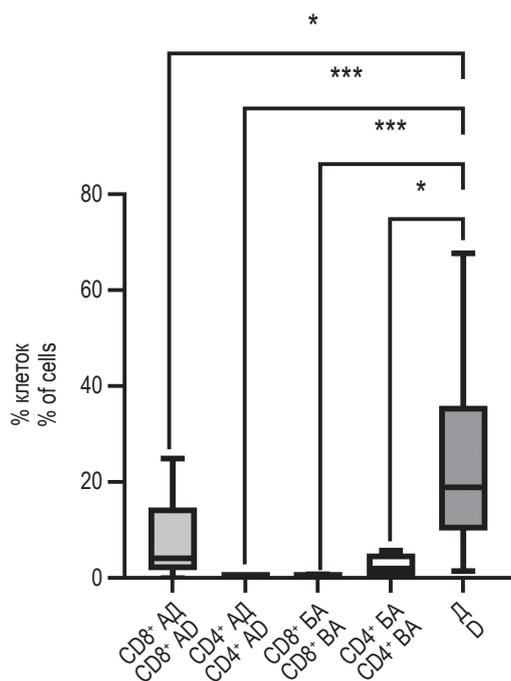


Рисунок 1. Доля HLA-E-позитивных CD4⁺ и CD8⁺T-клеток до инициации ГИБТ у условно здоровых доноров и пациентов с atopическим дерматитом и бронхиальной астмой

Примечание. * – достоверные различия по сравнению с донорами.

Figure 1. Proportion of HLA-E-positive CD4⁺ and CD8⁺T cells in healthy donors and patients with atopic dermatitis and bronchial asthma before initiation of GEBT

Note. *, significant differences compared with donors.

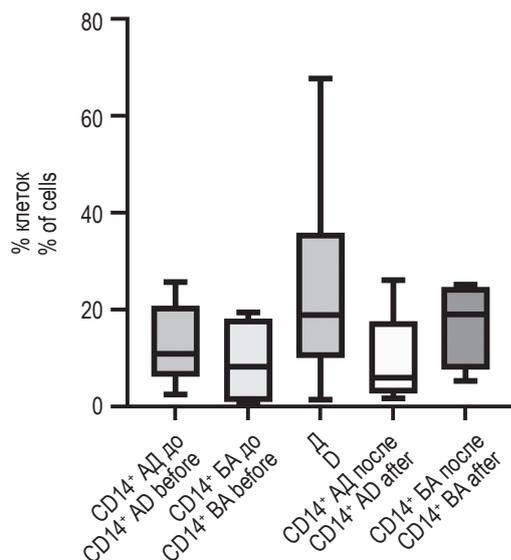


Рисунок 2. Доля HLA-E-положительных CD14⁺ клеток до и после инициации ГИБТ у условно здоровых доноров, пациентов с атопическим дерматитом и бронхиальной астмой

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 2. Proportion of HLA-E-positive CD14⁺ cells in healthy donors and patients with atopic dermatitis and bronchial asthma before/after initiation of GEBT

Note. As for Figure 1.

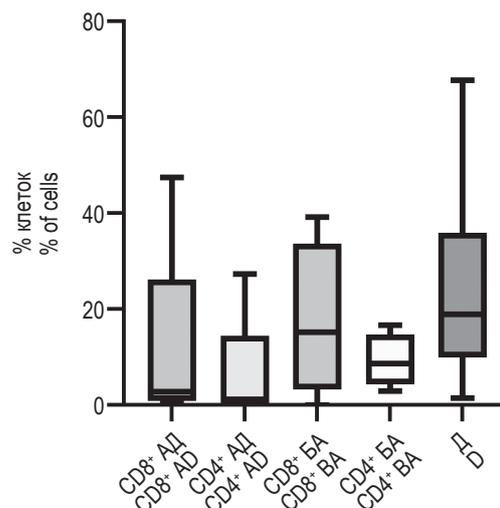


Рисунок 3. Доля HLA-E-положительных CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток после инициации ГИБТ у условно здоровых доноров и пациентов с атопическим дерматитом и бронхиальной астмой

Примечание. См. примечание к рисунку 1.

Figure 3. Proportion of HLA-E-positive CD4⁺ and CD8⁺T cells in healthy donors and patients with atopic dermatitis and bronchial asthma after initiation of GEBT

Note. As for Figure 1.

для HLA-E из семейства NKG2 (NKG2A/C), экспрессирующийся на популяциях Т-лимфоцитов, может стать ключом к пониманию возможной роли данной молекулы в данном аспекте патогенеза.

Вторым этапом стало сравнение групп пациентов с АД и БА через 12 месяцев после инициации ГИБТ и условно здоровых доноров. На фоне лечения наблюдался сопоставимый уровень экспрессии HLA-E на всех типах клеток в группе пациентов в сравнении с условно здоровыми донорами (рис. 2, 3). Данные, полученные нами, представляются исключительными, так как до этого не производилась оценка влияния ГИБТ на уровень клеток, экспрессирующих HLA-E. Воз-

можно, такой супрессивный механизм реализуется на фоне снижения общего провоспалительного ответа.

Заключение

Проведенное исследование подтверждает влияние предложенной терапии на уровень HLA-E-положительных клеток, которые могут вносить вклад в клиническое улучшение течения заболеваний. Кроме того, подобная корреляция параметров экспрессии HLA-E может быть актуальна в других аспектах проводимой терапии, например, в качестве одного из прогностических критериев для отбора на ГИБТ или потенциального маркера эффективности лечения.

Список литературы / References

1. Свист П.Г., Торчинский Н.В., Брико Н.И., Авдеев С.Н. Распространенность бронхиальной астмы и ХОБЛ в коморбидности с COVID-19 // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2024. Т. 23, № 1. С. 66-76. [Svist P.G., Torchinsky N.V., Briko N.I., Avdeev S.N. Prevalence of bronchial asthma and COPD in comorbidity with COVID-19. *Epidemiologiya i vaktzinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2024, Vol. 23, no. 1, pp. 66-76. (In Russ.)]
2. Потеекаев Н.Н., Терещенко Г.П., Ханферьян Р.А., Савастенко А.Л. Иммуные механизмы атопического дерматита и новые подходы к таргетной биологической терапии // Медицинский совет, 2022. Т. 16, № 3, С. 130-136. [Potekaev N.N., Tereshchenko G.P., Khanferyan R.A., Savastenko A.L. Immune mechanisms of atopic dermatitis and new approaches to targeted biological therapy. *Meditinskiy sovet = Medical Council*, 2022, Vol. 16, no. 3, pp. 130-136. (In Russ.)]

3. Coupel S., Moreau A., Hamidou M., Horejsi V., Soullou J.P., Charreau B. Expression and release of soluble HLA-E is an immunoregulatory feature of endothelial cell activation. *Blood*, 2007, Vol. 109, no. 7, pp. 2806-2814.
4. Cross-Najafi A.A., Farag K., Isidan A., Li W., Zhang W., Lin Z., Walsh J.R., Lopez K., Park Y., Higgins N.G., Cooper D.K.C., Ekser B., Li P. Co-expression of HLA-E and HLA-G on genetically modified porcine endothelial cells attenuates human NK cell-mediated degranulation. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1217809. doi: 10.3389/fimmu.2023.1217809.
5. Fesneau O., Samson K.A., Rosales W., Jones B., Moudgil T., Fox B.A., Rajamanickam V., Duhon T. IL-12 drives the expression of the inhibitory receptor NKG2A on human tumor-reactive CD8 T cells. *Nat. Commun.*, 2024, Vol. 15, no. 1, 9988. doi: 10.1038/s41467-024-54420-w.
6. Franciosi J.R., Gelmini G.F., Roxo V.S., de Carvalho N.S., Bicalho M.D.G. Is there a role played by HLA-E, if any, in HPV immune evasion? *Scand. J. Immunol.*, 2020, Vol. 91, no. 3, e12850. doi: 10.1111/sji.12850.
7. Gillespie G.M., Quastel M.N., McMichael A.J. HLA-E: Immune receptor functional mechanisms revealed by structural studies. *Immunol. Rev.*, 2025, Vol. 329, no. 1, e13434. doi: 10.1111/imr.13434.
8. Joosten S.A., Sullivan L.C., Ottenhoff T.H. Characteristics of HLA-E restricted T-cell responses and their role in infectious diseases. *J. Immunol. Res.*, 2016, Vol. 2016, 2695396. doi: 10.1155/2016/2695396.
9. Kanevskiy L., Erokhina S., Kobzyeva P., Streltsova M., Sapozhnikov A., Kovalenko E. Dimorphism of HLA-E and its disease association. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 21, 5496. doi: 10.3390/ijms20215496.
10. Kraemer T., Celik A.A., Huyton T., Kunze-Schumacher H., Blasczyk R., Bade-Döding C. HLA-E: Presentation of a broader peptide repertoire impacts the cellular immune response-implications on HSCT outcome. *Stem Cells Int.*, 2015, Vol. 2015, 346714. doi: 10.1155/2015/346714.
11. Negrini S., Contini P., Murdaca G., Puppo F. HLA-G in Allergy: Does it play an immunoregulatory role? *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 12, 789684. doi: 10.3389/fimmu.2021.789684.
12. Sauter J., Putke K., Schefzyk D., Pruschke J., Solloch U.V., Bernas S.N., Massalski C., Daniel K., Klussmeier A., Hofmann J.A., Lange V., Schmidt A.H. HLA-E typing of more than 2.5 million potential hematopoietic stem cell donors: Methods and population-specific allele frequencies. *Hum. Immunol.*, 2021, Vol. 82, no. 7, pp. 541-547.
13. Simpson E.L. Comorbidity in atopic dermatitis. *Curr. Dermatol. Rep.*, 2012, Vol. 1, no. 1, pp. 29-38.
14. Toni Ho G.-G., Heinen F., Stieglitz F., Blasczyk R., Bade-Döding C. Dynamic interaction between immune escape mechanism and HLA-Ib regulation. In: Rezaei N. (ed.). Immunogenetics. IntechOpen, 2019. Available at: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.80731>.
15. White S.R., Nicodemus-Johnson J., Laxman B., Denner D.R., Naureckas E.T., Hogarth D.K., Stern R., Minc A., Solway J., Sperling A., Ober C. Elevated levels of soluble human leukocyte antigen-G in the airways are a marker for a low-inflammatory endotype of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2017, Vol. 140, no. 3, pp. 857-860.

Авторы:

Борисевич В.И. – студент ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Боева О.С. – ординатор, аспирант, лаборант-исследователь лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Аббасова В.С. – студент ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Демина Д.В. – к.м.н., врач-аллерголог, заведующая отделением аллергологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Козлов В.А. – д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической иммунопатологии, научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Borisevich V.I., Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Boeva O.S., Resident, Postgraduate Student, Laboratory Research Assistant, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abbasova V.S., Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Demina D.V., PhD (Medicine), Allergologist, Head, Department of Allergology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Kozlov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Clinical Immunopathology, scientific director, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 30.04.2025

Отправлена на доработку 08.07.2025

Принята к печати 22.06.2025

Received 30.04.2025

Revision received 08.07.2025

Accepted 22.06.2025

КОМБИНИРОВАННЫЙ ИММУНОДЕФИЦИТ У ПОЖИЛЫХ ЛИЦ С ХОБЛ КАК ПРОЯВЛЕНИЕ СТАРЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Пирогова А.И., Ломтатидзе Л.В., Филиппов Е.Ф.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Краснодар, Россия

Резюме. Изучение особенностей функционирования иммунной системы (ИС) при хронической респираторной патологии особенно актуально у лиц пожилого и старческого возраста, поскольку частые затяжные обострения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) значительно отражаются на состоянии пациентов, приводя к декомпенсации заболеваний. Цель – произвести расширенное исследование состояния ИС, уточнить варианты нарушений у пациентов с ХОБЛ пожилого и старческого возраста. Исследованы 10 пациентов в возрасте 60–80 лет, страдающих ХОБЛ – группа исследования (ГИ), группа сравнения (ГС) – 30 условно здоровых лиц. Клинически определялся общий и локальный статус. Перед лечением проведено исследование ИС: Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺), В-лимфоцитов (CD3⁻CD19⁺), ЕКК (CD3⁻CD16⁺CD56⁺), 2 субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов (НГ) CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ и CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ (FC-500, Beckman Coulter, США) с расчетом индекса – РИНГ, отражающего соотношение между двумя субпопуляциями НГ. Оценивали фагоцитарную функцию НГ: процессы захвата (%ФАН, ФЧ, ФИ), киллинга и переваривания (%П, ИП) по отношению к *S. aureus* (штамм № 209), NADPH-оксидазную активность в NBT-тесте. У пациентов ГИ выявлен комбинированный иммунодефицит различной степени тяжести: количественный дефицит Т-лимфоцитов за счет дефицита Т-хелперов ($p < 0,05$), нарушение эффекторной функции НГ (дефицит активно фагоцитирующих НГ, нарушение процесса захвата, переваривания и киллинга, $p_{1-3} < 0,05$). Показано снижение субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ НГ и повышение 8,9 раза «незрелой» негативно трансформированной субпопуляции CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺, свидетельствующее о неполноценном ответе НГ на бактериальную инфекцию. При расчете РИНГ у пациентов ГИ выявлена бактериальная инфекции в 60% – легкого, 10% – среднетяжелого, 30% – тяжелого течения. Получены данные о наличии иммунодефицита у пациентов с ХОБЛ пожилого и старческого возраста, что требует создания иммунотерапевтических подходов, направленных на восстановление дефектов ИС с целью повышения эффективности терапии ХОБЛ и улучшения качества жизни пациентов.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, респираторные инфекции, иммуностарение, субпопуляции нейтрофильных гранулоцитов, иммунодефицит, иммунодиагностика

Адрес для переписки:

Пирогова Анна Ивановна
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
350063, Россия, г. Краснодар,
ул. Митрофана Седина, 4.
Тел.: 8 (989) 814-75-75.
E-mail: AnP1998@yandex.ru

Address for correspondence:

Anna I. Pirogova
Kuban State Medical University
4 Mitrofan Sedin St
Krasnodar
350063 Russian Federation
Phone: +7 (989) 814-75-75.
E-mail: AnP1998@yandex.ru

Образец цитирования:

А.И. Пирогова, Л.В. Ломтатидзе, Е.Ф. Филиппов
«Комбинированный иммунодефицит у пожилых лиц с ХОБЛ как проявление старения иммунной системы»
// Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28,
№ 4. С. 1073–1080.
doi: 10.46235/1028-7221-17267-CII

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

For citation:

A.I. Pirogova, L.V. Lomtadidze, E.F. Filippov “Combined immunodeficiency in elderly persons with COPD as a manifestation of immune aging”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 1073–1080.
doi: 10.46235/1028-7221-17267-CII

© Pirogova A.I. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-17267-CII

COMBINED IMMUNODEFICIENCY IN ELDERLY PERSONS WITH COPD AS A MANIFESTATION OF IMMUNE AGING

Pirogova A.I., Lomtadze L.V., Filippov E.F.

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Abstract. The study of immune system (IS) functions in chronic respiratory pathology is especially relevant in elderly and senile persons, since frequent prolonged exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) significantly affect the condition of patients, leading to decompensation of diseases. The objective of this study was to perform expanded evaluation of IS state, and to specify the variants of disorders in elderly and senile patients with COPD. 10 patients aged 60–80 years with COPD comprised the study group (SG) I; the comparison group (CG) included 30 conditionally healthy individuals. The general and local clinical status was determined. Before treatment, the following immune parameters were studied: T lymphocytes (CD3⁺CD19⁻, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺), B lymphocytes (CD3⁻CD19⁺), NK cells (CD3⁻CD16⁺CD56⁺), two subsets of neutrophilic granulocytes (NG) CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ and CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺ using an FC-500 Beckman Coulter device, with calculation of the CING index reflecting the ratio between the two NG subpopulations. Phagocytic function of NG was evaluated, i.e., engulfment (%PAN, PN, PI), killing and digestion (%D, ID) of microbial particles (*S. aureus*, strain 209), as well as NADPH oxidase activity by the NBT test. The SG patients showed combined immunodeficiency of varying severity: quantitative deficiency of T lymphocytes due to a decrease of T helper cells ($p < 0.05$), altered effector function of NG (deficiency of actively phagocytosing NG, impaired capture, digestion and killing, $p_{1-3} < 0.05$). A decrease in the CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺NG subset, and an 8.9-fold increase in “immature” subset (negatively transformed CD64⁺CD32⁺CD16⁺CD11b⁺) were shown, suggesting an inferior NG response to bacterial infection. When calculating the CING, bacterial infections were detected: Mild, moderate and severe conditions were diagnosed, respectively, in 60%, 10% and 30% of SG patients. The evidence of immunodeficiency in elderly and senile COPD patients has been obtained, thus requiring development of immunotherapeutic approaches aimed at recovery of IS defects, in order to increase the efficiency of COPD therapy and improve the quality of life in patients.

Keywords: chronic obstructive lung disease, respiratory infections, immune ageing, neutrophil subpopulations, immune deficiency, immune diagnostics

Введение

Изучение особенностей функционирования иммунной системы (ИС) на фоне хронической респираторной патологии особенно актуально у лиц пожилого и старческого возраста, поскольку частые затяжные обострения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) значительно отражаются на состоянии пациентов, приводя к декомпенсации заболеваний. Эти процессы напрямую влияют на качество жизни людей, приводят к инвалидизации, негативно сказываясь на продолжительности их жизни [9]. Не существует однозначных данных подтверждающих взаимосвязь ускоренного старения, ХОБЛ и нарушения функционирования ИС на фоне старения [10, 12]. Проблема выявления причинно-следственных связей между клеточными и молекулярными проявлениями старения ИС и нетипично протекающими хроническими респираторными

заболеваниями обусловлена необходимостью разработки новых подходов к лечению таких пациентов с целью поддержания здоровья и улучшения качества их жизни [15].

По данным ВОЗ, сегодня ХОБЛ стоит на третьем месте среди причин смерти в мире. Ежегодно от ХОБЛ умирает около 2,8 млн человек, что составляет 4,8% от всех причин смерти [4, 9]. В настоящее время существует множество доказательств того, что старение и инфекции играют важную роль в патогенезе и клиническом течении ХОБЛ [7, 11]. Установлено, что к обострению ХОБЛ часто приводит присоединение новой респираторной инфекции на фоне снижения функционирования ИС, что замыкает порочный круг инфекционно-воспалительных событий и способствует прогрессированию заболевания [14]. При этом обострения ХОБЛ зачастую являются следствием присоединения очередных бактери-

альных и вирусных респираторных инфекций, возникающих при отсутствии адекватности реагирования противoinфекционной иммунной защиты. Микробный пейзаж у таких пациентов обычно представлен: *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa* [3].

Стоит отметить необходимость выделения в отдельную группу пациентов ХОБЛ с частыми обострениями — два или более обострений в течение года или 1 и более обострений, сопровождающихся госпитализацией. Необратимое снижение функциональных показателей легких происходит с каждым новым обострением, подобная тенденция формирует повышенные риски госпитализаций и смерти [1, 9]. Известно несколько клинических фенотипов ХОБЛ: бронхитический клинический фенотип, который характеризуется преобладанием признаков бронхита (кашель, выделение мокроты), эмфизематозный и смешанный, имеющий признаки бронхитического и эмфизематозного. При этом бронхитический клинический фенотип ХОБЛ рассматривается как вторичный иммунодефицит, манифестирующий частым обострением бронхо-легочных инфекций [1, 4]. Однако уровень иммунного ответа у пациентов с ХОБЛ имеет существенные отличия у людей пожилого и старческого возраста от лиц среднего возраста, что, как полагают, связано со старением ИС, называемым в англоязычной литературе «иммуностарением».

Возрастное снижение иммунных функций, называемое «иммуностарением», играет решающую роль в проявлении острых респираторных инфекций различной этиологии и хронических респираторных заболеваний, таких как бронхиальная астма (БА) и ХОБЛ. Иммуностарение проявляется возрастным снижением функционального потенциала ИС на клеточном и гуморальном уровнях [5, 8]. Снижается эффективность защитных эффекторных механизмов врожденного иммунитета, включая фагоцитарную активность макрофагов, хемотаксическую реакцию фагоцитов, снижение бактерицидной функции нейтрофильных гранулоцитов (НГ), изменение реактивности дендритных клеток и естественных киллерных клеток (ЕКК) [8]. Иммуностарение и связанное с ним хроническое системное «воспалительное старение» способствуют развитию и прогрессированию заболеваний легких у пожилых людей с последующим ремоделированием паренхимы легких и усугублением дисфункции ИС. Эти процессы предрасполагают ко все новым респираторным инфекциям нижних дыхательных путей, обуславливают форми-

рование уникальных клинических фенотипов, наблюдаемых при хронических респираторных заболеваниях, включая астму с поздним дебютом, ХОБЛ и легочный фиброз [6].

Уточнение новых особенностей нарушения функционирования ИС в процессе старения человека позволит изыскать доступные способы восстановления поврежденной ИС, что должно благополучно отразиться на течении хронических респираторных заболеваний в пожилом возрасте, являющихся в настоящее время значимой причиной высокой заболеваемости и смертности [13].

Возрастающая доля стареющего населения ставит новые задачи перед системой здравоохранения, направленные на сохранение и увеличение активной продолжительности жизни лиц пожилого и старческого возраста. Решение этого вопроса станет возможным при уточнении молекулярных и клеточных механизмов иммунопатогенеза ХОБЛ. При этом станет возможной разработка методов таргетной иммуномодулирующей терапии, направленных на восстановление нормального функционирования ИС с нормализацией ее возможностей элиминации инфекционных патогенов.

Цель исследования — на базе проведения расширенного исследования состояния ИС уточнить варианты нарушений функционирования ИС у пациентов с ХОБЛ пожилого и старческого возраста.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 10 пациентов обоего пола в возрасте от 60 до 80 лет, страдающих ХОБЛ. Исследование проведено на базе отделения пульмонологии клиники ГБУЗ «Клинический госпиталь ветеранов войн» (г. Краснодар, ул. Кирова, 9).

При проведении обследования использовались клинические методы определения общего и локального статуса: опрос и осмотр пациента с применением стандартной методики и необходимого набора инструментов в соответствии с медицинской картой стационарного больного (форма № 003/у, утвержденная приказом Минздрава СССР от 04.10.1980 № 1030). Было сформировано 2 группы:

Группа исследования (ГИ) включала 10 пациентов пожилого и старческого возраста с ХОБЛ; в группу сравнения (ГС) вошли 30 условно здоровых лиц в возрасте от 57 до 70 лет.

При поступлении в стационар, до проведения лечебных мероприятий, проведено исследование

ИС методом проточной цитометрии на Cytomics FC-500 (Beckman Coulter, США) с использованием МКАТ (Beckman Coulter, США) проводили определение содержания Т-лимфоцитов ($CD3^+CD19^-$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$), и В-лимфоцитов ($CD3^-CD19^+$), ЕКК ($CD3^-CD16^+CD56^+$). Тестировали состояние двух функционально значимых субпопуляций НГ $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+$ и $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+$ с определением расчетного индекса НГ (РИНГ) для оценки тяжести протекания ХОБЛ и дифференцирования вирусной и бактериальной инфекции (патент на изобретение № 2825251 «Способ дифференциальной диагностики бактериальных и вирусных инфекционно-воспалительных заболеваний» от 02.08.2024) [2]. Проводили оценку фагоцитарной активности НГ по количеству активно фагоцитирующих НГ (%ФАН), с оценкой процессов захвата (ФЧ, ФИ) и переваривающей активности (%П, ИП) по отношению к *S. aureus* (штамм № 209). NADPH-оксидазную активность оценивали в спонтанном и стимулированном NBT-тесте путем подсчета активированных клеток на 100 НГ.

Систематизация и статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2019 и программы STATISTICA 10. Поправка на множественные сравнения осуществлялась с помощью метода Холма–Бонферрони.

Исследования производились в соответствии с существующими этическими стандартами биоэтического комитета, разработанными 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 Российской Федерации», утвержденными Приказом МЗ РФ от 19.06.2003 № 266. Пациенты, участвующие в исследовании, подписали добровольное письменное информированное согласие на участие.

Результаты и обсуждение

Клиническая картина в исследуемой группе характеризовалась ХОБЛ с преобладанием бронхитического и смешанного фенотипов над эмфизематозным. Количество обострений ХОБЛ в год достигало $2,2 \pm 0,63$, сопровождавшихся госпитализацией $1,92 \pm 0,25$ раза в год, затяжным течением, длительностью порядка $3,4 \pm 0,97$ месяца. Обострение ХОБЛ характеризовалось значительным усилением одышки, частым кашлем с отхождением гнойной мокроты, сниже-

нием толерантности к физической нагрузке и увеличением потребности в препаратах «скорой помощи» (КДБА), комбинированных препаратах (ИГКС + ДДБА), а также потребности в дополнительном подключении небулайзера как способа доставки препаратов при ухудшении состояния на фоне базисной терапии (ДДБА, ипратропия бромид). Обострение сопровождалось осложнением в виде ДН1 в $0,143 \pm 0,38$ случая, требующей респираторной поддержки, в $0,1 \pm 0,32$ случая отмечено развитие пневмонии на фоне длительного обострения ХОБЛ. Частота острых респираторных инфекций в ГИ достигала $5,4 \pm 1,17$ раза в год, длительностью $7,9 \pm 3,14$ дня в $2,7 \pm 0,82$ случая, требовавшей присоединения антибактериальной терапии.

В общем анализе крови отмечалось наличие незначительного увеличения лейкоцитов $7,96 (6,87-9,02) \times 10^9$ л против значений $6,25 (5,75-6,75)$ в ГС ($p = 0,0343$).

При исследовании иммунного статуса в ГИ пациентов с ХОБЛ отмечалось снижение в 1,3 раза относительного содержания Т-лимфоцитов ($CD3^+CD19^-$) $57,9 (55,35-61,05)\%$ против $73,7 (66,3-77,4)\%$ в ГС, ($p = 0,0022$) и в 1,7 раза Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) $27,8 (21,8-38,7)$ против $48,1 (36,3-49,6)$ в ГС, ($p = 0,0361$) и увеличение в 1,3 раза Т-цитотоксических лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$) $37,8 (35,68-42,18)$ против $30,1 (26,0-34,3)$ показателей ГС, ($p = 0,0349$). Данные изменения могут свидетельствовать об инверсии ИРИ 1-го порядка у пациентов с ХОБЛ ИРИ – $1,34 (0,69-2,20)$ ($p = 1,00$) и приводят к нарушению соотношения лимфоцитов с хелперной и цитотоксической активностью (рис. 1).

Относительное содержание В-лимфоцитов имело тенденцию к значительному снижению $6,35 (4,93-7,95)$, против $10,6 (8,5-12,5)$ в ГС, ($p = 0,1187$), обращает на себя внимание формирование 2 групп пациентов: группы, имеющей дефицит содержания В-лимфоцитов $5,40 (3,50-6,30)$, показавшей достоверные различия с $10,60 (8,50-12,50)$ в ГС ($p = 0,014$) и группы, не имеющей достоверных различий с ГС в содержании В-лимфоцитов $12,40 (9,60-13,40)$, ($p = 1,00$), что позволяет нам предположить ассоциацию тяжелого течения ХОБЛ с недостаточностью В-лимфоцитов. Кроме того, показана тенденция к увеличению относительного содержания ЕКК ($CD3^-CD16^+CD56^+$) $19,00 (14,98-23,68)$ против $16,30 (13,10-20,20)$ в ГС ($p = 1,00$) (рис. 1).

При анализе количественных и функциональных показателей фагоцитарной активности НГ выявлено, что у пациентов ГИ наблюдается снижение в 1,4 раза количества активно фагоцитиру-

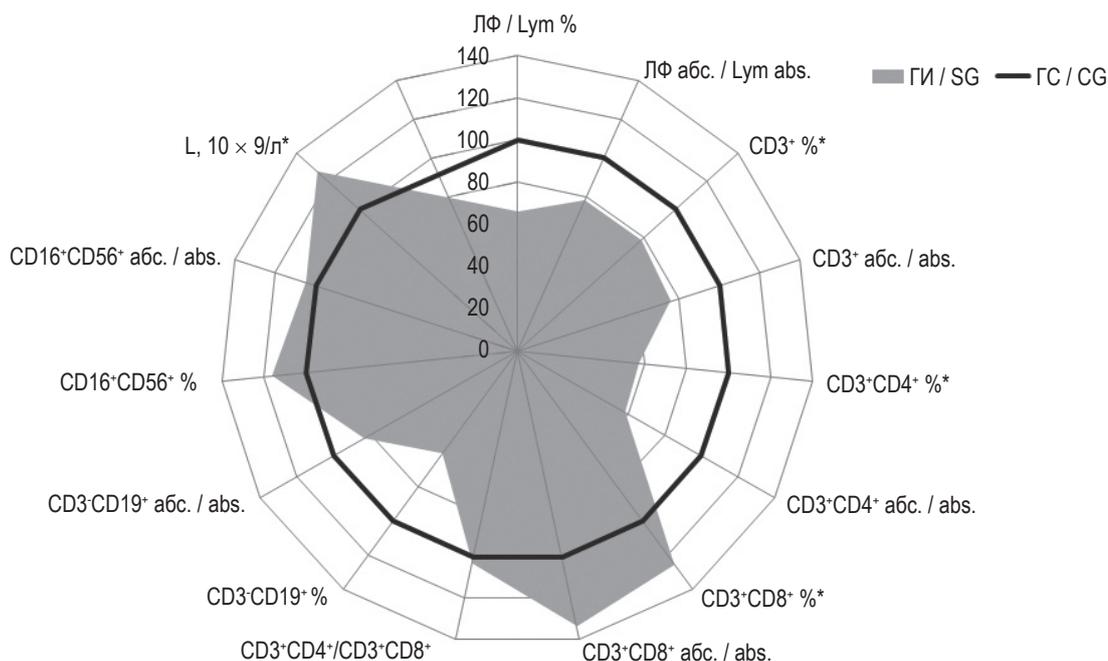


Рисунок 1. Характеристика Т-клеточного звена иммунной системы и естественных киллерных клеток у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких пожилого и старческого возраста

Примечание. * – отличия показателей группы исследования пациентов пожилого и старческого возраста с ХОБЛ от показателей условно здоровых лиц среднего возраста ($p = 0,036$).

Figure 1. Characteristics of the T cell immune system and natural killer cells in patients with chronic obstructive pulmonary disease of old age and elderly

Note. *, differences in the indicators of the study group of children with purulent-inflammatory diseases of the maxillofacial region from the indicators of conditionally healthy children ($p = 0,036$).

ющих НГ (%ФАН) 46,00 (37,00-56,75) против 65,8 (60,90-79,60) в ГС ($p = 0,0026$) отмечено нарушение функций захвата в виде снижения в 2 раза ФЧ 3,12 (2,02-3,40) против 6,30 (4,60-6,80) в ГС ($p = 0,0064$) и снижения в 3,5 раза ФИ 1,21 (0,82-1,79) против 4,30 (3,90-4,40) в ГС ($p = 0,0029$). Также установлено значимое снижение процессов киллинга и переваривания бактериального антигена за счет снижения %П 29,75 (22,98-45,07) против 58,9 (51,30-65,00) ($p = 0,0349$) в ГС, ИП 0,43 (0,40-0,46) против 2,60 (2,10-3,40) в ГС, ($p = 0,0025$) (рис. 2). При этом отмечена тенденция усиленного ответа НАДФ-оксидаз в значениях %ФПКсп: 4,0 (1,25-9,5) против 2,4 (2,3-3,5) ГС, %ФПКст: 11,5 (1,75-40,0) против 5,5 (2,8-6,3) в ГС, КМ (%ФПКст/%ФПКсп): 2,47 (1,06-4,16) против 1,8 (1,3-1,9) в ГС, ($p > 0,05$) (рис. 2).

При исследовании в GI функционально значимых субпопуляций НГ $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+НГ$ – «сторожевой» субпопуляции и $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+НГ$ – «незрелой» субпопуляции установлено, что количество субпопуляции $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+НГ$

составило 80,0 (66,4975-87,83)% против 94,35 (89,61-95,96)% в ГС ($p = 0,0064$), в то же время доля субпопуляции $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+НГ$ составила 10,25 (8,4875-27,175) % против 1,15 (0,65-3,10) значений ГС ($p = 0,0056$). При этом уровень РИНГ составил 8,25 (2,475-9,625) против 82,57 (30,15-95,96) в ГС ($p = 0,0065$), что свидетельствовало о наличии бактериальной инфекции. Для определения степени тяжести ХОБЛ было также исследовано значение РИНГ у пациентов GI. По данным Нестеровой И.В. и соавт. (2024), известно, что референсный интервал РИНГ для легкого течения бактериальной инфекции составляет 5,9-18,9, среднетяжелого течения – 3,0-5,8, тяжелого течения – 0,1-2,9. Легкое течение бактериальной инфекции при ХОБЛ в GI имело место у 6 пациентов (60%), среднетяжелое выявлено у 1 пациента (10%), тяжелое течение – у 3 пациентов (30%).

Таким образом, у пациентов с ХОБЛ пожилого и старческого возраста имеется статистически достоверное снижение «сторожевой» $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+$ субпопуляции НГ,

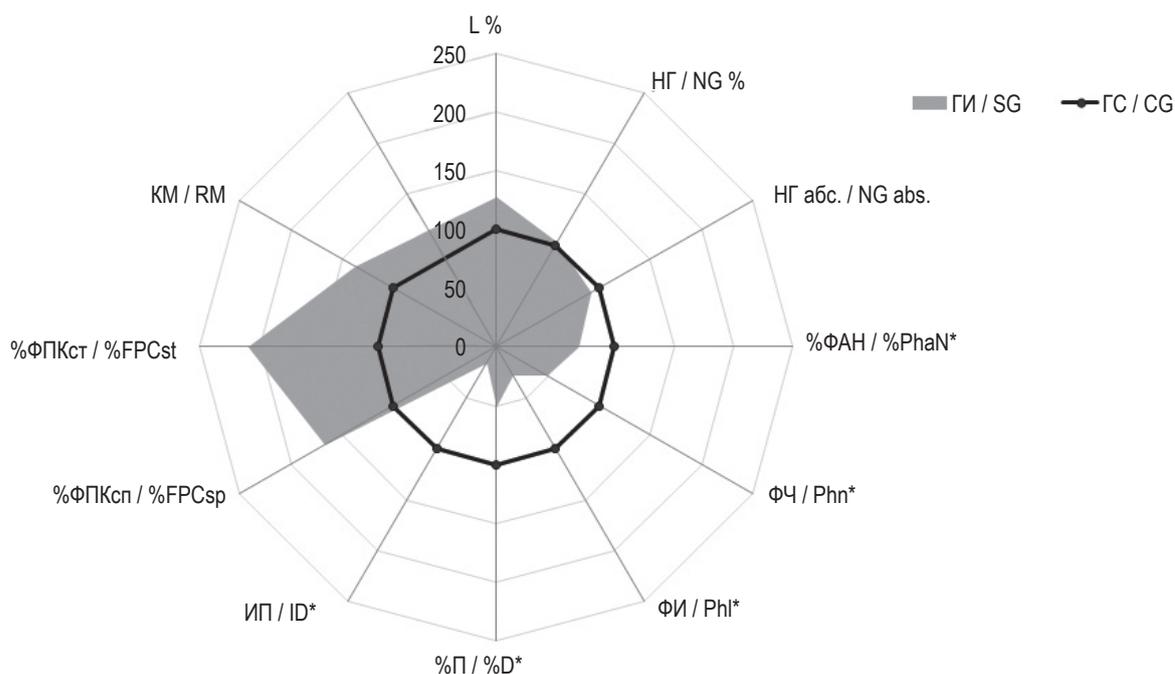


Рисунок 2. Фагоцитарная и микробицидная кислородзависимая активность нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких пожилого и старческого возраста

Примечание. * – отличия показателей группы исследования пациентов пожилого и старческого возраста с ХОБЛ от показателей условно здоровых лиц среднего возраста ($p = 0,034$).

Figure 2. Fasocital and microbiotic oxygen-dependent neutrophil granulocyte activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease of old age and elderly

Note. *, differences in the indicators of the study group of children with purulent-inflammatory diseases of the maxillofacial region from the indicators of conditionally healthy children ($p = 0,034$).

сопряженное с появлением «незрелой» $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+$ НГ субпопуляции, что свидетельствует о наличии бактериальной инфекции, ассоциированной с ХОБЛ. При оценке уровня РИНГ, получены данные о нарушении взаимоотношения между исследуемыми субпопуляциями, что дополнительно подтверждало наличие бактериальной инфекции. Кроме того, изменения значений РИНГ, входящих в референсные интервалы, характерные для различной степени тяжести, позволили выявить варианты ХОБЛ легкого течения, средней и тяжелой степени тяжести в ГИ.

Заключение

Продемонстрировано наличие комбинированного иммунодефицита у пациентов с ХОБЛ пожилого и старческого возраста различной степени тяжести: количественный дефицит Т-лимфоцитов за счет дефицита Т-хелперов и нарушение эффекторной функции НГ, заключающееся в дефиците активно фагоцитирующих НГ, нарушениях процесса захвата, пере-

варивания и киллинга. Кроме того, показано статистически достоверное снижение функционально значимой «сторожевой» субпопуляции $CD64^-CD32^+CD16^+CD11b^+$ и повышение «незрелой» негативно трансформированной субпопуляции $CD64^+CD32^+CD16^+CD11b^+$ в 8,9 раза, что свидетельствовало о неполноценном ответе НГ на бактериальную инфекцию. Исследование уровня РИНГ, отражающего взаимоотношение между двумя значимыми субпопуляциями НГ позволило подтвердить наличие бактериальной инфекции и уточнить различную тяжесть течения заболевания у пациентов ГИ.

Принимая во внимание полученные данные, свидетельствующие о наличии иммунодефицита у пациентов с ХОБЛ пожилого и старческого возраста, требуется создание новых иммунотерапевтических подходов, направленных на восстановление дефектных звеньев ИС с целью повышения эффективности терапии ХОБЛ, проводимой в рамках клинических рекомендаций, и улучшения качества жизни пациентов пожилого и старческого возраста.

Список литературы / References

1. Ищенко О.В., Сукало А.В. Недостаточность системы иммунитета при хронической обструктивной болезни легких // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2018. № 1. С. 73-88. [Ishchenko O.V., Sukalo A.V. Immune system deficiency in chronic obstructive pulmonary disease. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2018, no. 1, pp. 73-88. (In Russ.)]
2. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Чапурина В.Н., Тетерин Ю.В. Расчетный индекс нейтрофильных гранулоцитов в дифференциальной диагностике степени тяжести бактериальных инфекционно-воспалительных заболеваний // Эффективная фармакотерапия, 2024. Т. 20, № 38. С. 34-45. [Nesterova I.V., Chudilova G.A., Lomtatidze L.V., Kovaleva S.V., Chapurina V.N., Teterin YU.V. The calculated index of neutrophilic granulocytes in the differential diagnosis of the severity of bacterial infectious and inflammatory diseases. *Effektivnaya farmakoterapiya = Effective Pharmacotherapy*, 2024, Vol. 20, no. 38, pp. 34-45. (In Russ.)]
3. Симонян Л.Г. Роль вирусов в развитии бронхолегочных заболеваний // Пульмонология, 2013. № 2. С. 105-108. [[Simonyan L.G. The role of viruses in the development of bronchopulmonary diseases. *Pulmonologiya = Russian Pulmonology*, 2013, no. 2, pp. 105-108. (In Russ.)]
4. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Белевский А.С., Лещенко И.В., Овчаренко С.И., Шмелев Е.И. Хроническая обструктивная болезнь легких: федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению // Пульмонология, 2022. Т. 32, № 3. С. 356-392. [Chuchalin A.G., Avdeev S.N., Aisanov Z.R., Belevskiy A.S., Leshchenko I.V., Ovcharenko S.I., Shmelev E.I. Federal guidelines on diagnosis and treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonologiya = Russian Pulmonology*, 2022, Vol. 32, no. 3, pp. 356-392. (In Russ.)]
5. Al-Alawi M., Hassan T., Chotirmall S.H. Advances in the diagnosis and management of asthma in older adults. *Am. J. Med.*, 2014, Vol. 127, no. 5, pp. 370-378.
6. Chilosi M., Carloni A., Rossi A., Poletti V. Premature lung aging and cellular senescence in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis and COPD/emphysema. *Transl. Res.*, 2013, Vol. 162, no. 3, pp. 156-173.
7. Cox L.A. Jr. A causal model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) risk. *Risk Anal.*, 2011, Vol. 31, no. 1, pp. 38-62.
8. Fulop T., Le Page A., Fortin C., Witkowski J.M., Dupuis G., Larbi A. Cellular signaling in the aging immune system. *Curr. Opin. Immunol.*, 2014, Vol. 29, pp. 105-111.
9. Singh D., Agusti A., Anzueto A., Barnes P.J., Bourbeau J., Celli B.R., Criner G.J., Frith P., Halpin D.M.G., Han M., López Varela M.V., Martínez F., Montes de Oca M., Papi A., Pavord I.D., Roche N., Sin D.D., Stockley R., Vestbo J., Wedzicha J.A., Vogelmeier C. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease: the GOLD science committee report 2019. *Eur. Respir. J.*, 2019, Vol. 53, no. 5, 1900164. doi: 10.1183/13993003.00164-2019.
10. Johnstone J., Parsons R., Botelho F., Millar J., McNeil S., Fulop T., McElhaney J., Andrew M.K., Walter S.D., Devereaux P.J., Malekesmaeli M., Brinkman R.R., Mahony J., Bramson J., Loeb M. Immune biomarkers predictive of respiratory viral infection in elderly nursing home residents. *PLoS One*, 2014, Vol. 9, no. 9, e108481. doi: 10.1371/journal.pone.0108481.
11. MacNee W., Tudor R.M. New paradigms in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease I. *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 2009, Vol. 6, no. 6, pp. 527-531.
12. Murray M.A., Chotirmall S.H. The impact of immunosenescence on pulmonary disease. *Mediators Inflamm.*, 2015, Vol. 2015, 692546. doi: 10.1155/2015/692546.
13. Ongrádi J., Kövesdi V. Factors that may impact on immunosenescence: an appraisal. *Immun. Ageing*, 2010, Vol. 7, 7. doi: 10.1186/1742-4933-7-7.
14. Sethi S., Murphy T.F. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.*, 2008, Vol. 359, no. 22, pp. 2355-2365.
15. Thannickal V.J., Murthy M., Balch W.E., Chandel N.S., Meiners S., Eickelberg O., Selman M., Pardo A., White E.S., Levy B.D., Busse P.J., Tudor R.M., Antony V.B., Sznajder J.I., Budinger G.R. Blue journal conference. Aging and susceptibility to lung disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2015, Vol. 191, no. 3, pp. 261-269.

Авторы:

Пирогова А.И. – аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Authors:

Pirogova A.I., Postgraduate Student, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Ломтатидзе Л.В. — к.б.н., старший научный сотрудник отдела клинико-экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии центральной научно-исследовательской лаборатории, доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Филиппов Е.Ф. — д.м.н., доцент, заведующий кафедрой клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Краснодар, Россия

Lomtadze L.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology of the Central Scientific Research Laboratory, Associate Professor of the Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Filippov E.F., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Head, Department of Clinical Immunology, Allergology and Laboratory Diagnostics, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

Поступила 30.04.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 30.04.2025
Accepted 22.06.2025

АКТУАЛЬНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ О ЛИХОРАДКЕ КАК ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ ТЕМПЕРАТУРОФОБИИ

Найдёнкина С.Н., Ермакова М.К., Мотигуллин Р.Р.

ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ,
г. Ижевск, Удмуртская Республика, Россия

Резюме. Лихорадка является чрезвычайно распространенным симптомом у детей и самой частой причиной обращения к педиатру. В мировой литературе много исследований, указывающих на то, что у врачей и родителей слишком много заблуждений и противоречивых результатов в отношении лихорадки. Связано это с методологическими ограничениями доступных исследований в области лихорадки, наличием некоторых разногласий в терминологии, при принятии решения о лечении ориентация на комфорт пациента и отсутствие целостного подхода к реакциям организма. В этом исследовании мы постарались выявить знания, отношение и заблуждения врачей первичного звена в отношении лихорадки у детей. Это поперечное исследование было проведено в июне-июле 2024 года с участием врачей и медицинских сестер детских поликлиник (n = 209). Врачи с устного согласия самостоятельно заполняли предложенную анкету. В исследовании у трети респондентов имелись разноречивые ответы в отношении того, считать ли лихорадку нормальной реакцией на болезнь или патологической. Снижение температуры рекомендуют все педиатры, и только 13,4% – при нарушенном самочувствии у ребенка. Превалирующее большинство считает борьбу с лихорадкой не вредной для организма, хотя 72,2% отмечают, что назначение жаропонижающих может маскировать более серьезные проблемы. Позитивным является то, что 58,8% врачей рекомендуют снижать температуру выше 39–39,5 °С в соответствии с современными рекомендациями; меньшее (13,9%) количество опрошенных связывают лихорадку с бактериальной инфекцией. Существуют заблуждения у медицинских работников в отношении лихорадки после вакцинации, при прорезывании зубов, о необходимости физических мер охлаждения, обязательном отпаивании, о показаниях для обращения за медицинской помощью. Все медицинские работники имеют страхи в отношении последствий пирексии, особенно в отношении судорог, потери сознания, денатурации белков и обезвоживания. С одной стороны, это демонстрирует настороженность и побуждает к диагностическому поиску. С другой стороны, это усиливает температурофобию. В результате инструкции и определения, которые даются родителям в отношении лечения лихорадки, часто противоречивы и неполны. Большинство медработников понимают недостаток знаний в этой области. Сосредо-

Адрес для переписки:

Найдёнкина Светлана Николаевна
ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ
426034, Россия, Удмуртская Республика, г. Ижевск,
ул. Коммунаров, 281.
Тел.: 8 (950) 173-11-79.
E-mail: najdenkina@yandex.ru

Address for correspondence:

Svetlana N. Naydenkina
Izhevsk State Medical Academy
281 Kommunarov St
Izhevsk, Udmurt Republic
426034 Russian Federation
Phone: +7 (950) 173-11-79.
E-mail: najdenkina@yandex.ru

Образец цитирования:

С.Н. Найдёнкина, М.К. Ермакова, Р.Р. Мотигуллин
«Актуальные представления медицинских работников о лихорадке как возможные причины температурофобии» // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 4. С. 1081-1092.
doi: 10.46235/1028-7221-17251-CVO

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

For citation:

S.N. Naydenkina, M.K. Ermakova, R.R. Motigullin
“Current views of medical professionals on fever may cause a fever phobia”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025, Vol. 28, no. 4, pp. 1081-1092.
doi: 10.46235/1028-7221-17251-CVO

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

DOI: 10.46235/1028-7221-17251-CVO

точившись на лечении лихорадки, мы создаем у родителей впечатление, что лихорадка вредна, а жаропонижающие средства полезны. Нет ли отдаленных последствий такой повседневной борьбы, если главная цель – сохранить здоровье?

Ключевые слова: лихорадка, пирексия, дети, температурофобия, острое воспаление, гипертермия, хроническое воспаление

CURRENT VIEWS OF MEDICAL PROFESSIONALS ON FEVER MAY CAUSE A FEVER PHOBIA

Naydenkina S.N., Ermakova M.K., Motigullin R.R.

Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Udmurt Republic, Russian Federation

Abstract. Fever is an extremely common symptom in children and the most common reason for visiting a pediatrician. There are many studies worldwide indicating that physicians and parents have a lot of misconceptions and conflicting results regarding fever. This is due to the methodological limitations of available studies in the field of fever, some disagreements in terminology, orientation towards patient comfort when making treatment decisions and lack of a holistic approach to the body reactivity. In this study, we sought to identify the knowledge, attitudes and misconceptions of primary care physicians regarding fever in children. This cross-sectional study was conducted in June-July 2024 with the participation of physicians and nurses at pediatric clinics (n = 209). Physicians, with verbal consent, independently completed the proposed questionnaire. In the study, a third of respondents had conflicting answers, whether a fever state should be considered a normal or pathological response in health disorder. All pediatricians recommend to bring the temperature down, and only 13.4% preferred to do it, if the child feels unwell. The overwhelming majority believes that fighting fever is not harmful to the body, although 72.2% note that administration of antipyretics may mask more serious problems. It is positive that 58.8% of doctors suggest bringing down the fever at > 39-39.5 °C, as currently recommended. A fewer number of respondents (13.9%) associate fever with a bacterial infection. There are misconceptions among health workers regarding fever after vaccination, during teething, the needs for physical cooling measures, mandatory watering, and indications for seeking medical care. All health workers have fears regarding the consequences of pyrexia, especially regarding convulsions, loss of consciousness, protein denaturation, and dehydration. On the one hand, this attitude demonstrates alertness and encourages a diagnostic search. On the other hand, it increases fear of fever. As a result, the instructions and definitions given to parents regarding fever treatment are often contradictory and incomplete. Most health care providers recognize the lack of knowledge in this area. By focusing on fever treatment, we suggest an impression for parents that fever is harmful and antipyretics are beneficial. Are there long-term consequences of such a daily struggle when the primary goal is to maintain health?

Keywords: fever, pyrexia, children, fever phobia, acute inflammation, hyperthermia, chronic inflammation

Введение

Уильям Ослер писал: «У человечества есть только три великих врага: лихорадка, голод и война, и из них самым великим, самым ужасным является лихорадка». В 2023 году нами были опрошены по вопросам лихорадки 300 родителей в селе и 300 в городе в неэпидемический период на приеме у врача, согласно которому лихорадка всегда была признаком острой инфекции респираторной или других локализаций [3]. Чаще она не представляла никакой угрозы, так как была

не дольше 3 дней, у половины детей не выше 39 °C, и только один из десяти детей имел хроническое заболевание. Однако при этом практически все родители испытывали опасения, имели страх лихорадки и использовали жаропонижающие и другие средства, считая это очень важным. Нежелательные явления в виде фебрильных судорог наблюдались у 3,3% опрошенных, другие нежелательные явления (обезвоживание, сильные головные боли, одышка, абдоминальные боли) – у одного из десяти опрошенных. Наблюдая за лечением острых инфекций раз-

личной локализации, которые на педиатрическом участке занимают львиную долю всех причин лихорадки, создается впечатление, что все силы медицинских работников и родителей направлены на борьбу с лихорадкой, как основному источнику проблем. До сих пор существует значительный разрыв между текущей практикой и научными данными. Согласно исследованиям, мы находимся на перепутье: за последние несколько десятилетий накопилось достаточно убедительных научных данных, подтверждающих положительную роль лихорадки, и в то же время в текущей практике по-прежнему преобладает стремление снизить температуру тела [4, 8, 11, 13, 14]. Назначая жаропонижающие средства детям с любой лихорадкой, педиатры способствуют температурофобии у населения. Сосредоточившись на лечении лихорадки, мы создаем у родителей впечатление, что повышение температуры вредно, а жаропонижающие препараты полезны. Нет ли отдаленных последствий такой повседневной борьбы, если главная цель – сохранить здоровье? Ведь лихорадка является одним из признаков воспаления – универсальной врожденной реакции организма в ответ на патоген. Если активно бороться с симптомами воспаления (лихорадка, боль, отек, нарушение движения), назначая жаропонижающие, противовоспалительные и обезболивающие средства, способствуем ли мы борьбе с патогеном и помогаем ли работе иммунной системы? Обширное назначение антибактериальных препаратов на фоне общего подавления воспаления и реакций иммунной системы не грозит ли срывом толерантности в организме и развитием аутовоспалительных состояний? Согласно обширному обзору, который нам представляется глобальным, посвященному наблюдению за хроническими больными (сахарный диабет, гипертония, бронхиальная астма, поствирусный синдром, хронические головные боли, а также атопический дерматит, рассеянный склероз) в катамнезе, выявлено, что с появлением хронического заболевания острые состояния возникают реже, а температурная реакция исчезает. Это позволило сделать вывод, что подавление острого воспаления способствует переходу воспаления на другой уровень – подострый и хронический, и скорее всего, персистированию инфекций. А возвращение эффективного острого воспаления и высокой температуры предвещает истинное улучшение хронических воспалительных состояний [6, 7].

Цель исследования – анализ уровня информированности медицинских работников детских

поликлиник о лихорадочном процессе, выяснение отношения и заблуждений, касающихся, прежде всего, негативного влияния лихорадки.

С терминологией в литературе наблюдаются некие расхождения. Термин «лихорадка» совершенно не равнозначен гипертермическому синдрому и используется для обозначения повышенной температуры, вызванной действием внешних и внутренних пирогенов на гипоталамус при сепсисе и воспалительных состояниях. У «гипертермии» нет согласованного определения: одни определяют ее как внутреннюю температуру выше 38,2 °С, независимо от причины; другие используют при состояниях, когда температура тела поднимается выше, чем устанавливается гипоталамусом, и поэтому специально исключают те, при которых лихорадка вызвана пирогенами, возникающей из-за теплового воздействия или нерегулируемого производства тепла, превышающего теплопотери. Большинство причин гипертермии приходится на классический тепловой удар и физические нагрузки, реже злокачественные новообразования, черепно-мозговую травму, ишемию тканей и лекарственные реакции. Нейрогенная лихорадка и лихорадки, связанные с эндокринопатией, встречаются реже [15].

В отличие от гипертермии при лихорадке температура не поднимается выше уровня переносимости организма. В соответствии со степенью повышения температуры лихорадку разделяют на субфебрильную – 37,1-37,9 °С, умеренную – 38-39 °С, фебрильную – 39,1-41 °С и гипертермическую – выше 41 °С [1].

Что происходит при гипертермии – повышение температуры не воспалительного характера? Эпизод гипертермии может вызвать кратковременную неврологическую и когнитивную дисфункцию, которая может затянуться или стать постоянной. Мозжечок и клетки Пуркинье особенно нетерпимы к воздействию тепла. Гипертермия при острой черепно-мозговой травме и инсульте указывает на неблагоприятный исход. В большинстве случаев пациенты полностью восстанавливаются после острой когнитивной дисфункции, однако у некоторых из них остаются стойкие изменения в концентрации внимания, памяти или личности. Лечение ограничивается срочным охлаждением физическими методами, никакие жаропонижающие в этом случае не демонстрируют эффект. Возможно, поэтому в руководствах рекомендация охлаждения ребенка при лихорадке является ведущей, хотя это ухудшает и состояние, и самочувствие. Гипертермия снижает целостность гематоэнцефалического барьера, повышая вероятность того, что неко-

торые неврологические нарушения связаны с транслокацией бактерий или эндотоксинов из желудочно-кишечного тракта [15]. Есть исследования, доказывающие наличие эндотоксемии и транслокации бактерий при тяжелом течении пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией [12]. Наиболее уязвимыми к изменениям температуры элементами нервных клеток являются митохондрии и плазматические мембраны; необратимые изменения в структуре белков, по-видимому, происходят при температуре выше 40 °С. Однако денатурация белков может происходить даже при нормальной температуре, что позволяет предположить, что в нормальных условиях механизмов восстановления достаточно. Этот процесс может быть обратимым, в том числе благодаря белкам теплового шока (HSP). HSP – это совокупность белков, синтезируемых клетками в ответ на воздействие стрессовых факторов и защищающих от широкого набора вредных воздействий, включая ишемию и гипертермию. Внутриклеточно расположенные HSP выполняют защитную роль, включая коррекцию неправильно свернутых белков, предотвращение агрегации белков, транспорта белков, поддержку процессинга и презентации антигена, а также ограничение апоптоза. Мембранно-связанные или внеклеточные HSP могут оказывать иммуностимулирующее действие и, по-видимому, индуцируют высвобождение цитокинов или обеспечивают сайты распознавания естественных клеток-киллеров; HSP могут оказывать проапоптотическое, а также антиапоптотическое действие [15].

В отличие от гипертермии лихорадка обеспечивает эволюционно выработанную защиту от патогенов. Во-первых, инфекционные патогены человека часто демонстрируют оптимальную репликацию при температуре ниже 37 °С; таким образом, повышенная температура тела хозяина препятствует размножению. Во-вторых, повышение температуры *in vitro* с 35 °С до 41,5 °С повышает противомикробную активность многих классов антибиотиков [15].

Лихорадка – реакция защитная, которая усиливает синтез интерферона гамма (IFN γ) и фактора некроза опухоли альфа (TNF α), повышает бактерицидность полинуклеаров, синтез острофазных белков. При этом происходит, скорее всего, активация иммунного ответа Th1-типа с синтезом иммуноглобулинов класса G и образованием клеток памяти, что очень актуально для детей, поскольку лихорадка, сопровождающая инфекции, играет важную роль в переключении с Th2-типа иммунного ответа, превалирующего у

младенцев, на более совершенный Th1-тип. При этом снижается способность микроорганизмов размножаться и ускоряется экскреция возбудителей [1]. Простагландин E2, вырабатываемый при воспалении, вызывает боли в мышцах и суставах, которые ощущаются как ломота в самый острый период, а интерлейкин-1 вызывает сонливость, часто наблюдаемую при лихорадке. Во время пирексии в сыворотке крови концентрация железа и цинка кратковременно уменьшается, лишая патогенные микроорганизмы важных нутриентов, а концентрация меди увеличивается; усиливается выделительная функция печени и почек [1].

При высокой температуре возможен делирий, чаще наблюдаемый при вирусной инфекции (особенно при гриппе). Наличие делирия указывает на тяжесть инфекции, но сам по себе не опасен и не вызывает последствий.

Хотя лихорадка – защитная реакция и вызывает положительные иммунологические сдвиги, отрицательные представления о ней, в том числе страх судорог, остаются неизменными. В мировой литературе проведено большое количество исследований с метаанализом знаний и отношения родителей к лихорадке у детей. Данные о том, как медицинские работники информируют родителей на приеме о здоровье детей, является крайне неприемлемым [8, 11, 14]. На основании обзоров существуют подробные рекомендации, которые до сих пор не освещены в наших отечественных руководствах. Невозможность контролировать температуру дома – одна из самых частых причин обращения за медицинской помощью. Родители являются главными наблюдателями за отношением специалистов к лихорадящему ребенку. Поэтому дополнительные исследования как родителей, так и медицинских работников в отношении детской лихорадки крайне необходимы. Систематические обзоры показывают, что страх перед температурой является глобальной проблемой среди лиц, осуществляющих уход, и медицинских работников [4, 8, 11, 13, 14].

Материалы и методы

С целью выявления уровня информированности медицинских работников детских поликлиник о лихорадочном процессе было проведено анкетирование в июне-июле 2024 года среди медсестер и врачей педиатрических отделений города Ижевска. Медицинские работники заполняли анкету самостоятельно, дав на это устное согласие. Всего было опрошено 209 человек, из которых 136 – это врачи и 73 медсестры, преимуще-

ственно работавшие на педиатрическом участке. Мы использовали описательные статистические методы.

Результаты и обсуждение

Полученные данные сведены в таблицу 1. Большинство медицинских работников пользуются электронными и инфракрасными термометрами и, соответственно, измеряют температуру в подмышечной впадине и на лбу. Лихорадку считают нормальной реакцией на болезнь 93,3% медицинских работников, треть из них (33,5%), достоверно чаще врачи ($p < 0,05$), запутались в ответах, считая температуру и нормальной реакцией, и болезнью одновременно. При этом такое же большинство (91,9%) не считают, что снижение температуры может быть вредно для организма и всегда рекомендуют ее снижать. За нижний порог температуры, нуждающейся в понижении на уровне 38–38,5 °С, считая ее опасной для здоровья ребенка, проголосовали 45,9% респондентов, достоверно чаще медицинские сестры ($p < 0,05$). Уровень 39–39,5 °С является критическим для 49,8% персонала, достоверно выше у врачей ($p < 0,01$) — это является положительным сдвигом в знаниях о лихорадке за последние годы, так как в большинстве исследований медики считали критическим порог в 38 °С и выше [14]. Согласно клиническим рекомендациям по лечению острых респираторных инфекций и лечению лихорадок у детей на этапе скорой медицинской помощи еще с 2015 года рекомендован к снижению у практически здоровых детей уровень лихорадки выше 39,0–39,5 °С. Наиболее часто используемыми препаратами для снижения температуры являются ибупрофен (68,0%) и парацетамол (55,5%). Это вполне оправдано, ведь ибупрофен кроме жаропонижающего эффекта обладает еще и противовоспалительным действием; случаев отравления парацетамолом больше, чем ибупрофеном. Около 13,5% респондентов рекомендуют комбинированные и другие препараты. В общепринятых рекомендациях в детской практике и парацетамол, и ибупрофен являются предпочтительными в детском возрасте, однако комбинировать их не рекомендуется, учитывая риск передозировки и индивидуальной гиперчувствительности [4, 13, 14].

Следует отметить, что весь медицинский персонал, участвовавший в исследовании, отмечал наличие страхов, касающихся лихорадки. Большинство боится прежде всего судорог (84,2%), потери сознания (60,3%), обезвоживания (55,0%), денатурации белков (68,0%), а также

нейроинфекции — 13,9%, слепоты и глаукомы — 3,3%, смерти — 6,7%, комы — 1,9%. Конечно, должна быть настороженность в отношении таких грозных состояний, сопровождающихся лихорадкой, как септический шок, нейротоксическая реакция, менингит и энцефалит, аутовоспалительные синдромы. Но, во-первых, такие состояния возникают редко и имеют свои диагностические признаки помимо лихорадки. Во-вторых, септический шок, фебрильные судороги и нейротоксические реакции у детей встречаются в первые сутки пирексии, в последующем риск минимизируется, и здесь не может идти речь о профилактике в виде борьбы с лихорадкой, речь о своевременной диагностике. В случае сепсиса наличие фебрилитета прогностически лучше, чем явление нормотермии и, еще более неблагоприятна гипотермия. В большом исследовании, куда вошли 1425 взрослых пациентов в критическом состоянии в отделении интенсивной терапии, обнаружили, что отсутствие температуры, гипотермия, а также лечение нестероидными противовоспалительными препаратами или ацетаминофеном (парацетамолом) независимо друг от друга достоверно увеличивали смертность в течение последующих 28 дней у пациентов с сепсисом. Другая ситуация выявлена у пациентов с гипертермией — наличие лихорадки ($\geq 39,5$ °С) было сопряжено со смертностью, а прием жаропонижающих или ацетаминофена улучшал выживаемость. Эти данные свидетельствуют о том, что лихорадка и жаропонижающие средства могут иметь различные биологические или клинические последствия для пациентов с сепсисом и гипертермией [5].

Основным осложнением, которое может быть связано с этим признаком, у детей являются фебрильные судороги. Однако они возникают в среднем в популяции у 2–5% детей в первые 5 лет жизни, и риск развития эпилепсии составляет всего 2–3%, как и риск эпилепсии у всего населения. 80% из них являются простыми фебрильными судорогами, которые не имеют серьезных последствий. В двух обзорах клинических испытаний по применению жаропонижающих средств для профилактики фебрильных судорог был сделан вывод о том, что, учитывая методологические ограничения доступных исследований, не было получено положительных доказательств такого лечения [4]. Наличие судорог само по себе не является показателем тяжести заболевания; более высокая температура не пропорциональна более тяжелому течению заболевания. Основные возбудители, при которых риск судорог выше, это герпес 6-го типа и грипп. Имеется наследствен-

ТАБЛИЦА 1. ПРЕДСТАВЛЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ О ЛИХОРАДКЕ

TABLE 1. HEALTHCARE PROFESSIONALS' PERCEPTIONS OF FEVER

№ No.	Вопросы Questions	Ответы Answers	Общее, % Total, % (n = 209)	Врачи, % Doctors, % (n = 136)	Медсестры, % Nurses, % (n = 73)
1	Лихорадка – это нормальная реакция на болезнь? Is fever a normal reaction to illness?	Да, скорее да Yes, rather yes	93,3	94,9	90,4
		Нет, скорее нет No, rather no	6,7	5,1	9,6
2	Лихорадка сама по себе это болезнь (патология)? Is fever itself a disease (pathology)?	Да, скорее да Yes, rather yes	33,5	38,2	24,7*
		Нет, скорее нет No, rather no	66,5	61,8	75,3
3	В большинстве случаев в борьбе с лихорадкой нужны жаропонижающие? In most cases, are antipyretics needed to combat fever?	Да, скорее да Yes, rather yes	75,1	76,5	72,6
		Нет, скорее нет No, rather no	24,4	23,5	26,0
4	В большинстве случаев в борьбе с лихорадкой нужны антибиотики? In most cases, are antibiotics needed to combat fever?	Да, скорее да Yes, rather yes	13,9	14,7	12,3
		Нет, скорее нет No, rather no	86,1	85,3	87,7
5	Какую температуру вы считаете опасной (нижний порог) и назначаете жаропонижающее? What temperature do you consider dangerous (lower threshold) and prescribe antipyretics?	37,0-37,5 °C	0,5	–	1,4
		38,0-38,5 °C	45,9	39,7	57,6*
		39,0-39,5 °C	49,8	58,8	32,9**
		40-41,0 °C	3,8	1,5	8,2
6	Температура повышается бесконечно, если ее не лечить? Does temperature rise indefinitely if left untreated?	Да, скорее да Yes, rather yes	7,2	3,7	13,7**
		Нет, скорее нет No, rather no	90,9	94,1	84,9
		Затрудняюсь Unsure	1,9	2,2	1,4
7	Для снижения температуры чаще всего использую: What do you most often use to reduce fever?	Парацетамол / Paracetamol	55,5	51,5	63,0
		Ибупрофен / Ibuprofen	68,0	67,6	68,5
		Комбинацию / Combination	9,1	8,8	9,6
		Нимесулид / Nimesulide	2,4	1,5	4,1
		Другие / Other	2,4	3,7	–
8	Если у ребенка жар и он в нормальном настроении, ему нужен жаропонижающий? If a child has a fever but is in a normal mood, do they need antipyretics?	Да, скорее да Yes, rather yes	13,4	11,0	17,8
		Нет, скорее нет No, rather no	86,6	89,0	82,2
9	Ребенка с жаром надо обязательно отпаивать водой? Should a child with fever be given water to drink?	Да, скорее да Yes, rather yes	85,6	88,2	80,8
		Нет, скорее нет No, rather no	14,3	11,8	19,2

Таблица 1 (продолжение)
Table 1 (continued)

№ No.	Вопросы Questions	Ответы Answers	Общее, % Total, % (n = 209)	Врачи, % Doctors, % (n = 136)	Медсестры, % Nurses, % (n = 73)
10	Назначение жаропонижающих может маскировать более серьезные проблемы? Can antipyretics mask more serious problems?	Да, скорее да Yes, rather yes	72,2	71,3	74,0
		Нет, скорее нет No, rather no	27,8	28,7	26,0
11	После приема лекарства от жара температура должна снизиться до нормы? After taking fever medication, should the temperature return to normal?	Да, скорее да Yes, rather yes	21,5	15,4	32,9**
		Нет, скорее нет No, rather no	78,5	84,6	67,1
12	Если жар не снижать, то могут быть: If fever is not reduced, what complications may occur?	Судороги / Seizures	84,2	80,9	90,4
		Потеря сознания / Loss of consciousness	60,3	58,8	58,9
		Денатурация белков / Protein denaturation	66,5	61,8	75,3*
		Обезвоживание / Dehydration	55,0	58,8	47,9
		Нейроинфекция / Neuroinfection	13,9	14,7	12,3
		Слепота / Blindness	3,3	2,2	5,5
		Смерть / Death	6,7	7,4	5,5
Кома, шок / Coma, shock	1,9	1,5	2,7		
13	При жаре необходимо охладить ребенка? Is it necessary to cool a child with fever?	Да, скорее да Yes, rather yes	35,9	33,8	39,7
		Нет, скорее нет No, rather no	56,4	60,3	49,3
		Зависит от стадии Depends on the stage	7,7	5,9	11,0
14	При жаре необходимо согреть ребенка? Is it necessary to warm a child with fever?	Да, скорее да Yes, rather yes	36,4	37,5	34,2
		Нет, скорее нет No, rather no	53,6	52,9	54,8
		Зависит от стадии Depends on the stage	10,0	9,6	11,0
15	Вакцины могут вызывать лихорадку более 2 дней? Can vaccines cause fever for more than 2 days?	Да, скорее да Yes, rather yes	62,7	55,9	75,3**
		Нет, скорее нет No, rather no	37,3	44,1	24,7
16	Прорезывание зубов может сопровождаться лихорадкой? Can teething be accompanied by fever?	Да, скорее да Yes, rather yes	77,5	75,0	82,2
		Нет, скорее нет No, rather no	22,5	25,0	17,8
17	Можно ли использовать клизмы с холодной водой? Can cold water enemas be used?	Да, скорее да Yes, rather yes	6,2	3,7	11,0
		Нет, скорее нет No, rather no	93,8	96,3	89,0

Таблица 1 (окончание)
Table 1 (continued)

№ No.	Вопросы Questions	Ответы Answers	Общее, % Total, % (n = 209)	Врачи, % Doctors, % (n = 136)	Медсестры, % Nurses, % (n = 73)
18	Какие симптомы требуют медицинской помощи при лихорадке? What symptoms require medical attention for fever?	Судороги / Seizures	89,0	88,2	90,4
		Непрерывная рвота и диарея / Continuous vomiting and diarrhea	70,8	76,5	60,3*
		Синюшные губы и ногти / Cyanotic lips and nails	51,7	51,5	52,1
		Сыпь / Rash	67,0	69,9	61,6
		Слабый, безутешный плач / Weak, inconsolable crying	12,9	14,0	11,0
		Жар не спадает от лекарств / Fever not reduced by medication	80,9	84,6	74,0
		Возврат жара менее чем через 4 ч / Recurrence of fever within 4 hours	31,1	31,6	30,1
		Упадок сил / Loss of strength	21,5	22,0	20,5
		Перестал играть / Stopped playing	27,3	30,9	20,5
		Не может заснуть / Insomnia	6,7	7,4	5,5
Не ест и не пьет / Decreased appetite	4,3	3,7	5,5		
19	После жаропонижающего может повыситься температура? Can temperature rise after taking antipyretics?	Да, скорее да Yes, rather yes	93,3	95,6	89,0
		Нет, скорее нет No, rather no	6,7	4,4	11,0
20	Хотели бы вы повысить свои знания о лихорадке? Would you like to improve your knowledge about fever?	Да, скорее да Yes, rather yes	84,7	87,5	79,4
		Нет, скорее нет No, rather no	15,3	12,5	20,6
21	Является ли снижение температуры вредным для организма? Is reducing temperature harmful to the body?	Да, скорее да Yes, rather yes	8,1	8,8	6,8
		Нет, скорее нет No, rather no	91,9	91,2	93,2
22	Как вы измеряете температуру? How do you measure temperature?	Термометр электронный Electronic thermometer	76,6	80,9	68,5
		Термометр инфракрасный Infrared thermometer	13,9	9,6	21,9
		Прикосновение рукой / Touch	5,3	5,1	5,5
		Ртутный термометр / Mercury thermometer	5,3	5,1	4,1
23	Где вы измеряете температуру? Where do you measure temperature?	Лоб / Forehead	20,6	19,1	23,3
		Подмышечная впадина / Armpit	74,2	76,5	69,9
		Прямая кишка / Rectum	1,4	0,7	2,7
		Уши, рот / Ear, mouth	1,4	–	4,1

Примечание. p – статистическая значимость различий между врачами и медицинскими сестрами. * – p < 0,05; ** – p < 0,01.

Note. p is the statistical significance of the differences between doctors and nurses. *, p < 0.05; **, p < 0.01.

ная отягощенность с аутосомно-доминантным типом наследования [4].

Неосведомленность или неуверенность в ответах касается и необходимости назначения антибиотиков при лихорадке – 13,9% врачей и сестер считает, что нужны антибиотики, и здесь важно понимать, что для подтверждения бактериальной инфекции нужны дополнительные признаки и тесты.

Мифами о лихорадке, которые усиливают температурофобию у населения, являются следующие утверждения: температура будет повышаться бесконечно, если ее не снижать (достоверно чаще у медсестер, чем у врачей – 13,7% и 3,7% соответственно, $p < 0,01$); жаропонижающее нужно не независимо от самочувствия ребенка (13,4%); после приема антипиретиков температура должна обязательно снизиться до нормальных значений (достоверно чаще медсестры, чем врачи – 32,9% против 15,4% соответственно, $p < 0,01$); не считают, что назначение жаропонижающих может маскировать более серьезные проблемы (27,8%). Систематический обзор, в котором была предпринята попытка проанализировать физические методы охлаждения [10, 16], показал, что не было исследований, отдельно посвященных физическим вмешательствам или мерам по охлаждению окружающей среды. Несмотря на убедительные доказательства, что протирание кожи водой усиливает дискомфорт и его следует избегать [16], большинство рекомендаций по-прежнему выступают за его использование. В нашем исследовании каждый третий медицинский работник (35,9%) рекомендует физические методы охлаждения: раздеть ребенка, поить прохладным питьем, обтереть водным или водно-спиртовым раствором, а также использовать клизмы с холодной водой (11,0% медсестер, 3,7% врачей). Следует понимать, что снижение температуры в результате внешнего охлаждения носит кратковременный характер. Несовпадение между заданной гипоталамусом температурой и температурой кожи (слизистой прямой кишки) приводит к периферическому сужению сосудов и выработке метаболического тепла, что вызывает дрожь и усиливает дискомфорт у ребенка. Первоначальное незначительное снижение температуры тела может не стоить вызываемого дискомфорта, использование этих методов говорит о том, что основное внимание уделяется борьбе с лихорадкой, а не дискомфорту. Однако положительным сдвигом в знаниях о лихорадке является рекомендация использовать физические методы в зависимости от стадии лихорадки: 7,7% опрошенных рекомендуют охладить в розо-

вую стадию, 10,0% – согреть в бледную. Мы считаем, что рекомендация о физических методах охлаждения уместна и очень важна только при гипертермии и не должна быть в клинических рекомендациях по лихорадкам, ведь степень и длительность лихорадки полностью зависят от количества пирогенов в крови и никак не зависят от внешней температуры. А вот внешнее согревание, независимо от стадии процесса, является важным, так как помогает организму в его теплопродукции и экономит энергию. Также считаем, что термин «бледная лихорадка» не уместен в первую стадию лихорадки – ведь повышение температуры происходит не только за счет повышения теплопродукции (озноб-сократительный термогенез), но и снижения теплоотдачи путем спазма периферических сосудов, который проявляется похолоданием кистей и стоп, ощущением зябкости, иногда сильными головными болями, болями в животе. Вот когда на фоне жара обнаруживаются симптомы периферического спазма, сопровождаемые появлением выраженной слабости, усилением тахикардии и тахипноэ (не соответствующей лихорадке), нитевидным периферическим пульсом, увеличением симптома белого пятна и часто высыпаниями геморрагического характера, следует думать о бледной лихорадке вследствие септического шока.

Повышение температуры на каждый 1 °C сопровождается увеличением расхода энергии и потерь воды с потом и дыханием на 10%, повышением потребления кислорода – на 10-12%, что сопоставимо с физической нагрузкой и само по себе угрозы не несет. И здесь важно дифференцировать тахипноэ, связанный с жаром от одышки при дыхательной недостаточности, а отсутствие тахикардии или ее несоответствие степени повышения температуры тела может быть одним из признаков осложнений. Отрицательные эффекты лихорадки сказываются при температуре тела ближе к 41 °C: резко повышается метаболизм, возникает дополнительная нагрузка на сердце и легкие, что важно для детей с хронической патологией жизненно-важных органов [15]. Обязательное отпаивание водой в нашем исследовании рекомендует 85,6% медработников. Как правило, при пирексии повышается синтез адренокортикотропного гормона, кортизола, гормона роста, особенно секреция аргинина-вазопрессина (антидиуретического гормона), благодаря которому организм сохраняет воду, несмотря на отсутствие жажды и усиленная гидратация может способствовать развитию отечности тканей [1].

Половина медицинских работников (53,1%), достоверно чаще медсестры, чем врачи (75,3% против 55,9% соответственно, $p < 0,01$), считают, что вакцины могут вызывать лихорадку длительностью более 2 дней и поэтому рекомендуют жаропонижающие с профилактической целью. Однако, согласно исследованиям, выявлено, что профилактическое назначение ухудшает выработку антител на вакцинный штамм и не является обоснованным [2]. Среди опрошенных 84,2% считают, что прорезывание зубов может сопровождаться лихорадкой. Конечно, есть доказательства возникновения признаков и симптомов во время прорезывания молочных зубов, чаще в виде раздражения десен, беспокойства и слюнотечения. Что касается температуры тела, то прорезывание зубов может привести к субфебрилитету (36,8-37,8 °С), но это не считается лихорадкой [9].

Большинство врачей и медсестер верно отмечают, что при судорогах (89,0%), непрерывной рвоте и диарее (70,8%), при наличии синюшности губ или ногтей (51,7%), сыпи (67,0%), слабом безутешном плаче ребенка (27,3%) необходима его госпитализация. Но при этом у многих выявляются ложные убеждения, что госпитализация нужна, если лихорадка не снижается с помощью лекарств (84,6% врачей, 74,0% медсестер), если она возвращается менее чем через 4 часа после приема лекарств (31,1%), отмечается упадок сил ребенка (21,5%), когда ребенок не играет (30,9% врачей, 20,5% медсестер), не может заснуть (6,7%), нет аппетита (4,3%).

Радует то, что большинство (84,7%) медработников понимают недостаточность знаний в этой области и готовы учиться.

Выводы

Лихорадка действительно может являться признаком серьезного заболевания, но вместо того, чтобы направить все усилия на раннюю диагностику и выявление заболевания и его осложнений, связанных с возникновением лихорадки, медицинский персонал продолжает считать лихорадку причиной патологических состояний и борется с ней, способствуя температурофобии населения.

Отмечаются некоторые достоверные различия между убеждениями врачей и медицинских сестер, однако тенденции одинаковы — много противоречивых суждений. Причина этого, в том числе, в неоднозначной терминологии и общепринятых рекомендациях. Есть необходимость в образовательных мероприятиях для медицинского персонала для повышения осведомленности о лихорадочном процессе. Мы согласны с тем, что агрессивное лечение лихорадки профессионалами способствует родительскому страху перед лихорадкой и их желанию достичь нормотермии у своих детей. Это создает порочный круг, при котором тревога родителей влияет на специалистов, которые стремятся быстро устранить лихорадку, чтобы удовлетворить их и уменьшить тревогу [14]. Выход из этого круга заключается в повышении знаний как медицинских работников, так и родителей; в проведении научных исследований в этой области, в частности касаясь различий в иммунных реакциях в группах детей, использующих и не использующих методы борьбы с жаром, изучение долговременных последствий пирексии и борьбы с ней.

Список литературы / References

1. Баранов А.А., Таточенко В.К., Бакрадзе М.Д. Лихорадящий ребенок. Протоколы диагностики и лечения. Клинические рекомендации для педиатров. М.: ПедиатрЪ, 2015. 288 с. [Baranov A.A., Tatochenko V.K., Bakradze M.D. Feverish child. Diagnostic and treatment protocols. Clinical recommendations for pediatricians]. Moscow: Pediatr, 2015. 288 p.
2. Заплатников А.Л., Гирина А.А., Леписева И.В., Свиницкая В.И., Лешик М.В., Фурсова А.В. Поствакцинальная гипертермия у детей: современный взгляд на старую проблему // РМЖ. Мать и дитя, 2023. Т. 6, № 2. С. 192-198. [Zaplatnikov A.L., Girina A.A., Lepiseva I.V. et al. Post-vaccination hyperthermia in children: a current view of the old problem. *RMZh. Mat i ditya = Russian Journal of Woman and Child Health*, 2023, Vol. 6, no. 2, pp. 192-198. (In Russ.)]
3. Найдёнкина С.Н., Ермакова М.К. Лихорадка: современные данные о значении в эпоху COVID-19 и выяснение отношения населения к ней // Российский иммунологический журнал, 2025. Т. 28, № 2. С. 315-320. [Naydenkina S.N., Ermakova M.K. Fever: current view on its significance in the COVID-19 era, and the people's attitude to this symptom. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2025, Vol. 28, no. 2, pp. 315-320. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-17048-FCV.

4. Bakalli I., Klironomi D., Kola E., Celaj E. The management of fever in children. *Minerva Pediatr. (Torino)*, 2022, Vol. 74, no. 5, pp. 568-578.
5. Lee B.H., Inui D., Suh G.Y., Kim J.Y., Kwon J.Y., Park J., Tada K., Tanaka K., Ietsugu K., Uehara K., Dote K., Tajimi K., Morita K., Matsuo K., Hoshino K., Hosokawa K., Lee K.H., Lee K.M., Takatori M., Nishimura M., Sanui M., Ito M., Egi M., Honda N., Okayama N., Shime N., Tsuruta R., Nogami S., Yoon S.H., Fujitani S., Koh S.O., Takeda S., Saito S., Hong S.J., Yamamoto T., Yokoyama T., Yamaguchi T., Nishiyama T., Igarashi T., Kakihana Y., Koh Y. Association of body temperature and antipyretic treatments with mortality of critically ill patients with and without sepsis: multi-centered prospective observational study; Fever and Antipyretic in Critically ;16 (1): ill patients Evaluation (FACE) Study Group. *Crit. Care*, 2012, Vol. 16, no. 1, R33. doi: 10.1186/cc11211.
6. Mahesh S., Mallappa M., Vacaras V., Shah V., Serzhantova E., Kubasheva N., Chabanov D., Tsintzas D., Jaggi L., Jaggi A., Vithoulkas G. A novel outlook on the correlation between acute and chronic inflammatory states, a retrospective observational study. *Authorea*, 2020. DOI: 10.22541/au.160269741.18547290/v1.
7. Mahesh S., Mallappa M., Habchi O., Konstanta V., Chise C., Sykiotou P., Vithoulkas G. Appearance of acute inflammatory state indicates improvement in atopic dermatitis cases under classical homeopathic treatment: a case series. *Clin. Med. Insights Case Rep.*, 2021, Vol. 14, 1179547621994103. doi: 10.1177/1179547621994103.
8. Martins M., Abecasis F. Healthcare professionals approach paediatric fever in significantly different ways and fever phobia is not just limited to parents. *Acta Paediatr.*, 2016, Vol. 105, pp. 829-833.
9. Massignan C., Cardoso M., Porporatti A.L., Aydinov S., Canto Gde L., Mezzomo L.A., Bolan M. Signs and Symptoms of Primary Tooth Eruption: A Meta-analysis. *Pediatrics*, 2016, Vol. 137, no. 3, e20153501. doi: 10.1542/peds.2015-3501.
10. Meremikwu M.M., Oyo-Ita A. Physical methods versus drug placebo or no treatment for managing fever in children. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2003, iss. 2, CD004264. doi: 10.1002/14651858.CD004264.
11. Pereira C.G., Machado S.N., Pereira R.L., Rebelo A., Salgado M. Fever phobia – where are we now. *Pediatr. Oncall J.*, 2024, Vol. 21, pp. 49-55. doi: 10.7199/ped.oncall.2024.22.
12. Sirivongrangsorn P., Kulvichit W., Payungporn S., Pisitkun T., Chindamporn A., Peerapornratana S., Pisitkun P., Chitcharoen S., Sawaswong V., Worasilchai N., Kampunya S., Putcharoen O., Thawitsri T., Leelayuwatanakul N., Kongpolprom N., Phoophiboon V., Sriprasart T., Samransamruajkit R., Tungsanga S., Tiankanon K., Lumlertgul N., Leelahavanichkul A., Sriphojanart T., Tantawichien T., Thisyakorn U., Chirathaworn C., Praditpornsilpa K., Tungsanga K., Eiam-Ong S., Sitprija V., Kellum J.A., Srisawat N. 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.
13. Smith D.K., Sadler K.P., Benedum M. Febrile seizures: risks, evaluation, and prognosis. *Am. Fam. Physician*, 2019, Vol. 99, no. 7, pp. 445-450.
14. Vicens-Blanes F., Miró-Bonet R., Molina-Mula J. Analysis of the perceptions, knowledge and attitudes of parents towards fever in children: A systematic review with a qualitative meta-synthesis. *J. Clin. Nurs.*, 2023, Vol. 32, no. 7-8, pp. 969-995.
15. Walter E.J., Hanna-Jumma S., Carraretto M., Forni L. The pathophysiological basis and consequences of fever. *Crit. Care*, 2016, Vol. 20, no. 1, 200. doi: 10.1186/s13054-016-1375-5.
16. Watts R., Robertson J. Non-pharmacological management of fever in otherwise healthy children. *JBI Libr. Syst. Rev.*, 2012, Vol. 10, no. 28, pp. 1634-1687.

Авторы:

Найдёнкина С.Н. – к.м.н., доцент кафедры поликлинической педиатрии и пропедевтики детских болезней ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Удмуртская Республика, Россия

Authors:

Naydenkina S.N., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Outpatient Pediatrics and Propaedeutics of Childhood Diseases, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Udmurt Republic, Russian Federation

Ермакова М.К. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой поликлинической педиатрии и пропедевтики детских болезней ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Удмуртская Республика, Россия

Ermakova M.K., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Outpatient Pediatrics and Propaedeutics of Childhood Diseases, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Udmurt Republic, Russian Federation

Мотигуллин Р.Р. — студент педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ, г. Ижевск, Удмуртская Республика, Россия

Motigullin R.R., Student, Faculty of Pediatrics, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Udmurt Republic, Russian Federation

Поступила 29.04.2025
Отправлена на доработку 15.05.2025
Принята к печати 22.06.2025

Received 29.04.2025
Revision received 15.05.2025
Accepted 22.06.2025

Аббасова В.С.	1003, 1067	Литвинова Л.С.	931
Азизова З.Ш.	1055, 1061	Лозовая П.Б.	979
Актанова А.А.	939	Ломтатидзе Л.В.	1073
Александров А.В.	1009, 1015	Лягуша Д.Э.	983
Александрова Н.В.	1015	Маннопжонов П.Б.	1061
Александров В.А.	1009	Мелашенко О.Б.	931
Алексеева Н.А.	901	Минина А.С.	931
Алёхина И.Ю.	1015	Михайлова Н.А.	919
Афридонова З.Э.	1033	Мовсисян Г.Б.	971
Барова Н.К.	983	Мотигуллин Р.Р.	1081
Безуглов И.Д.	1015	Мусаходжаева Д.А.	1055, 1061
Боева О.С.	1003, 1067	Найдёнкина С.Н.	1081
Борисевич В.И.	1003, 1067	Нестерова И.В.	983
Бурмистрова А.Л.	947	Нефедьева Ю.В.	999
Вавилова Ю.Д.	901	Никитин М.В.	1015
Вольский Н.Н.	907	Норка А.О.	1023
Воробьев С.В.	1023	Олимова Н.И.	1055
Гаврилова Е.Д.	907	Омельченко В.О.	1003
Газатова Н.Д.	931	Пашинина О.А.	1047
Гойман Е.В.	907	Пашкина Е.А.	939, 1003
Гончаров А.Г.	931	Пашкова Т.М.	1047
Гриценко В.А.	1047	Пашков Е.А.	925
Деев С.М.	901	Первенецкая Т.Н.	931
Демина Д.В.	1067	Петричук С.В.	953, 971
Демченко Е.Н.	907	Пиктурно С.Н.	893
Денисова В.В.	939	Пирогова А.И.	1073
Добрынина М.А.	1039	Поезжаев Е.А.	893
Ермакова М.К.	1081	Поляных Е.Д.	979
Жужула А.А.	971	Попова Л.П.	1047
Закиров Р.Ш.	953	Потапов А.С.	971
Зборовская И.А.	1015	Рузимуродов Н.Ф.	1055
Зверев В.В.	925	Русакова К.А.	947
Зиганшин О.Р.	999	Рустамова Н.Б.	1061
Зурочка А.В.	1039	Рыбакова А.Д.	1003
Зурочка В.А.	1039	Сафонцева А.Д.	983
Иванова И.С.	965	Сахаров С.П.	979
Иванова О.Н.	965	Свитич О.А.	925
Исмаилова Д.У.	1061	Семикина Е.Л.	971, 1033
Кабанчук Н.А.	931	Сидорова М.В.	913
Калиниченко Е.О.	919	Сидоров Н.Г.	919
Карасева О.В.	953	Скачков И.П.	939
Карташова О.Л.	1047	Сновская М.А.	971
Ковалева С.В.	893	Сорокина Е.В.	919
Коваленко Е.И.	887, 901	Стрельцова М.А.	901
Козлов В.А.	1003, 1067	Тетерин Ю.В.	893
Козырева О.В.	919	Топтыгина А.П.	1033
Коптева А.	931	Тотоян Арег А.	1023
Коробова З.Р.	1023	Тучина О.П.	913
Королев М.А.	1003	Устюжанина М.О.	887
Костоломова Е.Г.	979	Филиппова Ю.Ю.	947
Кузнецова Р.Н.	1023	Филиппов Е.Ф.	1073
Кузьмин М.Д.	1047	Фисенко А.П.	971
Кулакова А.С.	993	Хазиахматова О.Г.	931
Куликова Л.А.	925	Чапурина В.Н.	983
Курбатова О.В.	971	Чудилова Г.А.	983
Курилова Е.А.	913	Шилова Л.Н.	1009
Курочкина Ю.Д.	1003	Шишкова Ю.С.	999
Лебедева Т.П.	913	Шуплецова В.В.	931

аденомиоз	1062	острое воспаление	1082
активационные маркеры	979	периферическая кровь	979
активация клеток	920	пирексия	1082
аллергические заболевания	1067	политравма	954
ангиопоэтин-подобные белки	1009	постковидный синдром	1040
анкилозирующий спондилит	1016	прогноз исхода	954
антигены условно-патогенных бактерий	920	прорывной иммунитет	1034
антилизоцимная активность	1048	пространственная память	913
антинуклеарный фактор на клеточной линии Hep-2	972	протоочная цитометрия	940, 948
антитела	1034	псориаз	999
антицитокинная активность	1048	расстройства аутистического спектра	948
артериальная гипертензия	1009	ревматоидный артрит	1004
атопический дерматит	1067	регистр	965
аутоантитела к гладким мышцам	972	респираторные инфекции	1073
аутоантитела к микросомам печени и почек 1-го типа	972	РНК-интерференция	926
аутоантитела к митохондриям	972	санаторно-курортное лечение	1016
аутоантитела к париетальным клеткам желудка	972	синдром	965
аутоиммунные заболевания	1004	синдром поликистозных яичников	1055
аутоиммунный гепатит	972	синдром полиорганной недостаточности	954
аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток	940	синовит	1009
бенрализумаб	1067	системная красная волчанка	907
билирубин	999	скорость оседания эритроцитов	999
болезнь Вильсона	972	солидные опухоли	902
бронхиальная астма	1067	солнечная инсоляция	1016
вирусная пневмония	1040	способность к биоупленкообразованию	1048
витамин D	1016	стафилококки	1048
внеклеточная ДНК	907	субпопуляции	954, 984
воспаление	907	субпопуляции нейтрофильных гранулоцитов	1073
ВПГ-1	926	сыворотка	1055, 1062
врожденные лимфоидные клетки	1004	температурофобия	1082
врожденный иммунитет	920, 1004	триглицериды	999
высокодозная химиотерапия	940	тройной субстрат LKS Mouse	972
гексапептид	894, 984	тромбоциты	932
генно-инженерная биологическая терапия	1067	тяжелая травма	954
гипертермия	1082	хемокины	932, 1024, 1062
гиппокамп	913	химерный антигенный рецептор	902
гормоны	1055	холестерин	999
дети	948, 954, 972, 984, 1082	хроническая обструктивная болезнь легких	894, 1073
дисбаланс	1055	хроническая реакция «трансплантат против хозяина»	907
донорская кровь	932	хронический бактериальный простатит	1048
дупилумаб	1067	хроническое воспаление	1082
женщины	1055, 1062	цереброспинальная жидкость	1024
иммунитет	1062	цитокины	913, 926, 1055
иммунная система	1040	Челябинская область	999
иммуноглобулины	965	черепно-мозговая травма	1024
иммунодефицит	965, 1073	экспериментальная модель	907
иммунодиагностика	1073	экспрессия генов	926
иммунокомпрометированность	894	энтерококки	1048
иммунокоррекция	894	эффektorные функции	984
иммунологическая память	1034	CAR	902
иммуностарение	894, 1073	CD54	920
иммуносупрессия	940	COVID-19	888, 1034
иммунотерапия	984	CXCL8-лиганды	1024
индекс системной воспалительной реакции	1016	CXCL9-лиганды	1024
интенсивность боли	1016	CXCL10-лиганды	1024
интерлейкин	1062	CXCR3-лиганды	1024
инфекционные осложнения	954	C-реактивный белок	999
инфекция SARS-CoV-2	1040	DARPin	902
клеточный иммунитет	1034	hCMV	888
компьютерная томография	1040	HER2	902
культуральные среды	932	HLA-DR	940
лизат тромбоцитов	932	HLA-E	940, 1067
лихорадка	1082	HLA-G	940
менструация	1055	ICAM-1	920
метаболизм	993	IFN α	926
метаболический синдром	1009	IFN β	926
микроглия	913	IL-3	948
микроглия-подобные клетки	948	IL-6	993
миРНК	926	ILC	1004
множественная миелома	940	JAK/STAT-сигнальная система	993
модели <i>in vitro</i>	948	KIR	888
моноциты	920	NKG2	888
мутация	965	NK-клетки	888, 902
нейровоспаление	913	Nup98	926
нейрогенез	913	SARS-CoV-2	1034
нейтрофильные гранулоциты	894, 984	scRNAseq	888
низкорослость	965	sIgA-протеазная активность	1048
ожирение	993, 1009	SOCS	993
ожоговая болезнь	979	STAT	993
остеоартрит	1009	Th1/Th2-баланс	907
острая деструктивная пневмония	984	T-лимфоциты	979
		U937	920

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ЛАБОРАТОРНЫЕ КРИТЕРИИ ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ДИАГНОСТИКИ АУТОИММУННОГО ГЕПАТИТА И БОЛЕЗНИ ВИЛЬСОНА У ДЕТЕЙ» (АВТОРЫ: ЖУЖУЛА А.А., КУРБАТОВА О.В., ПЕТРИЧУК С.В., ФИСЕНКО А.П., СНОВСКАЯ М.А., МОВСИСЯН Г.Б., ПОТАПОВ А.С., СЕМИКИНА Е.Л. [с. 971-978])

ILLUSTRATIONS FOR THE ARTICLE "LABORATORY CRITERIA FOR IMPROVING THE DIAGNOSIS OF AUTOIMMUNE HEPATITIS AND WILSON'S DISEASE IN CHILDREN" (AUTHORS: ZHUZHULA A.A., KURBATOVA O.V., PETRICHUK S.V., FISENKO A.P., SNOVSKAYA M.A., MOVSISYAN G.B., POTAPOV A.S., SEMIKINA E.L. [pp. 971-978])

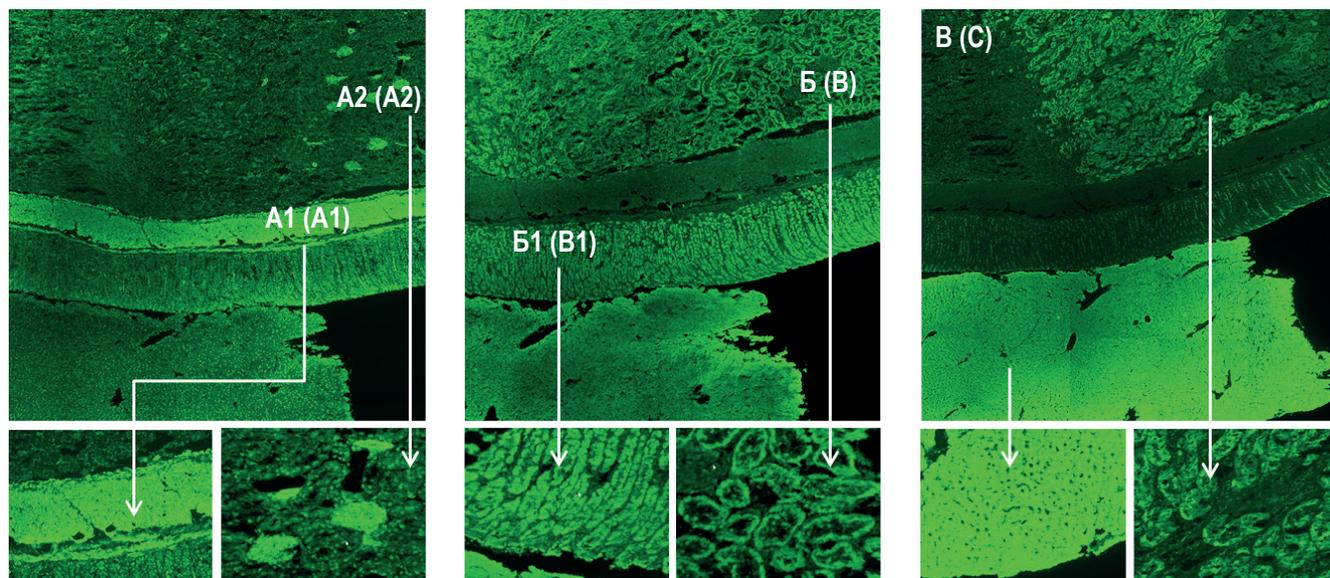


Рисунок 1. А1, 2 – аутоантитела к гладким мышцам (АСМА), Б – к митохондриям (АМА), Б1 – к париетальным клеткам желудка (РСА), В – аутоантитела к микросомам печени и почек 1-го типа (LKM-1)

Figure 1. A1, 2, autoantibodies to smooth muscles (ASMA); B, to mitochondria (AMA); B1, to parietal cells of the stomach (PCA); C, autoantibodies to liver and kidney microsomes type 1 (LKM-1)

**ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС:
ПРЕССА РОССИИ – 15590**

ISSN 1028-7221



9 771234 567898