ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ
Научно-практический рецензируемый журнал № 1, 2020

ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ
Научно-практический рецензируемый журнал

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ №ТУ74-00953

Адрес редакции: 454048, г. Челябинск, ул. Яблочкина, 24

Редакция журнала:
«ЮЖНО-УРАЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ»
тел.: 8 (351) 232-00-13
E-mail: sumed74@mail.ru
www.sumj.ru

При информационной поддержке:
Министерства здравоохранения Челябинской области
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»

Издательство:
Журнал отпечатан с оригинал-макетов в типографии Южно-Уральского Государственного гуманитарно-педагогического университета, 454080, г. Челябинск, пр. Ленина, 69

Номер подписан в печать 20.12.2020 г. Фактически 20.12.2020 г. Дата выхода 20.12.2020 г.
Распространяется бесплатно. Подписной индекс: П5518.

Перепечатка материалов допускается только с письменного разрешения редакционного совета

16+

Тираж: 500 экземпляров
Выходит 4 раза в год

Главный редактор:
Летяева О.И., д.м.н., доцент (Челябинск)
Заместитель главного редактора
Аклеев А.А., д.м.н.

Редакционный совет:
Долгушин И.И., д.м.н., профессор, академик РАН (Челябинск)
Зиганшин О.Р., д.м.н., профессор (Челябинск)
Москвичева М.Г., д.м.н., профессор (Челябинск)
Телешева Л.Ф., д.м.н., профессор (Челябинск)
Осиков М.В., д.м.н., профессор (Челябинск)

Члены редакционной коллегии:
Абрамовских О.С., д.м.н., доцент (Челябинск)
Арифов С.С., д.м.н, профессор(Узбекистан)
Балтабаев М.К., д.м.н., профессор (Киргизия)
Важенин А.В., д.м.н., профессор, академик РАН (Челябинск)
Васильев Ю.С., д.м.н. (Челябинск)
Гизингер О.А., д.б.н., професор (Москва)
Долгушина В.Ф., д.м.н., профессор (Челябинск)
Евстигнеева Н.П., д.м.н. (Екатеринбург)
Казачков Е.Л., д.м.н., профессор (Челябинск)
Кохан М.М., д.м.н., профессор (Екатеринбург)
Латюшина Л.С., д.м.н., доцент (Челябинск)
Малова И.О., д.м.н., профессор (Иркутск)
Молочков В.А., д.м.н., профессор (Москва)
Охлопков В.А., д.м.н., профессор (Москва)
Привалов А.В., д.м.н., профессор (Челябинск)
Сергеева И.Г. д.м.н., профессор (Новосибирск)
Симбирцев А.С., д.м.н., профессор, член-корр. РАН (Санкт-Петербург)
Хисматуллина З.Р., д.м.н., профессор (Уфа)
Шишкова Ю.С., д.м.н., доцент (Челябинск)
Шаназаров Н.А., д.м.н., доцент (Челябинск)
Шперлинг Н.В., д.м.н., профессор (Санкт-Петербург)
Юцковская Я.А., д.м.н., профессор (Москва)

Технические редакторы:
Семенова Н.В.
Францева О.В.

SOUTH URAL MEDICAL JOURNAL
Scientific and practical journal № 1, 2020

SOUTH URAL MEDICAL JOURNAL
Scientific and practical peer-reviewed journal

The journal is registered by Federal service for supervision of legislation in mass communications and cultural heritage protection. Certificate of registration media PI NUMBER ТУ74-00953

Editorial address: 454048, Chelyabinsk, street Yablochkina, 24

Editorial board:
"THE SOUTH URAL MEDICAL JOURNAL"
tel: 8 (351) 232-00-13
E-mail: sumed74@mail.ru
www.sumj.ru

With the information support:
The Ministry of health of the Chelyabinsk region
Of the "South Ural state medical University"

Publisher:
The magazine printed the original layouts in South Ural State Humanitarian and Pedagogical University, 69 Lenin Ave., Chelyabinsk, 454080
Room signed print on schedule 20.12.2020. In fact 20.12.2020. Release date 20.12.2020.
Distributed free of charge. Subscription index: П5518.

The reprint of materials is allowed only with the written permission of the editorial Board

16+

Circulation: 500 copies
Published 4 times a year

Editor in chief:
Letyaeva O. I., MD, associate Professor (Chelyabinsk)
Deputy editor in chief:
Akleev A.A.

Editorial Board:
Dolgushin I. I., MD, Professor, academician of the Russian Academy of Sciences (Chelyabinsk)
Ziganshin O. R., MD, Professor (Chelyabinsk)
Moskvicheva M. G., MD, Professor (Chelyabinsk)
Telesheva L. F., MD, Professor (Chelyabinsk)
Osikov M. V., MD, Professor (Chelyabinsk)

Members of the editorial Board:
Abramovskih O. S., MD, associate Professor (Chelyabinsk)
Arifov S. S., MD, Professor (Uzbekistan)
Baltabayev M. K., MD, Professor (Kyrgyzstan)
Vazhenin A.V., MD, Professor, academician of the Russian Academy of Sciences (Chelyabinsk)
Vasiliev Y.S., MD (Chelyabinsk)
Gizinger O. A., Sc. D., associate Professor (Moscow)
Dolgushina V. F., MD, Professor (Chelyabinsk)
Evstigneeva N. P., MD (Yekaterinburg)
Kazachkov E. L., MD, Professor (Chelyabinsk)
Kokhan M. M., MD, Professor (Ekaterinburg)
Latushina L. S., MD, associate Professor (Chelyabinsk)
Malova I. O., doctor of medical Sciences, Professor (Irkutsk)
Molochkov V. A., MD, Professor (Moscow)
Okhlopkov V. A., MD, Professor (Moscow))
Privalov A. V., MD, Professor (Chelyabinsk)
Sergeeva I.G. MD, Professor (Novosibirsk)
Simbirtsev A. S., MD, Professor, corresponding member of RAS (Saint Petersburg)
Khismatullina Z. R., MD, Professor (Ufa)
Shishkova Y. S., MD, associate Professor (Chelyabinsk)
Shanazarov N. A., MD, associate Professor (Chelyabinsk)
Sperling N. V., MD, Professor (Saint Petersburg)
Yutskovskaya J. A., MD, Professor (Moscow)

Technical editors:
Semenova N.V.
Frantseva O. V.

Содержание

Зотов С.О., Антонов В.Н., Осиков М.В., Игнатова Г.Л.
Современные представления о патофизиологии гемостаза при новой коронавирусной инфекции COVID-19 ---------- 4

Жорина Ю.В., Абрамовских О.С., Игнатова Г.Л.
Анализ межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов *IL4 (C-589T), IL10 (G-1082A; C-592A), IL13 (ARG130GLN)* у взрослых больных атопической бронхиальной астмой ---------- 19

Деева Н.В., Сергеева И.Г.
Взаимосвязь уровня меланина по данным мексаметрии с длительностью и активностью витилиго ---------- 32

Осиков М.В., Агеева А.А.
Ассоциация показателей репарации в очаге повреждения и иммунного статуса в крови в динамике экспериментальной термической травмы ---------- 40

Лысенко О.В., Латанская О.А.
Возможная коррекция патологии иммунной системы у больных микробной экземой ---------- 53

Белогорохов В.С.,ЗариповВ.И., Пешикова М.В., Шлепотина Н.М.
Проблема генетической изменчивости вируса иммунодефицита человека в вопросах специфической профилактики и терапии ВИЧ-инфекции ---------- 63

Долгушин И.И., Асташкина М.В., Курносенко И.В.,
Долгушина В.Ф., Никонова Т.И.
Диагностическая ценность иммунологических показателей у женщин с внутриматочной инфекцией во время беременности ---------- 76

Деева Н.В., Сергеева И.Г.
Распределение меланина в коже у пациентов с витилиго ---------- 90

Осиков М.В., Бойко М.С.
Взаимосвязь клинических проявлений с показателями иммунного статуса в динамике экспериментального язвенного колита ---------- 102

Требования к оформлению материалов ---------- 113

Для ссылки: Зотов С.О. Современные представления о патофизиологии гемостаза при новой коронавирусной инфекции COVID-19 / Зотов С.О., Антонов В.Н., Осиков М.В., Игнатова Г.Л. // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. – №1– с.4-18.

УДК616.1/.9:616-005.6

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОФИЗИОЛОГИИ ГЕМОСТАЗА ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

Зотов С.О.[1,2], Антонов В.Н.[1,2], Осиков М.В.[2,3], Игнатова Г.Л.[1,2]

[1] ГБУЗ «Областная клиническая больница №3», Челябинск, Россия
[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия
[3]ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, Россия

MODERN VIEWS ON THE PATHOPHYSIOLOGY OF HEMOSTASIS AT THE NEW CORONAVIRUS INFECTION COVID-19

Zotov S.O.[1,2], Antonov V.N.[1,2], Osikov M.V. [2,3], Ignatova G.L.[1,2]

[1]State-funded healthcare institution «Regional Clinic Hospital №3», Chelyabinsk, Russia
[2]State educational institution of higher professional education «Chelyabinsk State Medical Academy of Federal Agency of Health Care and Social Development», Chelyabinsk, Russia
[3]State-funded healthcare institution «Chelyabinsk Regional Hospital», Chelyabinsk, Russia

Конфликт интересов отсутствует.

РЕЗЮМЕ

Новая коронавирусная инфекция 2019 года (COVID-19) – это респираторное вирусное заболевание, вызванное коронавирусом SARS-CoV-2, предрасполагающее пациентов к изменению гемостаза со склонностью к образованию тромбов в венозном и в артериальном кровотоке из-за гиперергического воспаления, активации тромбоцитов, эндотелиальной дисфункции и изменения гемореологии. У многих пациентов, получающих антитромботическую терапию по разным поводам, при

возникновении COVID-19 может возникнуть необходимость оптимального выбора и дозирования препаратов, влияющих на гемостаз, интерпретации данных гемостазиологического исследования, выбора лабораторных прогностических маркеров и маркеров мониторинга антитромботической терапии. В условиях пандемии COVID-19 является востребованной оптимизация доступных технологий наблюдений за пациентами без COVID-19, у которых есть нарушения гемостаза, тромботические заболевания. В данной статье проведен критический анализ доступных данных за 2020-21 гг. в базах цитирования Pubmed, Medline и представлены современные представления об эпидемиологии, патогенезе, ведении и исходах у пациентов с COVID-19 с сопутствующим венозным и/или артериальным тромбозом, у пациентов с COVID-19 с отягощенным тромботическим анамнезом, у пациентов, нуждающихся в оптимизации диагностических, профилактических, терапевтических мероприятиях по отношению к тромботическим заболеваниям во время пандемии COVID-19.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, гемостаз, патогенез, тромбоз, антикоагулянт, антиагрегант, антитромботическая терапия.

SUMMARY

Coronavirus disease-2019 (COVID-19), a viral respiratory illness caused by the severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2), may predispose patients to thrombotic disease, both in the venous and arterial circulations, because of excessive inflammation, platelet activation, endothelial dysfunction, and changes in hemorheology. Many patients receiving antithrombotic therapy for thrombotic disease may develop COVID-19, which can have implications for choice, dosing, and laboratory monitoring of antithrombotic therapy. During a time with much focus on COVID-19, it is critical to consider how to optimize the available technology to care for patients without COVID-19 who have thrombotic disease. This article provides a critical analysis of patients with COVID-19 who develop venous or arterial thrombosis, of those with pre-existing thrombotic disease who develop COVID-19, or those who need prevention or care for their thrombotic disease during the COVID-19 pandemic.

The purpose of this work is to conduct a reviw of the available data for 2020-21 in the Pubmed, Medline citation bases and to formulate modern ideas about the epidemiology, pathogenesis, management and outcomes in patients with COVID-19 with concomitant venous and/or arterial thrombosis, in patients with COVID-19 with a burdened thrombotic history, in patients in need of optimization diagnostic, preventive, therapeutic measures in relation to thrombotic diseases during the COVID-19 pandemic.

Key words: SARS-CoV-2, COVID-19, hemostasis, pathogenesis, thrombosis, anticoagulant, antiplatelet, antithrombotic therapy.

ВВЕДЕНИЕ

SARS-CoV-2 – это коронавирус с одноцепочечной РНК, который проникает в клетки человека преимущественно путем связывания с рецептором ангиотензин-превращающего фермента 2, который экспрессируется в эндотелиоцитах легочных капилляров, альвеолоцитах, кардиомиоцитах и других клетках [1, 2]. Основной путь передачи SARS-CoV-2 – воздушно-капельный после вдыхания вирусных частиц и их попадания в дыхательные пути [3]. Вирус может выживать от 24 до 72 ч. на различных поверхностях, что делает возможной контактную передачу. Начальные симптомы COVID-19 совпадают с другими вирусными заболеваниями и включают лихорадку, усталость, головную боль, кашель, одышку, диарею, головные боли и миалгии [4]. Как и в случае других вирулентных зооантропонозных коронавирусных инфекций, таких как ТОРС (тяжелый острый респираторный синдром) и ближневосточный респираторный синдром, COVID-19 может привести к тяжелому заболеванию, включая синдром системного воспалительного ответа (ССВО), синдром острого респираторного заболевания (ОРДС), поражение нескольких органов и шок [5]. Хотя пожилой возраст и сопутствующие сердечно-сосудистые и другие заболевания увеличивают риск тяжелого заболевания и осложнений, молодые и относительно здоровые пациенты также подвержены риску осложнений. Общие лабораторные отклонения, обнаруживаемые у пациентов с COVID-19, включают лимфоцитопению, повышение активности лактатдегидрогеназы и концентрации в сыворотке острофазовых маркеров, таких как С-реактивный белок, D-димер, ферритин, интерлейкин-6 (IL-6) [4, 6]. Уровни IL-6 могут коррелировать с тяжестью заболевания и профилем прокоагулянта [7].

Существует несколько путей, которыми пандемия COVID-19 может повлиять на профилактику и лечение тромботических и тромбоэмболических заболеваний (далее для краткости совместно именуемых тромботическими заболеваниями). Во-первых, прямые или косвенные эффекты COVID-19, например, высокая степень тяжести и сопутствующая гипоксия могут предрасполагать к тромботическим явлениям. Предварительные отчеты показывают, что нарушения гемостаза, включая диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС), возникают у пациентов, пораженных COVID-19 [8]. ССВО, критические осложнения и лежащие в основе традиционные факторы риска могут предрасполагать к тромботическим событиям, как и предыдущие вспышки вирулентного зооантропонозного коронавируса [9]. Во-вторых, применяемые методы лечения COVID-19 могут иметь неблагоприятные ле-

карственные взаимодействия с антиагрегантами и антикоагулянтами. В-третьих, пандемия COVID-19 из-за выделения ресурсов или рекомендаций по социальному дистанцированию может отрицательно сказаться на уходе за пациентами без COVID-19, но у которых есть эпизоды тромбозобразования. Например, ошибочное представление о том, что антитромботические средства повышают риск осложнений при COVID-19, может привести к нежелательному прерыванию антикоагуляции некоторыми пациентами.

Цель работы – провести критический анализ доступных данных за 2020-21 гг. в базах цитирования Pubmed, Medline и сформулировать современные представления об эпидемиологии, патогенезе, ведении и исходах у пациентов с COVID-19 с сопутствующим венозным и/или артериальным тромбозом, у пациентов с COVID-19 с отягощенным тромботическим анамнезом, у пациентов, нуждающихся в оптимизации диагностических, профилактических, терапевтических мероприятиях по отношению к тромботическим заболеваниям во время пандемии COVID-19.

COVID-19 и гемостаз. Наиболее устойчивые нарушения гемостаза при COVID-19 включают легкую тромбоцитопению [10] и повышенные уровни D-димера [11], которые связаны с необходимостью искусственной вентиляции легких, нахождения в отделение реанимации (ОРИТ) или смертью (таблица 1). Данные, относящиеся к другим тестам, менее значимы и часто противоречивы [12]. Тяжесть COVID-19 неодинаково связана с удлинением протромбинового времени (ПВ) и международного нормализованного отношения (МНО), тромбиновым временем (ТВ), с тенденцией к сокращению активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) [13, 14]. Tangetal. обследовали 183 пациента с COVID-19, из которых 21 (11,5%) умерли, среди заметных различий между умершими и выжившими пациентами были повышенные уровни D-димера и продуктов распада фибрина (в 3,5 и 1,9 раза соответственно) и удлинение протромбинового времени (на 14%) [15]. Кроме того, 71% умерших пациентов с COVID-19 соответствовали критериям Международного общества по тромбозам и гемостазу (ISTH) для ДВС-синдрома, по сравнению с 0,6% среди выживших [16]. В совокупности эти гемостазиологические изменения указывают на формы коагулопатии, которые предрасполагают к тромботическим событиям, хотя их причина неизвестна. Тем не менее, пока неизвестно, являются ли эти изменения специфическим эффектом SARS-CoV-2 или же следствием цитокинового шторма и других событий, которые инициируют ССВО, как это наблюдается при других вирусных заболеваниях [17]. Кроме этого, изменения гемостаза, наблюдаемые при COVID-19, связаны с дисфункцией гепатоцитов – продуцентов факторов гемостаза и антигемостаза [18]. Сообщается о 3 случаях тяжелой формы COVID-19 и инфаркта головного мозга, из которых 1 был связан с дву-

сторонней ишемией конечностей на фоне повышенного уровня антифосфолипидных антител. Вопрос о том, играют ли антифосфолипидные антитела основную роль в патофизиологии тромбоза, связанного с COVID-19, требует дальнейшего изучения [19].

COVID-19, маркеры повреждения миокарда и тромботических заболеваний. Повышенный уровень тропонина в сыворотке связан с летальными исходами при COVID-19 [20]. Дифференциальная диагностика при повышенном тропонине в сыворотке при COVID-19 включает множество патологий: неспецифическое повреждение миокарда, нарушение функции почек, миокардит, тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) и инфаркт миокарда 1 и 2 типа [21, 22]. Повышение в сыворотке натрийуретического пептида неспецифично, и рассмотрение тромботических событий следует интерпретировать только в соответствующем клиническом контексте.

Перспективы применения антиагрегантов и антикоагулянтов при COVID-19. Изучены ряд средств для лечения COVID-19, которые могут взаимодействовать с пероральными антиагрегантами. Так, лопинавир/ритонавир является ингибитором протеазы и подавляет метаболизм CYP3A4. Хотя активный метаболит клопидогреля в основном формируется из CYP2C19 ингибирование CYP3A4 может привести к снижению эффективной дозировки клопидогреля. Напротив, ингибирование CYP3A4 может усиливать действие тикагрелора. Следовательно, следует с осторожностью применять эти средства одновременно с лопинавиром/ритонавиром. Несмотря на ограниченные клинические данные можно рассмотреть возможность использования теста функции тромбоцитов P2Y12 в качестве руководства по применению клопидогреля или тикагрелора в этих условиях. Альтернативой при отсутствии противопоказаний является прием прасугреля, который не подвержен этим взаимодействиям [23, 24, 25]. Ремдесивир, нуклеотидный аналог ингибитора РНК-зависимой РНК-полимеразы, как сообщается, является индуктором CYP3A4; однако корректировка дозы пероральных антиагрегантов в настоящее время не рекомендуется. Следует отметить, что не существует известных основных лекарственных взаимодействий между исследуемыми методами лечения COVID-19 и парентеральными антиагрегантами, такими как кангрелор и ингибиторы гликопротеина IIb/IIIa.

Лопинавир/ритонавир также может влиять на выбор и дозировку ряда антикоагулянтов. Например, антагонисты витамина К апиксабан и бетриксабан могут потребовать корректировки дозы, в то время как эдоксабан и ривароксабан не следует назначать одновременно с лопинавиром/ритонавиром. Тоцилизумаб, ингибитор IL-6, увеличивает экспрессию CYP3A4, не рекомендуется корректировать дозу антикоагулянта при одновременном применении тоцилизумаба. Нет данных о ле-

карственных взаимодействиях между средствами, используемыми для лечения COVID-19 и парентеральными антикоагулянтами.

COVID-19 и ОКС. Повреждение миокарда при COVID-19, о чем свидетельствуют повышенные уровни тропонина или электрокардиографические и эхокардиографические признаки связано с тяжелыми случаями течения инфекции [26]. Однако не все такие события связаны с тромботическим ОКС. Описаны единичные случаи, когда пациенты с COVID-19 поступали с ОКС из-за разрыва бляшки (ИМ 1 типа). Такие случаи были ранее описаны при гриппе и других вирусных заболеваниях и были связаны с комбинацией ССВО, а также локальным воспалением сосудов или бляшек [27, 28, 29]. В случаях, соответствующих ОКС из-за разрыва бляшки (например, ИМ 1-го типа), следует применять двойную антиагрегантную терапию и полную дозу антикоагулянтов в соответствии с федеральными клиническими рекомендациями, если нет противопоказаний [30]. У пациентов с предполагаемым повышенным риском кровотечения следует рассмотреть режимы с менее мощными антиагрегантами, такими как клопидогрел, учитывая, что геморрагические осложнения не редкость. Особое внимание следует уделять лекарственному взаимодействию между антиагрегантами или антикоагулянтами и пробными методами лечения COVID-19. Как правило, парентеральные антитромботические средства не взаимодействуют с подобными методами лечения COVID-19 [31].

Жизнеугрожающие состояния при COVID-19. Риск венозных тромбоэмболий (ВТЭ), который всегда повышается у пациентов в тяжелом состоянии, вероятно, даже выше у пациентов с тяжелой формой COVID-19. Помимо нарушений гемостаза неподвижность (системное воспалительное состояние), искусственная вентиляция легких и центральные венозные катетеры способствуют риску ВТЭ в отделениях интенсивной терапии, дефицит питательных веществ и дисфункция печени также могут препятствовать синтезу факторов гемостаза [32, 33, 34, 35]. Изменения фармакокинетики у пациентов в критическом состоянии могут потребовать корректировки дозы антикоагулянтов из-за факторов, связанных с абсорбцией, метаболизмом и почечной (или печеночной) элиминацией этих препаратов на фоне потенциальной дисфункции органов [36]. Парентеральная антикоагулянтная терапия рекомендуется в большинстве случаев, когда антикоагулянтная терапия необходима при известном тромботическом заболевании. Нефракционированный гепарин можно использовать перед различными запланированными манипуляциями или у пациентов с ухудшением функции почек. Если не предвидится никаких срочных процедур, разумной альтернативой являются низкомолекулярные гепарины [37]. Пациентам, нуждающимся в экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО), часто требуется антикоагуляция для поддержания проходимости контура, особенно при

более низких настройках потока. Частота гемостазиологических осложнений у пациентов с COVID-19 неизвестна, но частота тромбозов и кровотечений может достигать 53% и 16% соответственно у других больных с дыхательной недостаточностью [38]. Ограниченные данные об исходах, доступные для ЭКМО у пациентов с COVID-19, предполагают плохие результаты: 5 из 6 пациентов умерли в одной серии и 3 из 3 – в другой [39]. В настоящее время недостаточно данных для рекомендаций подходов антикоагуляции для пациентов с COVID-19, которым требуется ЭКМО [40].

Как упоминалось ранее, тяжелая форма COVID-19 предрасполагает к ДВС-синдрому, у таких пациентов особенно плохие исходы заболевания [15]. Поддерживающая терапия и устранение основной гипоксии или коинфекции уместны [16]. Недостаточно данных, чтобы рекомендовать пороговые значения для переливания, которые отличаются от тех, которые рекомендуются для других пациентов в критическом состоянии. Если планируются инвазивные процедуры, можно рассмотреть вопрос о профилактическом переливании тромбоцитов, свежезамороженной плазмы, фибриногена и концентрата протромбинового комплекса. Наконец, у пациентов, которым требуется целенаправленное регулирование температуры, может наблюдаться пролонгирование ПТВ и АЧТВ без признаков геморрагического синдрома [41]. Поэтому коррекция коагулопатии у неотобранных пациентов без явного кровотечения в настоящее время не рекомендуется.

Возможные последствия лечения тромбозов при COVID-19. Всемирная организация здравоохранения и правительства различных стран признали критическую важность вмешательств общественного здравоохранения на социальном уровне (включая социальное дистанцирование и самоизоляцию) для ограничения передачи SARS-CoV-2 и облегчения бремени на здравоохранение в условиях пандемии [42]. В наиболее пострадавших странах правительства ввели обязательный домашний карантин для большинства граждан [43, 44]. Есть несколько важных вопросов, которые следует учитывать при подобных вмешательствах. Во-первых, учитывая рекомендации оставаться дома, с пониженной повседневной активностью и малоподвижным образом жизни, пациенты могут подвергаться повышенному риску венозных тромбоэмболий [45]. Клиницисты должны знать об этом (особенно у пожилых людей и пациентов с повышенным риском) и просвещать их о важности домашних занятий для снижения этого риска [46]. Во-вторых, поскольку нарушается распорядок дня, изменения в диете (особенно в ежедневном потреблении зеленых овощей, которые являются основным источником витамина К) могут повлиять на пациентов, получающих антагонисты витамина К. По мере ужесточения карантинных мер изменения в диете и потреблении витамина К могут повлиять на значения

МНО. Практикующие врачи и пациенты должны знать об этих рисках, и пациентам следует рекомендовать придерживаться стабильной диеты в меру своих возможностей. В-третьих, пандемия COVID-19 вызвала разрушительные экономические последствия, при этом, по оценкам Организации Объединенных Наций, COVID-19, вероятно, обойдется мировой экономике в более чем 2 триллиона долларов в 2020 году [47]. Эти потери могут отрицательно сказаться на лечении пациентов от тромботических заболеваний. Неблагоприятное социально-экономическое положение было связано с более высокими показателями ВТЭ и неблагоприятных исходов [48]. По мере того, как экономические последствия COVID-19 продолжают развиваться, эти сообщества могут столкнуться с новыми значительными потрясениями в здравоохранении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для детального понимания патофизиологии гемостаза, патогенеза тромботических осложнений при COVID-19 требуется больше данных по исследованиям высокого качества, в частности проспективных многоцентровых международных исследований. Такие данные могут помочь выявить сходства и различия в проявлениях болезни и исходах у пациентов с COVID-19 при ранее существовавших или возникших нарушениях гемостаза, а также помочь определить стратегии управления для оптимизации результатов лечения этих пациентов. В настоящее время сформирован крупный международный регистр пациентов с венозной тромбоэмболией RIETE (RegistroInformatizadoEnfermedadTromboEmbólica), который включает данных больных при COVID-19, инициируется специализированный проспективный регистр для изучения COVID-19 и других сердечно-сосудистых исходов CORONA-VTE (Исследовательская группа по тромбозам (BWH)) [49]. Запущен многоцентровой международный регистр ACS, а также новый регистр AHA для сердечно-сосудистой помощи и оценки результатов лечения этих пациентов. Особое внимание следует уделять пациентам с уже существующей тромбоэмболической болезнью, которые имеют ограниченный доступ к медицинской помощи в условиях пандемии COVID-19, которая затрудняет транспортировку и ограничивает ресурсы системы здравоохранения. Финансирующие агентства, профессиональные сообщества и организации с активным участием пациентов будут играть важную роль в будущих исследованиях в этой области [50]. Координация и сотрудничество необходимы для быстрого решения приоритетных задач исследований, в том числе связанных с тромботическими заболеваниями. Профессиональные сообщества, включая AHA, ESC, ISTH, Международный союз ангиологов и другие, должны генерировать и распространять знания, вести пропагандистскую деятельность в этой

сложной обстановке, представить рекомендации по тромботическим заболеваниям и антитромботической терапии во время пандемии COVID-19. Следует учитывать нюансы разговоров между пациентами и практикующими врачами для принятия соответствующих ориентированных на пациента решений. Тромботические состояния и другие изменения гемостаза могут быть прецедентными факторами или случайными осложнениями у пациентов с COVID-19. Следует помнить о важных аспектах профилактического и терапевтического использования антитромботических средств для смягчения тромботических и геморрагических событий у этих пациентов из группы высокого риска. Финансирующие агентства, профессиональные сообщества, пациенты, клиницисты и исследователи должны работать вместе, чтобы эффективно и быстро устранять многочисленные критические пробелы в области патофизиологии гемостаза при COVID-19.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Walls A.C., Park Y.J., Tortorici M.A. et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. Cell 2020; 181: 281-292.
2. Zhang H., Penninger J.M., Li Y. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. Intensive Care Medicine 2020; 46: 586-590.
3. Huang C., Wang Y., Li X. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet 2020; 395: 497-506.
4. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020; 579: 270-273.
5. Wu Z., McGoogan J.M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. JAMA 2020; 13: 1239-1242.
6. Zhou F., Yu T., Du R. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. Lancet 2020; 395: 1054-1062.
7. Libby P., Simon D.I. Inflammation and thrombosis: the clot thickens. Circulation 2001; 103: 1718-1720.
8. Tang N., Li D., Wang X., Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. JournalofThrombosisandHaemostasis 2020; 18: 844-847.
9. Lew T.W., Kwek T.K., Tai D. Acute respiratory distress syndrome in critically ill patients with severe acute respiratory syndrome. JAMA 2003; 290: 374-380.
10. Lippi G., Plebani M., Henry B.M. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis. ClinicaChimicaActa 2020; 506: 145-148.

11. Lippi G., Favaloro E.J. D-dimer is associated with severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a pooled analysis. JournalofThrombosisandHaemostasis 2020; 120: 876-878.

12. Han H., Yang L., Liu R. Prominent changes in blood coagulation of patients with SARS-CoV-2 infection. ClinicalChemistryandLaboratoryMedicine 2020; 58: 1116-1120.

13. Huang C., Wang Y., Li X. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet 2020; 395: 497-506.

14. Gao Y., Li T., Han M. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. JournalofMedicalVirology 2020; 92: 791-796.

15. Tang N., Li D., Wang X., Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. Journal of Thrombosis and Haemostasis 2020; 18: 844-847.

16. Levi M., Toh C.H., Thachil J., Watson H.G. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. British Committee for Standards in Haematology. British Journal of Haematology 2009; 145: 24-33.

17. Borges A.H., O'Connor J.L., Phillips A.N. Factors associated with D-dimer levels in HIV-infected individuals. PLoSOne 2014; 9 (3): e90978.

18. Zhang C., Shi L., Wang F.S. Liver injury in COVID-19: management and challenges. LancetGastroenterologyandHepatology 2020; 5: 428-430.

19. Zhang Y., Xiao M., Zhang S. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with Covid-19. NewEnglandJournalofMedicine 2020; 382:38.

20. Lippi G., Lavie C.J., Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. Progress in Cardiovascular Diseases 2020; 63: 390-391.

21. Zimmermann F.M., De Bruyne B., Pijls N.H. Rationale and design of the Fractional Flow Reserve versus Angiography for Multivessel Evaluation (FAME) 3 Trial: a comparison of fractional flow reserve-guided percutaneous coronary intervention and coronary artery bypass graft surgery in patients with multivessel coronary artery disease. AmericanHeartJournal 2015; 170: 619-626.

22. JanuzziJ.L.Jr. Troponin and BNP use in COVID-19. Cardiology Magazine 2020; 54: 32-37.

23. Prescribing information Brilinta (ticagrelor). Wilmington, DE: AstraZeneca LP; 2011.

24. Itkonen M.K., Tornio A., Lapatto-Reiniluoto O. Clopidogrel increases dasabuvir exposure with or without ritonavir, and ritonavir inhibits the bioactivation of clopidogrel. ClinicalPharmacologyandTherapeutics 2019; 105: 219-228.

25. Marsousi N., Daali Y., Fontana P. Impact of boosted antiretroviral therapy on the pharmacokinetics and efficacy of clopidogrel and prasugrel active metabolites. ClinicalPharmacokinetics 2018; 57: 1347-1354.

26. Driggin E., Madhavan M.V., Bikdeli B. Cardiovascular considerations for patients, health care workers, and health systems during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. JournaloftheAmericanCollegeofCardiology 2020; 75: 2352-2371.

27. Madjid M., Aboshady I., Awan I. et al. Influenza and cardiovascular disease: is there a causal relationship? Texas Heart Institute Journal 2004; 31: 4-13.

28. Kwong J.C., Schwartz K.L., Campitelli M.A. Acute myocardial infarction after laboratory-confirmed influenza infection. NewEnglandJournalofMedicine 2018; 378: 345-353.

29. Corrales-Medina V.F., Madjid M., Musher D.M. Role of acute infection in triggering acute coronary syndromes. LancetInfectiousDiseases 2010; 10: 83-92.

30. Thygesen K., Alpert J.S., Jaffe A.S. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction. Journal of the American College of Cardiology 2018; 72: 2231-2264.

31. Albertsen I.E., Nielsen P.B. Searching for high-risk venous thromboembolism patients using risk scores: adding to the heap or closing a gap? ThrombosisandHaemostasis 2018; 118: 1686-1687.

32. Cook D., Attia J., Weaver B. et al. Venous thromboembolic disease: an observational study in medical-surgical intensive care unit patients. Journal of Critical Care 2000; 15: 127-132.

33. Minet C., Potton L., Bonadona A. Venous thromboembolism in the ICU: main characteristics, diagnosis and thromboprophylaxis. JournalofCriticalCare 2015; 19: 287.

34. Geerts W., Selby R. Prevention of venous thromboembolism in the ICU. Chest 2003; 124: 357.

35. Crowther M.A., McDonald E., Johnston M., Cook D. Vitamin K deficiency and D-dimer levels in the intensive care unit: a prospective cohort study. BloodCoagulationandFibrinolysis 2002; 13: 49-52.

36. Smith B.S., Yogaratnam D., Levasseur-Franklin K.E. et al. Introduction to drug pharmacokinetics in the critically iii patient. Chest 2012; 141: 1327-1336.

37. Kahn S.R., Lim W., Dunn A.S. Prevention of VTE in nonsurgical patients: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest 2012; 141: 195-226.

38. Sklar M.C., Sy E., Lequier L. et al. Anticoagulation practices during venovenous extracorporeal membrane oxygenation for respiratory failure. A systematic review. Annals of the American Thoracic Society 2016; 13: 2242-2250.

39. Zhou F., Yu T., Du R. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. Lancet 2020; 395: 1054-1062.

40. Wada H., Thachil J., Di Nisio M. Guidance for diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation from harmonization of the recommendations from three guidelines. JournalofThrombosisandHaemostasis 2013; 11: 761-767.

41. Stockmann H., Krannich A., Schroeder T., Storm C. Therapeutic temperature management after cardiac arrest and the risk of bleeding: systematic review and meta-analysis. Resuscitation 2014; 85: 1494-1503.

42. Kluge H.H.P. Statement – Every country needs to take boldest actions to stop COVID-19. In :World Health Organization. Copenhagen; 2020.URL: https://www.euro.who.int/en/about-us/regional-director/statements-and-speeches/2020/statement-every-country-needs-to-take-boldest-actions-to-stop-covid-19 (датаобращения : 18.02.2021).

43. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): 15-day Pause. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). In: Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, GA; 2020. URL : https://dph.georgia.gov/15-days-slow-spread (дата обращения : 23.02.2021).

44. Zanin M., Xiao Ch., Liang T. The public health response to the COVID-19 outbreak in mainland China: a narrative review. Journal of Thoracic Disease 2020; 12(8): 4434-4449.

45. Stay physically active during self-quarantine. In :World Health Organization. Regional Office for Europe.Copenhagen; 2020. URL: https://www.euro.who.int/en/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/publications-and-technical-guidance/noncommunicable-diseases/stay-physically-active-during-self-quarantine (дата обращения : 18.02.2021).

46. OECD Economic Outlook. Interim Report March 2020.In: OECDiLibrary. URL: https://www.oecd-ilibrary.org/economics/oecd-economic-outlook/volume-2019/issue-2_7969896b-en (датаобращения : 18.02.2021).

47. Kort D., van Rein N., van der Meer F.J.M. Relationship between neighborhood socioeconomic status and venous thromboembolism: results from a population-based study. JournalofThrombosisandHaemostasis 2017; 15: 2352-2360.

48. Bikdeli B., Jimenez D., Hawkins M. Rationale, design and methodology of the computerized registry of patients with venous thromboembolism (RIETE). JournalofThrombosisandHaemostasis 2018; 118: 214-224.

49. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): information for NIH applicants and recipients of NIH funding.In: Grants&Funding.URL:https://grants.nih.gov/grants/natural_disasters/coronavirus.htm (датаобращения : 18.02.2021).

50. Yang X., Yu Y., Xu J. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. Lancet Respir Med 2020; 8: 475-481.

51. Wang D., Hu B., Hu C. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. JAMA 2020; 323: 1061-1069.

52. Wu C., Chen X., Cai Y. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. JAMA Internal Medicine 2020; 180: 934-943.

53. Bikdeli B.,Madhavan M.V., Jimenez D. et al. COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy, and Follow-Up: JACC State-of-the-Art Review.J Am CollCardiol 2020; 75: 2950-2973.

Таблица 1. Связь между нарушениями коагуляции, маркерами тромбоза и клиническими исходами у пациентов с COVID-19 [53].

Исследование Показатель	Hanet al., 2020 [12] (N = 94)	Huanget al., 2020 [3] (N = 41)	Yanget al., 2020 [51] (N = 52)	Zhouet al., 2020 [6] (N = 191)	Gaoet al., 2020 [14] (N = 43)	Wanget al., 2020 [52] (N = 138)	Wuet al., 2020 [53] (N = 201)
1	2	3	4	5	6	7	8
Тромбоциты Условия сравнения		ОРИТ / не ОРИТ	Смерть / выписка	Смерть / выписка		ОРИТ / не ОРИТ	Смерть / выписка
Результат, количество в мм3		196 (165–263) / 149 (131–263)	191 (74) / 164 (63)	166 (107–229) / 220 (168–271)		142 (110–202) / 165 (125–188)	162 (111–231) / 204 (137–263)
Д-димер Условия сравнения	Тяжелое / не-тяжелое тече-ние	ОРИТ / не ОРИТ		Смерть / выписка	Тяжелое / не-тяжелое тече-ние	ОРИТ / не ОРИТ	Смерть / выписка
Результат, мг/л	19,1 / 2,1	2.4 (0.6–14.4) / 0.5 (0.3–0.8)		5.2 (1.5–21.1) / 0.6 (0.3–1.0)	0.5 (0.3–0.9) / 0.2 (0.2–0.3)	0.4 (0.2–13.2) / 0.2 (0.1–0.3)	4.0 (1.0-11.0) / 0.5 (0.3–1.2)

Окончание таблицы 1.

1	2	3	4	5	6	7	8
Протромбиновое время Условия сравнения	Тяжелое / нетяжелое течение	ОРИТ / не ОРИТ	Смерть / выписка	Смерть / выписка	Тяжелое / нетяжелое течение	ОРИТ / не ОРИТ	Смерть / выписка
Результат, секунды	12,7 / 12,2	12.2 (11.2–13.4) / 10.7 (9.8–12.1)	12.9 (2.9) / 10.9 (2.7)	12.1 (11.2–13.7) / 11.4 (10.4–12.6)	11.3 (1.4) / 12.0 (1.2)	13.2 (12.3–14.5) / 12.9 (12.3–13.4)	11.6 (11.1–12.5) / 11.8 (11.0–12.5)
Тропонин Условия сравнения		ОРИТ / не ОРИТ		Смерть / выписка		ОРИТ / не ОРИТ	
Результат, пг/мл		3.3 (3.0–163.0) / 3.5 (0.7–5.4)		22.2 (5.6–83.1) / 3.0 (1.1–5.5)		11.0 (5.6–26.4) / 5.1 (2.1–9.8)	

Сведения об авторах:

Зотов Семён Олегович – пульмонолог ГБУЗ «Областная клиническая больница №3», старший лаборант кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, (ректор – д.м.н., профессор Волчегорский И.А.) , г. Челябинск.

Антонов Владимир Николаевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры терапии института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, (ректор – д.м.н., профессор Волчегорский И.А.) , г. Челябинск.

Осиков Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, (ректор – д.м.н., профессор Волчегорский И.А.), г. Челябинск.

Игнатова Галина Львовна– доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапии института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, (ректор – д.м.н., профессор Волчегорский И.А.) , г. Челябинск.

Для ссылки: Жорина Ю.В. Анализ межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов IL4 (C-589T), IL10 (G-1082A; C-592A), IL13 (ARG130GLN) у взрослых больных атопической бронхиальной астмой/ Жорина Ю.В., Абрамовских О.С., Игнатова Г.Л.// Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. – № 1– с.19-31.

УДК: 616.248-056.11-05

АНАЛИЗ МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОВ *IL4 (C-589T), IL10 (G-1082A; C-592A), IL13 (ARG130GLN)* У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Жорина Ю.В., Абрамовских О.С., Игнатова Г.Л.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия

ANALYSIS OF GENE-GENE INTERACTION BETWEEN POLYMORPHISMS OF GENES *IL4 (C-589T), IL10 (G-1082A; C-592A), IL13 (ARG130GLN)* IN ADULT PATIENTS WITH ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA

Zhorina Y.V., Abramovskikh O.S., Ignatova G.L.

South-Urals State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

РЕЗЮМЕ

Бронхиальная астма (БА) – это гетерогенное заболевание с большим разнообразием фенотипов, у двух третей взрослых пациентов преобладает аллергический компонент. Атопия является генетически опосредованным состоянием, и большинство генов специфически функционируют в иммунном ответе Th2 клеток. Наряду с основными эффектами однонуклеотидных полиморфизмов генов - интерлейкинов генетическая регуляция зависит от сложных взаимодействий между ними. Целью исследования стало изучение межгенных взаимодействий полиморфизмов *C-589T* в гене *IL4*, *G-1082A* и *C-592A* в гене *IL10*, *Arg130Gln* в гене *IL13* при атопической бронхиальной астме у взрослых пациентов, проживающих в Челябинске.

Материалы и методы. Обследованы 53 взрослых больных атопической бронхиальной астмой и 30 условно-здоровых человек. Проведены общеклиниче-

ское и молекулярно-генетическое (идентификация полиморфных локусов генов методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции) исследования. С помощью метода сокращения многофакторной размерности (Multifactor Dimensionality Reduction) проведено математическое моделирование и установлена значимая модель межгенных взаимодействий полиморфных локусов гена *IL10 (G-1082A; C-592A).*

Результаты. Определены статистически значимые сочетания генотипов *GG (IL10_G–1082A) * CA(IL10_C–592A) и GA (IL10_G–1082A) * CC (IL10_C–592A),* являющиеся маркерами повышенного риска развития атопической бронхиальной астмы у взрослых, проживающих в Челябинске. У всех обследованных пациентов обнаружено сочетание бронхиальной астмы с аллергическим ринитом, а также установлена разница в 4 года между возрастом начала симптомов атопического заболевания и возрастом постановки диагноза БА. Аллергический ринит часто предшествует развитию астмы. Знание генетических предикторов развития БА у пациентов с аллергическим ринитом и симптомами астмы позволяет обосновать и применить раннее терапевтическое вмешательство с целью изменения естественной эволюции заболевания.

Ключевые слова: бронхиальная астма у взрослых, атопия, полиморфизмы генов, межгенные взаимодействия.

SUMMARY

Bronchial asthma is a heterogeneous disease with a wide variety of phenotypes; two-thirds of adult patients have an allergic component. Atopy is a genetically mediated condition, and most genes specifically function in the immune response of Th2 cells. Along with the main effects of single-nucleotide gene polymorphisms - interleukins, genetic regulation depends on complex intergenic interactions. The aim of the study was to study the intergenic interactions of C-589T polymorphisms in the IL4 gene, G-1082A and C-592A in the IL10 gene, Arg130Gln in the IL13 gene in atopic bronchial asthma in adult patients living in Chelyabinsk.

Materials and methods. 53 adult patients with atopic bronchial asthma and 30 conditionally healthy people were examined. General clinical and molecular genetic (identification of polymorphic loci by allele-specific polymerase chain reaction) studies have been carried out. Using the method of multifactor dimensionality reduction (MDR), mathematical modeling was carried out and a significant model of intergenic interactions of polymorphic loci of the IL10 gene (G-1082A; C-592A) was established.

Results. Statistically significant combinations of genotypes GG (IL10_G – 1082A) * CA (IL10_C – 592A) and GA (IL10_G – 1082A) * CC (IL10_C – 592A), which are

markers of an increased risk of developing atopic bronchial asthma in adults living in Chelyabinsk, were determined. It has been demonstrated that genotypes with normal and rare alleles, depending on gene-gene interactions, can increase the risk of developing atopic bronchial asthma. All examined patients were found to have a combination of bronchial asthma with allergic rhinitis, and a difference of 4 years was established between the age of onset of symptoms of atopic disease and the age of asthma diagnosis. Allergic rhinitis often precedes the development of asthma. Knowledge of the genetic predictors of allergic rhinitis development in patients with allergic rhinitis and asthma-like symptoms makes it possible to justify and apply early therapeutic intervention in order to change the natural evolution of the disease.

Keywords: bronchial asthma in adults, remission, atopy, gene polymorphism, cytokines, intergenic interactions

Бронхиальная астма является одним из самых тяжелых проявлений неблагоприятного иммунного ответа со стороны респираторной системы. Это многофакторное заболевание характеризуется значительной неоднородностью в отношении возраста начала, клинических проявлений, генетических предикторов, факторов риска окружающей среды, реакции на лечение и прогноза [1, 2, 3].

У двух третей пациентов с БА преобладает аллергический компонент [4]. В российских исследованиях атопический вариант БА диагностировали в 68-78% случаев [5]. Для этого фенотипа БА широко изучаются этиологические и триггерные факторы [6]. Известно, что не вся астма связана с атопией, но развитие заболевания в детстве в основном вызвано аллергической сенсибилизацией [7]. Проявления БА во взрослом возрасте могут быть рецидивом, а не истинным началом заболевания, так как многие пациенты не помнят детские симптомы [8].

Возникновение впервые симптомов атопической астмы описывается в концепции «атопического марша», когда развитие атопических заболеваний происходит от пищевой аллергии и экземы в раннем детстве к риниту и астме в более позднем возрасте [8]. Однако недавние исследования свидетельствуют об отсутствии типичного «атопического марша» у большинства детей [9]. Кроме того, авторы показали, что связь между различными аллергическими состояниями лучше описывается с точки зрения сопутствующей патологии, то есть сосуществования экземы (атопический дерматит), ринита и астмы [10].

Известно, что атопия является генетически опосредованным состоянием. Общие для атопических расстройств гены объединены в функциональные сети и включают те, которые участвуют в регуляции эпидермального барьера, врожденного и адаптивного иммунного ответа [11, 12]. Взаимосвязь между атопическими за-

болеваниями с точки зрения их генетической этиологии, определена методом генетического перекрытия. Показано, что между аллергическим ринитом и астмой, существует больше генетических сходств, чем между аллергическим ринитом/пищевой аллергией и аллергическим ринитом/атопическим дерматитом [12].

С позиции этиологии, патогенеза и сочетания клинических проявлений аллергический ринит и астма рассматриваются как «единое заболевание дыхательных путей» [13]. Большинство генов, связанных с атопическими заболеваниями, вовлечены в хронические воспалительные процессы, и многие из них (гены интерлейкинов) специфически функционируют в иммунном ответе Th2 клеток.

Взаимосвязь полиморфных вариантов генов интерлейкинов с бронхиальной астмой у жителей России изучена несколькими группами исследователей [14-19]. При этом один и тот же полиморфизм может обладать как протективным эффектом, так и быть фактором риска в отношении развития БА под влиянием факторов внешней среды [14]. Наряду с основными эффектами однонуклеотидных полиморфизмов генетическая регуляция зависит от множества локусов, действующих совместно через сложные межгенные взаимодействия [15]. При анализе генетической компоненты предрасположенности к БА получены убедительные данные важности генетических взаимодействий в развитии заболевания [16].

С внедрением молекулярно-генетического тестирования введено понятие предиктивной медицины, основной особенностью которой является персонифицированный подход и профилактическая направленность. Можно предположить, что обнаружение, как индивидуального генотипа, так и взаимодействия генов у пациентов с атопией может помочь определить профилактические стратегии для предрасположенных к бронхиальной астме пациентов.

Целью исследования стало изучение межгенных взаимодействий полиморфных локусов *C-589T* в гене *IL4, G-1082A* и *C-592A* в гене *IL10, Arg130Gln* в гене *IL13* при атопической бронхиальной астме у взрослых пациентов, проживающих в Челябинске.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное исследование случай-контроль 53 больных атопической бронхиальной астмой в возрасте 23–70 лет (28 мужчин и 25 женщин), которые наблюдались в период с 1992 по 2018 г. на базе аллергологического кабинета МБУЗ «Городская клиническая поликлиника №7» г. Челябинска. Диагноз заболевания устанавливал (подтверждал) врач аллерголог-иммунолог в соответствии с критериями программных документов по диагностике, лечению и профилактике бронхиальной астмы [6].

Группу контроля составили 30 условно-здоровых человек в возрасте 23-70 лет (11 мужчин и 19 женщин), прошедших анкетирование на отсутствие респираторных жалоб, без аллергических заболеваний, с неотягощенной наследственностью по аллергическим заболеваниям.

Критерии включения пациентов в исследование: пациенты обоих полов в возрасте 18-70 лет; наличие диагноза атопической БА легкой или средней степени тяжести; подтвержденная сенсибилизация к неинфекционным аллергенам; добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: сочетание БА и хронической обструктивной болезни легких; силикоз, туберкулез, саркоидоз, бронхоэктатическая болезнь, операции на легких.

Всем пациентам проведено общеклиническое обследование, которое включало детализацию жалоб и симптомов по основному и сопутствующим заболеваниям, сбор аллергологического анамнеза, оценку физикального статуса пациента, определение уровня контроля заболевания – балльная шкала симптомов, АСТ-тест.

Молекулярно-генетическое исследование проводили на базе лаборатории «ООО ДНК» (г. Челябинск). Геномную ДНК больных и участников группы контроля выделяли из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» (ДНК-технология; Россия). Однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) генов *IL4 (rs2243250; C -589T), IL10 (rs1800896; G -1082A; rs1800872; C -592 A), IL13 (rs 20541; Arg130Gln)* идентифицировали с помощью тест-системы «SNP-экспресс» (НПФ Литех; Россия) методом аллель-специфичной ПЦР.

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «ЮУГМУ Минздрава» (протокол №10 от 17 ноября 2016 г.).

Данные обрабатывали с помощью компьютерной программы SPSS Statistics 17.0.1 (SPSS Inc; США). Анализ вариационных рядов проводился методами описательной статистики. Качественные переменные описывали абсолютными и относительными частотами, доверительный интервал для долей рассчитывали с применением метода Джеффриса (байесовский априорный интервал) [epitools.ausvet.com.au].

Анализ вида распределения количественных данных проводился с использованием критерия Шапиро-Уилка. Распределение признаков отличалось от нормального, поэтому для количественных переменных определяли медиану (*Me*) и интерквартильный интервал [*IQR*, 25%:75%].

Для анализа межгенных взаимодействий применили один из наиболее эффективных в настоящее время алгоритмов – метод сокращения многофакторной размерности (Multifactor Dimensionality Reduction – MDR, реализован в программном обеспечении http://sourceforge.net/projects/mdr) [20]. Математической базой данной программы является непараметрический кластерный анализ, который слу-

жит для обнаружения и описания нелинейного типа взаимодействия между дискретными генетическими предикторами [21].

В программе MDR с помощью многократного перекрестного пересчета вводимых первичных данных выбирается оптимальная модель межгенного взаимодействия, позволяющая с наиболее высокой точностью и с наименьшей ошибкой, определить повышенный или пониженный риск развития заболевания для пациента [22]. С помощью процедуры перекрестной валидации (воспроизводимость тестируемых моделей, cross-validation consistency, CVC) и путем расчета показателей чувствительности (Se), специфичности (Sp), диагностической эффективности (Balance accuracy) оцениваются диагностические и предиктивные возможности MDR-моделей. Оптимальной моделью считается модель с воспроизводимостью не менее 9 из 10 и диагностической эффективностью не менее 70%.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У обследованных больных атопической бронхиальной астмой медиана возраста составила 40 лет [29,5; 50,5], медиана продолжительности заболевания – 14 лет [6,0; 20,0]. Обращает внимание разница 4 года между медианой возраста начала симптомов в 23 года [8,5; 31,5] и возрастом постановки диагноза в 27 лет [17,7; 34,0].

Сочетание с аллергическим ринитом определено у всех пациентов с атопической БА, при этом у 78% обследованных присутствовали круглогодичный и сезонный аллергический ринит. Наследственная отягощенность выявлена у 25 больных (47%); начало заболевания до 18 лет у 23 пациентов (42%); на момент постановки диагноза легкая степень тяжести заболевания диагностирована у 38 пациентов (72%), средняя - у 15 пациентов (28%).

По результатам молекулярно-генетического тестирования получены частоты генотипов изученных полиморфизмов для пациентов с атопической БА и в группе контроля. Далее проведено математическое моделирование с помощью программы MDR и установлены модели межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов *IL4 (C-589T), IL10 (G-1082A; C-592A), IL13 (Arg130Gln)* (таблица 1).

Данные модели демонстрируют взаимное влияние изученных полиморфизмов в формировании предрасположенности к атопической бронхиальной астме. Вклад каждого гена оценивается величиной снятой неопределенности (энтропией), выраженной в %, где 100% – генотип однозначно определяет к какой группе (больных или здоровых) относится индивид, соответственно 0% – генотип не имеет значения в предрасположенности к заболеванию. Связи отдельных полиморфных маркеров генов, характер взаимодействий (синергизм, аддитивный, антагонизм) и их сила (доля вклада в энтропию) представлены графом энтропии (рисунок 1). На вер-

шинах треугольника представлена прогностическая ценность каждого маркера, на ребрах – взаимодействия пары генов; цвет линии характеризует: синий – выраженный антагонизм, коричневый – аддитивное взаимодействие.

Таблица 1. Модели межгенных взаимодействий полиморфных вариантов генов *IL4 (C-589T), IL10 (G-1082A; C-592A), IL13 (Arg130Gln)* у взрослых больных атопической бронхиальной астмой.

Модель	Чувствительность, % [95% ДИ]	Специфичность, % [95% ДИ]	Диагностическая эффективность	Отношение шансов *OR* [95% ДИ]	Значимость модели	Надёжность в кросс-проверке
IL-10_G-1082A* ***IL-10_C-592A***	45,3 [32,4;58,6]	86,7 [75,8;93,9]	65,9	5,37 [1,64;17,51]	χ^2=8,74 *p*=0,0031	10/10
IL-4_C-589T* ***IL-10_G-1082A**** ***IL-10_C-592A***	73,6 [59,7;84,7]	66,7 [51,7;78,5]	70,1	5,57 [2,10;14,75]	χ^2=12,83 *p*=0,0003	5/10

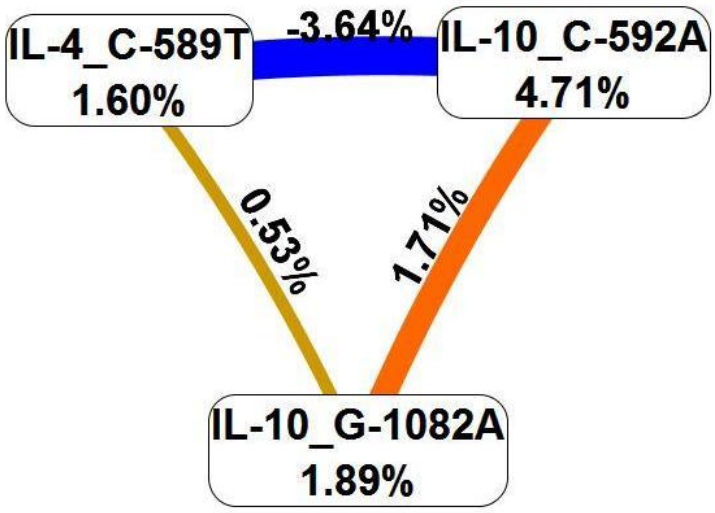


Рисунок 1. Граф энтропии анализа взаимодействий между полиморфными вариантами генов *IL4 (C-589T), IL10 (G-1082A; C-592A)* у взрослых больных атопической бронхиальной астмой.

Большая часть энтропии была связана непосредственно с генами от 1,6% до 4,7%. Тем не менее, видно, что взаимодействие генов вносили вклад в развитии атопической БА, при этом взаимодействие полиморфных локусов генов *IL4* и *IL10* носило антагонистический характер. Взаимосвязи от 0,53% до 3,4% сопоставимы по своему вкладу и значимости для диагностики.

Распределение сочетаний генотипов полиморфных вариантов гена *IL10 (G-1082A; C-592A)* представлено на рисунке 2.

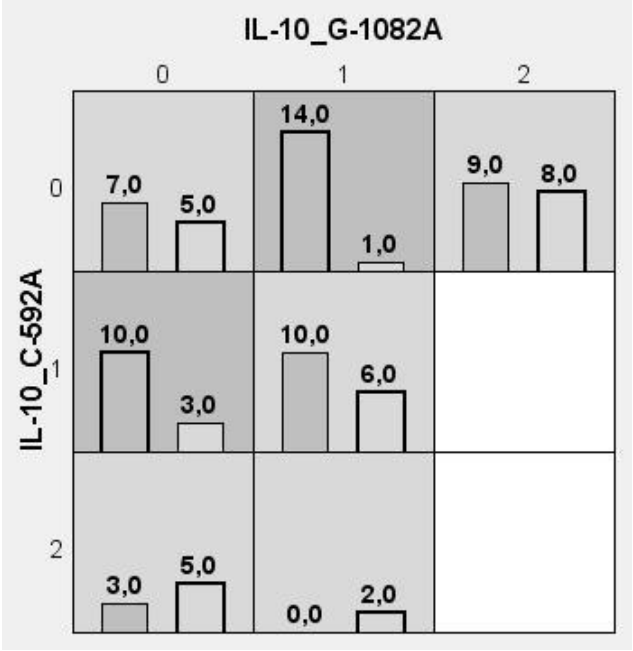


Рисунок-2 Диаграмма модели взаимодействий полиморфных локусов *IL10_G1082A*IL10_C592A* у взрослых больных атопической бронхиальной астмой

Примечание. 0– нормальная гомозигота, 1– гетерозигота, 2– гомозигота с редким аллелем. Тёмно-серые ячейки – генотипы повышенного риска, серые ячейки – генотипы пониженного риска, белые ячейки – сочетание генотипов в выборке отсутствует; левые столбцы – группа больных атопической БА, правые столбцы – группа контроля.

В результате проведенного анализа межгенных взаимодействий полиморфных вариантов генов интерлейкинов, ассоциированных с развитием атопической бронхиальной астмы, была установлена двухлоксная модель – *IL10_G1082A*IL10_C592A* с показателем воспроизводимости 10/10, которая обладала умеренной диагностической эффективностью. Результатом модели является формулировка правил «Если, то» (таблица 2).

Таблица 2 – Модель *IL10_G1082A*IL10_C592A* классификации риска развития атопической бронхиальной астмы по результатам многофакторного снижения размерности

Если ***IL10_G–1082A***	**И** ***IL10_C–592A***	**То риск* =**
GG	*AA*	0
GG	*CA*	1
GG	*CC*	0
GA	*AA*	0
GA	*CA*	0
GA	*CC*	1
AA	*CC*	0

ОБСУЖДЕНИЕ

В этом исследовании определены статистически значимые сочетания генотипов *GG (IL10_G–1082A) * CA(IL10_C–592A) и GA (IL10_G–1082A) * CC (IL10_C–592A)*, являющиеся маркерами повышенного риска развития атопической бронхиальной астмы у взрослых, проживающих в Челябинске. Данная двухлокусная модель включает в себя полиморфные локусы гена *IL 10*. IL10 является противовоспалительным цитокином, участвует в ингибировании эозинофилии, регулирует апоптоз эозинофилов, подавляет выработку оксида азота, важного компонента воспаления дыхательных путей [23]. При БА сообщалось об относительной недостаточной продукции IL10 альвеолярными макрофагами [24]. Ген *IL10* отличается выраженным полиморфизмом и несколько вариаций внутри него могут влиять на экспрессию IL10 [25]. В предыдущих метаанализах обнаружены значимые ассоциации между полиморфизмами промоторной области гена *IL10 G–1082A* и *C–592A* и риском развития астмы в различных этнических группах [25], однако для некоторых полиморфизмов обнаружен защитный эффект в развитии астмы [26]. Результаты собственного исследования демонстрируют, что генотипы с нормальными и редкими аллелями в зависимости от ген-генных взаимодействий могут повышать риск развития атопической бронхиальной астмы.

Полиморфизм гена *IL13 (Arg130Gln)* не вошел в модель межгенных взаимодействий. IL13 является основным эффектором воспаления опосредованного Th2 и участвует в индукции ремоделирования дыхательных путей при БА [27]. По данным некоторых авторов для полиморфизма *Arg130Gln* в гене *IL13* найдены ассоциации с увеличением риска развития БА у детей и взрослых, но чаще с тяжестью течения заболевания [28, 29]. Отсутствие значимого участия полиморфизма гена *IL13 (Arg130Gln)* в межгенных взаимодействиях может быть связано с тем, что пациенты с тяжелой степенью тяжести БА не были включены в данное исследование.

Полиморфный локус *C-589T* гена *IL4* вошел в статистически значимую трехлокусную модель *IL4_C-589T*IL10_G-1082A*IL10_C-592A*. Данная модель имеет низкий показатель воспроизводимости 5/10, что, вероятнее всего связано с небольшим размером выборки. IL4 является важным провоспалительным цитокином в иммунной регуляции, продуцируемый активированными Th2–клетками и способствующий переключению на синтез иммуноглобулина Е в В-клетках, росту и дифференцировке В-клеток и моноцитов [30]. Ранее проведенный метаанализ показал ассоциацию полиморфного локуса *C–589T* в гене *IL4* с риском развития БА у индивидов европейского происхождения [31].

У всех обследованных пациентов обнаружено клиническое сочетание бронхиальной астмы с аллергическим ринитом. Известно, что аллергический ринит часто предшествует развитию астмы. В данном исследовании обнаружен интервал 4 года от появления первых симптомов аллергического ринита и астмы до установления клинического диагноза БА, а также начала базисной противовоспалительной терапии. По данным более ранних исследований разница между началом симптомов и постановкой диагноза БА составляла от 2,2 [32] до 5 лет [33]. Знание генетических предикторов развития БА у пациентов с аллергическим ринитом и симптомами астмы позволяет обосновать и применить раннее терапевтическое вмешательство с целью изменения естественной эволюции заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенный анализ полиморфных локусов генов *IL4 (C-589T), IL10(G-1082A; C-592A), IL13 (Arg130Gln)* дал возможность установить их вклад в формирование генетической предрасположенности к атопической БА легкой и средней степени тяжести в смешанной выборке жителей Челябинска. Подтверждена значимость полиморфизмов *G-1082A* и *C-592A* гена *IL10* в патогенезе атопической БА через межгенные взаимодействия. Выявление сочетаний генотипов повышенного риска у пациентов с аллергическим ринитом и у индивидов, предрасположенных к астме, может привести к разработке мероприятий ограничивающих воздействия факторов внешней среды и выбору активной стратегии лечения с целью профилактики развития астмы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nenasheva N.M. Bronchial asthma. A modern view of the problem. Moscow: GEOTAR-Media; 2018. [Ненашева Н.М. Бронхиальная астма. Современный взгляд на проблему. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018].

2. Dharmage S.C., Perret J.L., Custovic A. Epidemiology of Asthma in Children and Adults. Front Pediatr 2019; 7: 246.

3. Morales E., Duffy D. Genetics and Gene-Environment Interactions in Childhood and Adult Onset Asthma. Front Pediatr 2019; 7: 499.

4. Scherzer R., Grayson M.H. Heterogeneity and the origins of asthma. Ann Allergy Asthma Immunol 2018; 121(4): 400-405.

5. Nenasheva N.M. Atopic asthma: the role of allergen-specific immunotherapy. Rossijskij allergologicheskij zhurnal. 2015; (6): 54-67. [Ненашева Н.М. Атопическая бронхиальная астма: роль аллерген-специфической иммунотерапии. Российский аллергологический журнал 2015; (6): 54-67].

6. Global Initiative for asthma – NHLBI/WHO Workshop Report/National Heart Lung Blood Institute Updated 2020. URL: https://ginasthma.org/gina-reports/ (дата обращения : 14.02.2020).

7. Zhang H., Kaushal A., Soto-Ramírez N. et al. Acquisition, remission, and persistence of eczema, asthma, and rhinitis in children. Clin Exp Allergy 2018; 48(5): 568-576.

8. Ballardini N., Kull I., Lind T. et al. Development and comorbidity of eczema, asthma and rhinitis to age 12: data from the BAMSE birth cohort. Allergy 2012; 67(4): 537-544.

9. Goksor E., Loid P., Alm B. et al. The allergic march comprises the coexistence of related patterns of allergic disease not just the progressive development of one disease. Acta Paediatr 2016; 105(12): 1472-1479.

10. Fuchs O., Bahmer T., Rabe K.F., von Mutius E. Asthma transition from childhood into adulthood. Lancet Respir Med 2017; 5(3): 224-234.

11. Baranov V.S. Geneticheskiy pasport – osnova individual'noy i prediktivnoy meditsiny. Saint-Petersburg: Izdatel'stvo N-L; 2009. [Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Издательство Н-Л; 2009].

12. Gupta J., Johansson E., Bernstein J.A. et al. Resolving the etiology of atopic disorders by using genetic analysis of racial ancestry. J Allergy Clin Immunol 2016; 138(3): 676-699.

13. Bousquet J., Van Cauwenberge P., Khaltaev N. Allergic rhinitis and its impact on asthma. J Allergy Clin Immunol 2001; 108(5): 147-334.

14. Frejdin M.B., Ogorodova L.M., Coj A.N., Berdnikova N.G. Genetics of bronchial asthma. Pod red. V.P. Puzyreva, L.M. Ogorodovoj. Moscow: Atmosfera; 2010. [Фрейдин М.Б., Огородова Л.М., Цой А.Н., Бердникова Н.Г. Генетика бронхиальной астмы. Под ред. В.П. Пузырева, Л.М. Огородовой. М.: Атмосфера; 2010].

15. Kulikov E.S., Ogorodova L.M., Frejdin M.B. et al. Pharmacogenetics of uncontrolled bronchial asthma. Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal 2012; (6): 6-14. [Куликов Е.С., Огородова Л.М., Фрейдин М.Б. и др. Фармакогенетика неконтролируемой бронхиальной астмы. Российский аллергологический журнал 2012; (6): 6-14].

16. Frejdin M.B., Ogorodova L.M., Puzyrev V.P. Patogenetika allergicheskikh bolezney. Novosibirsk: Izdatel’stvo SO RAN; 2015. [Фрейдин М.Б., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Патогенетика аллергических болезней. Новосибирск: Издательство СО РАН; 2015].

17. Karunas A.S., Fedorova Ju.Ju., Ramazanova N.N. et al. Study of the role of polymorphic variants of cytokine genes in the development of bronchial asthma in the Republic of Bashkortostan. Pul'monologija 2012; (5): 37-40. [Карунас А.С., Федорова Ю.Ю., Рамазанова Н.Н. и др. Исследование роли полиморфных вариантов генов цитокинов в развитии бронхиальной астмы в Республике Башкортостан. Пульмонология 2012; (5): 37-40].

18. Kostina E.M., Molotilov B.A., Levashova O.A., Osipova M.V. The study of gene polymorphism of IL-4, IL-10, IL-17A and TNFA patients with infectious-dependent bronchial asthma. Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya 2013; (1): 53-58. [Костина Е.М., Молотилов Б.А., Левашова О.А., Осипова М.В. Изучение полиморфизма генов цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10,ИЛ-17А и ТНФА у больных с инфекционно-зависимой бронхиальной астмой. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2013; (1): 53-58].

19. Smol'nikova M.V., Frejdin M.B., Smirnova S.V. Cytokine genes as genetic markers of atopic bronchial asthma with controlled and uncontrolled course. Medicinskaja immunologija 2017; 19(5): 605-614. [Смольникова М.В., Фрейдин М.Б., Смирнова С.В. Гены цитокинов как генетические маркеры атопической бронхиальной астмы с контролируемым и неконтролируемым течением. Медицинская иммунология 2017; 19(5): 605-614].

20. Ritchie M.D., Hahn L.W., Roodi N. et al. Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. Am J Hum Genet 2001; 69(1): 138-147.

21. Moore J.H. Detecting, characterizing, and interpreting nonlinear gene-gene interactions using multifactor dimensionality reduction. Advances in genetics 2010; 72: 101-116.

22. Ponomarenko I.V. Using the Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) method and its modifications for the analysis of gene-gene and gene- environmental interactions in genetic – epidemiological studies. Nauchnye rezul'taty biomedicinskih issledovanij 2019; 5(1): 4-21. [Пономаренко И.В. Использование метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) и его модификаций для анализа ген-генных и генно-средовых взаимодействий при генетико-эпидемиологических исследованиях. Научные результаты биомедицинских исследований 2019; 5(1): 4-21].

23. Ogawa Y., Duru E.A., Ameredes B.T. Role of IL-10 in the resolution of airway inflammation. Curr Mol Med 2008; 8(5): 437-445.

24. Chung F. Anti-inflammatory cytokines in asthma and allergy: interleukin-10, interleukin-12, interferon-γ. Mediat Inflamm 2001; 10(2): 51-59.

25. Mocellin M., de Azeredo Leitao L.A., de Araujo P.D. et al. Association between interleukin-10 polymorphisms and CD4+CD25+FOXP3+ T cells in asthmatic children. J Pediatr (Rio J) 2021; 2: 0021-7557(20)30256-4.

26. Hsia T.C., Chang W.S., Wang S. et al. The Contribution of Interleukin-10 Promoter Genotypes to Susceptibility to Asthma in Adults. In Vivo 2015; 29(6): 695-699.

27. Hur G.Y., Broide D.H. Genes and Pathways Regulating Decline in Lung Function and Airway Remodeling in Asthma. Allergy, Asthma & Immunology Research 2019; 11(5): 604-621.

28. Liu Z., Li P., Wang J. et al. A meta-analysis of IL-13 polymorphisms and pediatric asthma risk. Med Sci Monit 2014; 20: 2617-2623.

29. Mei Q., Qu J. Interleukin-13 +2044 G/A and +1923C/T polymorphisms are associated with asthma susceptibility in Asians: A meta-analysis. Medicine (Baltimore) 2017; 96(51): e9203.

30. Akdis M., Akdis C.A. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: multiple suppressor factors at work in immune tolerance to allergens. J Allergy Clin Immunol 2014; 133(3): 621-631.

31. Tang L., Lin H.G., Chen B.F. Association of IL-4 promoter polymorphisms with asthma: a meta-analysis. Genet Mol Res 2014; 13(1): 1383-1394.

32. Chernjak B.A. Clinical practice of managing patients with bronchial asthma in Russia: monitoring results. Prakticheskaja pul'monologija 2009; (3): 23-28. [Черняк Б.А. Клиническая практика ведения больных бронхиальной астмой в России: результаты мониторинга. Практическая пульмонология 2009; (3): 23-28].

33. Chuchalin A.G., Ajsanov Z.R., Chikina S.Ju. et al. Federal clinical guidelines of the Russian Respiratory Society on the use of the spirometry method. Pul'monologija. 2014; (6): 11-23. [Чучалин А.Г., Айсанов З.Р., Чикина С.Ю. и др. Федеральные клинические рекомендации Российского респираторного общества по использованию метода спирометрии. Пульмонология. 2014; (6): 11-23].

Сведения об авторах:

Жорина Юлия Владимировна – аспирант кафедры Терапии Института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, тел.: +7 902 868 74 01, juliamart24@mail.ru

Абрамовских Ольга Сергеевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры Микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, тел.: +7 (351) 2327477, abramoschel@mail.ru

Игнатова Галина Львовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой Терапии Института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, тел.: +7 351 908 20 71, iglign@mail.ru

Для ссылки: Деева Н.В. Взаимосвязь уровня меланина по данным мексаметрии с длительностью и активностью витилиго / Деева Н.В., Сергеева И.Г.// Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. – №1 – с.32-39.

УДК 616.5-003.829.85

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ МЕЛАНИНА ПО ДАННЫМ МЕКСАМЕТРИИ С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ И АКТИВНОСТЬЮ ВИТИЛИГО

Деева Н.В.[1], Сергеева И.Г.[1]

[1]ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Российская Федерация

RELATIONSHIP OF MELANIN LEVEL WITH DURATION AND ACTIVITY OF VITILIGO ACCORDING TO MEXAMETRIC DATA

Deeva N.V.[1], Sergeeva I.G.[1]

[1]Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Конфликт интересов отсутствует.

РЕЗЮМЕ

При проверке гипотезы, что характер распределения меланина в очагах витилиго зависит от стажа заболевания и активности процесса, проведен корреляционный анализ.

Цель исследования: установить возможную взаимосвязь уровня меланина в очагах витилиго с длительностью и активностью заболевания.

Материал и методы. У 52 пациентов с витилиго (36 женщин и 16 мужчин в возрасте от 3 до 77 лет) проведена мексаметрия в очагах депигментации и определена степень прогрессирования витилиго по шкале *VIDA*. Длительность заболевания составила 14,8 ± 2,3 лет. Уровень меланина определяли в 19 локализациях на лице, туловище и конечностях (выполнено 364 измерений в очагах витилиго и 556 – на окружающей здоровой коже). Для характеристики силы связи между параметрами рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r). Минимальную вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5 % уровне значимости ($p < 0,05$).

Результаты. Длительность заболевания коррелирует с уменьшением уровня меланина только на коже лба ($r = – 0,89$; $p < 0,05$). Значения количества меланина в очагах витилиго лишь на коже коленей отрицательно коррелируют со степенью прогрессирования заболевания по шкале активности витилиго *VIDA* ($r = – 0,47$; $p < 0,05$).

Заключение. В большинстве случаев не обнаружены сильные корреляционные связи между уровнем меланина в очагах витилиго, длительностью заболевания и активностью процесса по шкале *VIDA*, то есть прогрессирование и стаж заболевания не определяют количество меланина в очагах витилиго.

Ключевые слова: витилиго, меланин, уровень меланина, мексаметрия, шкала активности витилиго (*VIDA*).

SUMMARY

Correlation analysis was carried out to test the hypothesis that the nature of melanin distribution in vitiligo patches may depend on the duration and activity of the disease.

Objective: to establish a possible relationship between the of melanin level in vitiligo patches with duration and activity of vitiligo.

Material and methods. The study followed 52 patients with vitiligo (36 female and 16 male patients; age from 3 to 77 years). The mean disease duration was 14.8 ± 2.3 years. We determined the melanin levels in 19 localizations in the patches of vitiligo and on the healthy skin of the face, trunk, and extremities by using mexametry (364 measurements were made in vitiligo patches and 556 – on the healthy skin). We determined VIDA score for evaluating vitiligo activity. Spearman's rank correlation coefficient (r) was used for the characterization of the binding forces between the parameters. Test results that produced P values < 0.05 were regarded as statistically significant.

Results. We found a negative correlation between the melanin levels in vitiligo patches of the forehead only and the disease duration ($r = – 0.89$; $P < 0.05$); and also between the melanin levels in vitiligo patches of the knees only and vitiligo disease activity (VIDA) score ($r = – 0.47$; $p < 0.05$).

Conclusion. There were no strong correlations between the melanin levels in vitiligo patches, the duration of the disease and vitiligo activity (VIDA) score in most cases. Thus, the progression and duration of the disease do not determine the melanin levels in vitiligo patches.

Keywords: vitiligo, melanin, melanin level, mexametry, vitiligo activity, vitiligo disease activity (VIDA) score.

Витилиго относят к приобретенному гипомеланозу, который характеризуется появлением на коже гипопигментированных пятен, что обусловлено исчезновением меланоцитов эпидермиса или нарушением их функциональной активности [1].

В косметологическую практику на протяжении последних десятилетий внедрены диагностические системы, позволяющие оценить уровень меланина в коже при гиперпигментациях [2]. Данные методики просты в применении, воспроизводимы на многих участках кожи, возможно проведение множественных измерений у одного пациента, но их применение в дерматологической практике, в частности при витилиго, недостаточно изучено и не стандартизировано.

Существуют предпосылки, что уровень меланина в очагах витилиго изменяется под воздействием терапии и может объективно отражать ответ на лечение. Но для подтверждения этой гипотезы необходимо иметь данные о характере распределения меланина в зависимости от стажа заболевания и активности процесса, которые в данный момент отсутствуют [3-5].

Взаимосвязь уровня меланина по данным мексаметрии с длительностью и активностью заболевания у пациентов с витилиго представляет научный и практический интерес.

Цель исследования: установить возможную взаимосвязь уровня меланина в очагах витилиго с длительностью и активностью заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В Институте медицины и психологии В. Зельмана ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» методом последовательной случайной выборки проведено исследование 52 пациентов с витилиго в возрасте от 3 до 77 лет (средний возраст составил 35,5 ± 19,1 лет) с установленным диагнозом витилиго, из них 36 (69,2%) женщин и 16 (30,8%) мужчин. Длительность заболевания – 14,8 ± 14,0 лет.

Протокол обследования включал: анкетирование, осмотр кожи, оценку характера распределения пигмента, измерение уровня меланина в очагах витилиго и на здоровой окружающей коже методом мексаметрии, оценку активности витилиго.

Уровень меланина в коже измеряли методом мексаметрии на приборе для оценки основных параметров кожи «*Soft plus*» (изготовитель «*Callegari S.p.A*», Италия). Полученные результаты представляются в цифровом виде на мониторе прибора с количеством меланина. Диапазон значений составляет от 0 до 100 условных единиц (у.е.), ошибка метода не превышает 0,1 %.

Уровень меланина измеряли в очагах витилиго и на окружающей здоровой коже в 19 локализациях: на лице и шее (на лбу, веках, губах, подбородке, щеках, шее); на туловище (на груди, в подмышечной области, на спине, ягодицах, в пахо-

вых складках); на верхних конечностях (на плечах, локтях, предплечьях, тыле кистей); на нижних конечностях (на бедрах, коленях, голенях, тыле стоп). Было выполнено 364 измерения в очагах витилиго и 556 на окружающей здоровой коже.

Для оценки активности витилиго применяли шкалу *VIDA (Vitiligo disease activity)*, предложенную D. Njoo и соавт. (1999). Шкала оценки активности витилиго *VIDA* исчисляется от +4 до -1, где +4 соответствует прогрессирующей стадии заболевания в последние 6 недель, +3 – прогрессирующей стадии в последние 3 месяца, +2 – прогрессирующей стадии в последние 6 месяцев, +1 – прогрессирующей стадии в последний год, 0 – стабильной стадии в течение более 1 года, -1 – стабильной стадии в течение более 1 года и самопроизвольной репигментации.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы *«Statistica 10,0»* (*StatSoft*, США). Результаты представлены как среднее арифметическое величины показателя и его среднеквадратичное отклонение ($M \pm SD$) или частота случаев в процентах. Для характеристики силы связи между параметрами рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r). Минимальную вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5 % уровне значимости ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке клинической картины заболевания у 49 (94,2%) пациентов наблюдали несегментарное витилиго, у большинства больных было генерализованное витилиго (55,8%), реже встречали акрофациальное витилиго (7,7%) и универсальное витилиго (5,8%). Сегментарное витилиго наблюдали у 3 (5,8%) пациентов, заболевание было представлено унисегментарной формой.

Очаги витилиго наиболее часто располагались на коже тыльной поверхности кистей – у 33 (63,5%) пациентов, реже на веках – у 30 (57,7%), в подмышечных областях – у 29 (55,8%), на тыльной поверхности стоп – у 27 (51,9%). Самой редкой локализацией очагов витилиго являлась кожа лба и щек, где очаги были лишь у 5 (9,6%) и 6 (11,5%) пациентов соответственно.

При определении активности витилиго по шкале *VIDA* обнаружено, что 38 (73,1%) пациентов имели уровень активности заболевания +1, что говорит о прогрессировании витилиго в течение последнего года, у 9 (17,3%) больных – уровень активности был +2, у 3 (5,8%) – уровень активности 0, у 2 (3,8%) – уровень активности +3. Ни у одного пациента не было обнаружено уровней активности +4 и -1.

При проверке гипотезы, что уровень меланина зависит от длительности заболевания, был проведен корреляционный анализ между полученными данными мексаметрии по уровню меланина в очагах витилиго и длительностью заболевания в годах. Для всех локализаций, кроме кожи лба, были получены слабые корреляционные связи этих параметров. Для кожи лба характерна сильная отрицательная корре-

ляционная связь между длительностью витилиго и количеством меланина в очагах депигментации этой локализации ($r = – 0,89$; $p < 0,05$), что говорит о том, что более длительный стаж заболевания влияет на снижение уровня пигмента в очагах витилиго только на коже лба. Результаты изучения корреляции между уровнями меланина в очагах витилиго и длительностью заболевания представлены в таблице 1.

Обнаружена умеренная отрицательная корреляционная связь между уровнем меланина в очаге витилиго на коже разгибательной поверхности коленей и активностью витилиго по шкале *VIDA* ($r = – 0,47$; $p < 0,05$). При проведении корреляционного анализа между уровнями меланина на видимо здоровой коже и активностью витилиго по шкале *VIDA* установлена умеренная отрицательная корреляционная связь для кожи тыла кистей ($r = – 0,45$; $p < 0,05$) и тыла стоп ($r = – 0,48$; $p < 0,05$), и средняя отрицательная корреляционная связь для кожи голеней ($r = – 0,54$; $p < 0,05$) (таблица 2). То есть, чем выше была активность витилиго по шкале *VIDA*, отражающей степень прогрессирования заболевания, тем ниже был уровень меланина на здоровой окружающей коже разгибательной поверхности голеней, что говорит о взаимосвязи параметров уменьшения количества пигмента и активности процесса, но позволяет также предположить важную роль других факторов, возможно особенностей локализации на поверхности кожи или факторов, которые не учитываются в данных шкалах и оценках.

При исследовании корреляционных связей между уровнями меланина в очагах витилиго и на видимо здоровой окружающей коже выявлена средняя положительная корреляция уровня меланина в очагах в подмышечных областях ($r = 0,55$; $p < 0,05$), на спине ($r = 0,62$; $p < 0,05$), на бедрах ($r = 0,54$; $p < 0,05$) и на коленях ($r = 0,51$; $p < 0,05$) с уровнем меланина на окружающей коже (таблица 3). Это показывает зависимость уровня меланина в очаге от уровня пигмента на окружающей коже, но отсутствие сильных корреляционных связей между этими параметрами для большинства локализаций также указывает на отсутствие прямой зависимости измеряемых величин.

При оценке корреляции между уровнем меланина в очагах витилиго и уровнем меланина на здоровой окружающей коже, а также стажем и прогрессированием заболевания не выявлено сильных корреляционных связей в большинстве случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, не обнаружены значимые корреляционные связи между уровнем меланина в очагах витилиго, длительностью и активностью процесса по шкале *VIDA* в большинстве случаев, соответственно по шкале *VIDA* и по стажу заболевания невозможно судить о количестве пигмента в очаге, то есть прогрессирование заболевания не определяет количество меланина на гипопигментированных участках кожи. Эти данные могут указывать на разнонаправленность в количестве

уровня меланина в различных очагах витилиго в виде исчезновения, уменьшения или его сохранения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Taïeb A., Picardo M. Epidemiology, Definitions and Classification. In: Vitiligo. Eds. M. Picardo, A. Taïeb. Heidelberg: Springer; 2010. p. 13-24.
2. Papiy N.A. Hardware methods of skin research. Meditsinskaya panorama 2009; (1): 52-54. [Папий Н.А. Аппаратные методы исследования кожи. Медицинская панорама 2009; (1): 52-54].
3. Linthorst Homan M.W., Wolkerstorfer A., Sprangers M.A., van der Veen J.P. Digital image analysis vs. clinical assessment to evaluate repigmentation after punch grafting in vitiligo. J Eur Acad Dermatol Venereol 2013; 27(2): e235-8.
4. Ho B.K., Robinson J.K. Color bar tool for skin type self-identification: A cross-sectional study. J Am Acad Dermatol 2015; 73(2): 312-3.e1.
5. Visscher M.O. Skin Color and Pigmentation in Ethnic Skin. Facial Plast Surg Clin North Am 2017; 25(1): 119-125.

Таблица 1. Корреляционные связи (r) между уровнями меланина в очагах витилиго и длительностью заболевания у обследованных пациентов.

Локализация	Коэффициент корреляции (*r*)
Лоб	– 0,89*
Веки	– 0,19
Губы	– 0,05
Подбородок	0,1
Шея	0,04
Грудь	– 0,08
Подмышечные области	0,07
Спина	– 0,26
Ягодицы	0,05
Паховые складки	– 0,08
Плечи	– 0,38
Локти	– 0,36
Предплечья	– 0,06
Тыл кистей	– 0,12
Бедра	0,1
Колени	– 0,27
Голени	– 0,24
Тыл стоп	– 0,04
Примечание: * – p <0,05	

Таблица 2. Корреляционные связи (r) между уровнями меланина в очагах витилиго и активностью витилиго по шкале VIDA, между уровнями меланина на видимо здоровой коже и активностью витилиго по шкале VIDA у обследованных пациентов.

Локализация	Коэффициент корреляции между уровнями меланина в очагах витилиго и шкалой активности *VIDA* (*r*)	Коэффициент корреляции между уровнями меланина на видимо здоровой коже и шкалой активности *VIDA* (*r*)
Лоб	– 0,32	– 0,30
Веки	0,13	– 0,18
Губы	– 0,35	– 0,25
Подбородок	– 0,17	0,15
Щеки	–	– 0,23
Шея	0,16	0,10
Грудь	0,11	– 0,30
Подмышечные области	– 0,12	0,01
Спина	– 0,07	– 0,29
Ягодицы	– 0,01	– 0,29
Паховые складки	– 0,41	– 0,29
Плечи	– 0,22	– 0,12
Локти	0,28	– 0,29
Предплечья	– 0,35	– 0,27
Тыл кистей	0,19	– 0,45*
Бедра	– 0,05	– 0,13
Колени	– 0,47*	– 0,37
Голени	0,13	– 0,54*
Тыл стоп	0,23	– 0,48*
Примечание: * – p <0,05		

Таблица 3. Сила корреляционных связей между уровнями меланина в очагах витилиго и на видимо здоровой коже у пациентов с витилиго

Локализация очагов витилиго	Корреляционные связи (r)
Лоб	0,87
Веки	0,1
Губы	0,3
Подбородок	0,32
Шея	– 0,11
Грудь	0,37
Подмышечные области	0,55*
Спина	0,62*
Ягодицы	0,74
Паховые складки	0,32
Плечи	0,59
Локти	0,09
Предплечья	– 0,04
Тыл кистей	0,1
Бедра	0,54*
Колени	0,51*
Голени	0,39
Тыл стоп	– 0,13
Примечание: * – p <0,05	

Сведения об авторах:

Деева Наталья Владимировна – ассистент кафедры фундаментальной медицины Новосибирского национального исследовательского государственного университета, врач-дерматовенеролог МНОЦ ИМПЗ НГУ

Сергеева Ирина Геннадьевна – д.м.н, профессор кафедры фундаментальной медицины Новосибирского национального исследовательского государственного университета, директор Центра постдипломного медицинского образования Новосибирского национального исследовательского государственного университета

Для ссылки: Осиков М.В. Ассоциация показателей репарации в очаге повреждения и иммунного статуса в крови в динамике экспериментальной термической травмы / Осиков М.В., Агеева А.А. // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. – №1 – с.40-52.

УДК:617-001.17-06:616.15-097

АССОЦИАЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЕПАРАЦИИ В ОЧАГЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ И ИММУННОГО СТАТУСА В КРОВИ В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Осиков М.В., Агеева А.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Российская Федерация

ASSOCIATION OF REPAIR INDICATORS IN THE INJURY SITE AND IMMUNE STATUS IN THE BLOOD IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL THERMAL INJURY

Osikov M.V., Ageeva A.A.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "South-Ural State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

РЕЗЮМЕ

Изучение иммунного статуса в динамике термической травмы (ТТ), унифицированной по площади и глубине и показателей репарации ожоговой раны позволит уточнить роль иммунных факторов в патогенезе ТТ, их диагностическое и прогностическое значение.

Цель работы: оценить взаимосвязь показателей репарации ожоговой раны и показателей иммунного статуса в динамике экспериментальной ТТ. ТТ IIIА степени и относительной площадью 3,5% моделировали у половозрелых крыс –самцов линии Wistar погружением участка кожи в воду с температурой 98-99^{0}С на 12 с. с ежедневным наложением асептической повязки на область ожога. На 5, 10 и 20 су-

тки от момента индукции ТТ оценивали площади раны и скорость ее эпителизации, количество в крови популяций лейкоцитов, лимфоцитов с фенотипом $CD3^+$ и $CD45RA^+$, поглотительную способность нейтрофилов крови с использованием частиц латекса, кислородзависимый метаболизм – в спонтанном и индуцированном НСТ-тесте, концентрацию в сыворотке IL-4, TNF-α, IFN-γ, IgM и IgG. Установлено, что при ТТ от 5 к 20 суткам уменьшается абсолютная и относительная площадь раневого дефекта, прогрессивно увеличивается скорость эпителизации раны и доля уменьшения ее площади. На 5 и 10 сутки увеличивается, а к 20 суткам восстанавливается количество в крови палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, поглотительная и НСТ-редуцирующая способности нейтрофилов; на 5 и 10 сутки снижается, а к 20 суткам восстанавливается количество в крови лимфоцитов, $CD3^+$, количество $CD45RA^+$ снижается на 5, 10 и 20 сутки. Концентрация в сыворотке IgM не изменяется, а IgG – снижается на 5 и 10 сутки ТТ, концентрация в сыворотке TNF-α, IL-4 повышается, а IFN-γ – не изменяется на 5, 10 и 20 сутки. Установлены ассоциации между площадью ожога и показателями иммунного статуса, максимально выраженные на 5 и 10 сутки ТТ. Выявлены прямые средней силы связи с количеством в крови палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, активностью фагоцитоза, интенсивностью фагоцитоза, активностью и интенсивностью спонтанного НСТ-теста, активностью индуцированного НСТ-теста нейтрофилов, концентрацией в сыворотке TNF-α и IL-4, обратные средней силы связи с общим количеством в крови лимфоцитов, количеством $CD3^+$, количеством $CD45RA^+$, концентрацией в сыворотке IgM, IgG.

Ключевые слова: термическая травма, репарация, иммунный статус, взаимосвязь

SUMMARY

The study of the immune status in the dynamics of thermal trauma (TT), unified in area and depth, and indicators of burn wound repair will clarify the role of immune factors in the pathogenesis of TT, their diagnostic and prognostic significance.

Objective: to evaluate the relationship between burn wound repair indicators and immune status indicators in the dynamics of experimental TT. TT of the IIIA degree and a relative area of 3.5% were modeled in sexually mature male Wistar rats by immersing the skin area in water at a temperature of 98-99^{0}C for 12 seconds with daily application of an aseptic bandage to the burn area. The wound area and the rate of its epithelization, the number of leukocyte populations in the blood, lymphocytes with the $CD3^+$ and $CD45RA^+$ phenotype, the absorption capacity of blood neutrophils using latex particles, oxygen-dependent metabolism-in a spontaneous and induced NST test, serum concentrations of

IL-4, TNF-α, IFN-γ, IgM and IgG were evaluated on days 5, 10, and 20 from the moment of TT induction. It was found that with TT from 5 to 20 days, the absolute and relative area of the wound defect decreases, the rate of wound epithelization and the proportion of reduction in its area progressively increases. On the 5th and 10th days, the number of rod- and segmented-nuclear neutrophils, monocytes, and the absorption and NST-reducing abilities of neutrophils increases, and by the 20th day, the number of lymphocytes in the blood, $CD3^+$, and the number of $CD45RA^+$ decreases by the 5th, 10th, and 20th days is restored. Serum concentration of IgM is not modified, and IgG is reduced by 5 and 10-day TT, the concentration of serum TNF-α, IL-4 increased and IFN-γ does not change for 5, 10 and 20 days. Associations were established between the burn area and immune status indicators, which were most pronounced on days 5 and 10 of TT. Direct medium-strength relationships with the number of rod and segmented neutrophils in the blood, phagocytosis activity, phagocytosis intensity, activity and intensity of the spontaneous NST test, activity of the induced NST neutrophil test, serum concentrations of TNF-α and IL-4, inverse medium-strength relationships with the total number of lymphocytes in the blood, the number of $CD3^+$, the number of $CD45RA^+$, serum concentrations of IgM, IgG were revealed.

Keyword: thermaltrauma, repair, immune status, relationship

ВВЕДЕНИЕ

Термическая травма (ТТ) представляет одну из ключевых медико-социальных проблем.

По данным ВОЗ, ежегодно в мире регистрируют около 10 млн случаев ожогов всех типов, ТТ является четвертой по значимости причиной травмы [1,2]. В России наблюдается неуклонный рост числа больных с ТТ, в 2018 г было зарегистрировано 49262 случаев, каждый третий больной нуждается в госпитализации [3]. В структуре госпитализированной травмы в РФ в 2018 г. ТТ составила 2,8% среди взрослого и 6,1% среди детского населения. Летальность у взрослых пациентов с ТТ составила 4,8%. Ключевой причиной высокой летальности при ТТ является отсутствие единой концепции лечения. На территории Челябинской области расположены предприятия металлургии, машиностроения и металлообработки, приборостроения, легкой и пищевой промышленности, что создаёт все предпосылки к аварийным ситуациям и риску ожогового травматизма. Число пострадавших от ТТ в промышленных центрах постоянно растет в связи с увеличением числа техногенных катастроф, террористических актов и стихийных бедствий. Так, показатель распространенности ТТ по Челябинской области в 2018 г составил 0,37 на 1 000 населения. В 2018 г. в Уральском федеральном округе летальность у взрослых паци-

ентов с ТТ составила 5,3% – наибольшая по РФ среди больных с ТТ старше трудоспособного возраста (11,2%). В Уральском федеральном округе функционирует пять ожоговых отделений и один ожоговый центр (г. Челябинск) для специализированного стационарного лечения пострадавших от ТТ. Тем не менее, показатель обеспеченности ожоговыми койками по Челябинской области существенно ниже данного показателя по РФ (0,18 на 10 тыс. населения) и составляет 0,12 на 10 тыс. Увеличился показатель «работы койки» по Челябинской области с 330 дней в 2014 г. до 339 в 2018 г.

Данная эпидемиологическая ситуация по ТТ в значительной степени объясняется сложностью и многообразием патогенетических механизмов, лежащих в основе развития, течения и исхода тяжелых ожогов. По мнению комбустиологов, необходимы приоритетные исследования в области заживления ран, в том числе изучение и понимание патофизиологии ожоговой раны для ограничения ее прогрессирования и разработки новых методов диагностики, методов сохранной некрэктомии и закрытия раны, современных заменителей кожи [4, 5, 6, 7, 8]. В патогенезе ТТ ключевое значение имеют иммунные механизмы, продемонстрирована роль нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов, гуморальных факторов. Вероятно,ключевым фактором формирования осложнений в виде инфицирования, системного воспаления и сепсиса, гипертрофических и келлоидных рубцов является интенсивность и длительность воспалительной фазы, а так же отмечается зависимость скорости заживления ожоговой раны отглубины и площади повреждения, уровня провоспалительных цитокинов в крови (при тяжелых ожогах выше и устойчивее), инфильтрации очага нейтрофилами (при тяжелых ожогах она начинается позднее и сохраняется дольше), и других факторов[9]. Многие исследователи связывают формирование инфекционных осложнений, включая сепсис, после ТТ с избыточными иммуносупрессивными реакциями, в том числе как компенсацию на длительный, устойчивый провоспалительный ответ [10]. С учетом изложенного, изучение иммунного статуса в динамике ТТ, унифицированной по площади и глубине в экспериментальных условиях *invivo* и оценка взаимосвязи показателей иммунного статуса в крови и показателей репарации ожоговой раны имеет несомненное фундаментальное и прикладное значение, позволит уточнить роль иммунных факторов в патогенезе ТТ, их диагностическое и прогностическое значение. В качестве экспериментального объекта при моделировании ТТ выбирают крыс, которые вполне приемлемы и во многом превосходят мышей, особенно в отношении системных метаболических и иммунных изменений [11, 12].

Цель работы: оценить взаимосвязь показателей репарации ожоговой раны и показателей иммунного статуса в динамике экспериментальной ТТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 86половозрелых крысах-самцах линии Wistarмассой 240±20 г, находящихся на стандартном рационе в экспериментально-биологической клинике (виварии) ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России при строгом соблюдении требований по уходу и содержанию лабораторных животных, а также выводу их из эксперимента с последующей утилизацией [13,14]. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (протокол №10 от 15.11.2019 г.). Животные были случайным образом разделены на 2 группы: группа 1 (n=26) – интактный контроль, группа 2 (n=60) – животные с ТТ и ежедневным наложением асептической повязки на область ожога. Для моделирования ТТ IIIA степени и относительной площадью 3,5% изолированный участок кожи межлопаточной области крысы погружали в дистиллированную воду температурой 98-99^{0}С на 12 с. Глубину ожога верифицировали морфологическими методами. Для анестезии использовали препарат «Золетил-100» («VirbacSanteAnimale», Франция) в дозе 20 мг/кг. Для вычисления площади раны через 24 ч, на 5 и 10 сутки после ТТ методом цифровой планиметрии использовали фотокамеру «NikonCoolpix S2800» (Китай) и пакет программ «MicrosoftOfficeVisio». Скорость эпителизации (VS) рассчитывали по формуле: VS = S − Sn / t, где S – начальная площадь раны до лечения (в дальнейшем, площадь при предыдущем измерении); Sn –площадь при последующем измерении; t – число дней между измерениями. Площадь раны в последующих измерениях определяли в %, принимая за 100% площадь до лечения, результат выражали в %/сутки. На 5, 10 и 20 сутки от момента индукции ТТ осуществлялся забор крови под наркозом после торакотомии пункцией сердца в области левого желудочка в вакуумные пробирки «Vacuette» («GreinerBio-One», Австрия). Количество лейкоцитов в крови определяли на автоматическом гематологическом анализаторе для ветеринарии «BC-2800Vet» («Mindray», Китай), откалиброванном для крыс, лейкоцитарную формулу подсчитывали в мазках крови, окрашенных азур II-эозином по Романовскому-Гимзе. Нейтрофилы и лимфоциты из крови выделяли на двойном градиенте плотности (1,077 и 1,092 г/мл) фиколл-верографина. Поглотительную способность нейтрофилов крови исследовали с использованием частиц монодисперсного (диаметр 1,7 мкм) полистирольного латекса, учитывая активность, интенсивность фагоцитоза. Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов крови исследовали в спонтанном и индуцированном НСТ-тесте, учитывая активность и интенсивность. Субпопуляционный спектр лимфоцитов крови определяли на проточном цитофлуориметре «Navios» («BeckmanCoulter», США) с использованием специфических крысиных моноклональных антител «Cloud-CloneCorp.» (Китай) с фенотипом $CD3^+$ и $CD45RA^+$, которые являются у крыс маркерами преимущественно Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов соответственно [15]. На автоматическом иммуноферментном анализаторе «Personal LAB» (Италия) с использованием специфи-

ческих тест-систем для крыс фирмы «Cloud-CloneCorp.» (Китай) в сыворотке определяли концентрацию интерлейкина-4 (IL-4), туморнекротического фактора-альфа (TNF-α), интерферона-гамма (IFN-γ), результат выражали в пг/мл; с использованием специфических тест-систем для крыс фирмы «Cloud-CloneCorp.» (Китай) – концентрацию иммуноглобулинов M (IgM) и G (IgG), результат выражали в г/л. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы IBM SPSS Statisticsv. 19. Характеристика выборок представлена в формате «Me (Q25; Q75)», где Me – медиана, Q25 и Q75 – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Для выявления связи между изучаемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (R). Различия между группами считали значимыми при $p<0,05$.

Финансирование – исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» по программе У.М.Н.И.К. (договор №15583ГУ/2020 от 05.07.2020 г).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Челябинской области в рамках научного проекта № 20-415-740016

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показатели репарации при экспериментальной ТТ представлены в табл. 1. На 10 сутки ТТ абсолютная и относительная площадь ожога уменьшаются, а скорость эпителизации и уменьшение площади раны увеличиваются относительно соответствующих показателей на 5 сутки эксперимента. Аналогичная тенденция зафиксирована на 20 сутки относительно 10 суток ТТ: абсолютная площадь, относительная площадь ожогового дефекта кожи уменьшаются, скорость эпителизации и уменьшение площади раны увеличиваются. Кроме этого, на 20 сутки ТТ абсолютная площадь ожога, скорость эпителизации и уменьшение площади раны значимо отличаются от соответствующих показателей и на 5 сутки эксперимента, что позволяет говорить о прогрессирующем уменьшении абсолютной площади ожога, увеличении скорости эпителизации и уменьшении площади раны в динамике наблюдения.

Показатели иммунного статуса в крови представлены в табл. 2. На 5 сутки ТТ в крови увеличивается общее количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов. При оценке функциональной активности нейтрофилов крови обнаружено более чем двукратное увеличение активности фагоцитоза и интенсивности фагоцитоза, увеличение активности и интенсивности НСТ-теста в спонтанном и индуцированном режимах. В крови снижается общее количество лимфоцитов, снижается количество $CD3^+$ и $CD45RA^+$ клеток. При оценке концентрации в сыворотке иммуноглобулинов не обнаружено значимых изменений содержания IgM при сни-

жении концентрации IgG. Исследование цитокинового профиля в сыворотке позволило установить увеличение концентрации TNF-α, IL-4 при отсутствии значимых изменений содержания IFN-γ. На 10 сутки экспериментальной ТТ в крови увеличивается количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов. При исследовании функциональной активности нейтрофилов крови выявлено увеличение активности и интенсивности фагоцитоза, активности и интенсивности НСТ-теста в спонтанном режиме. Активность и интенсивность индуцированного НСТ-теста значимо не отличалась от значений в группе интактных животных. В крови снижается количество лимфоцитов, в том числе количество $CD3^+$ и $CD45RA^+$. При оценке концентрации в сыворотке иммуноглобулинов не обнаружено значимых изменений содержания IgM при статистически значимом снижении концентрации IgG. Исследование цитокинового профиля в сыворотке позволило установить увеличение концентрации TNF-α, IL-4 при отсутствии значимых изменений содержания IFN-γ. На 20-е сутки ТТ не обнаружено статистически значимых изменений количества в крови палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, функциональной активности нейтрофилов крови по показателям поглотительной и НСТ-редуцирующей способности. Общее количество в крови лимфоцитов, количество $CD3^+$значимо не отличаются от значений в группе интактных животных, количество $CD45RA^+$ снижается. При оценке концентрации в сыворотке иммуноглобулинов не обнаружено значимых изменений содержания IgM и IgG. Исследование цитокинового профиля в сыворотке позволило установить увеличение концентрации TNF-α, IL-4 при отсутствии значимых изменений содержания IFN-γ.

В динамике экспериментальной ТТ количество в крови палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов на 10 сутки значимо ($p<0,01$) ниже, чем на 5 сутки, на 20 сутки эксперимента ниже ($p<0,01$), чем на 5 и 10 сутки. Активность фагоцитоза на 10 сутки ТТ значимо ($p<0,01$) ниже, чем на 5 сутки, активность фагоцитоза, интенсивность фагоцитоза на 20 сутки эксперимента ниже ($p<0,01$), чем на 5 и 10 сутки. Активность и интенсивность спонтанного НСТ-теста нейтрофилов крови на 20 сутки ТТ ниже ($p<0,01$), чем на 5 и 10 сутки, активность и интенсивность индуцированного НСТ-теста нейтрофилов крови на 10 сутки эксперимента значимо ($p<0,01$) ниже, чем на 5 сутки, на 20 сутки ниже ($p<0,01$), чем на 5 и 10 сутки. Количество в крови лимфоцитов, $CD3^+$на 20 сутки эксперимента выше ($p<0,01$), чем на 5 и 10 сутки. Количество в крови $CD45RA^+$, концентрация в сыворотке IgM, IFN-γна 10 сутки не отличается ($p>0,05$) от значений на 5 сутки, на 20 сутки не отличается ($p>0,05$) от значений на 5 и 10 сутки ТТ. Концентрация в сыворотке IgG на 20 сутки эксперимента выше ($p<0,01$), чем на 5 и 10 сутки, концентрация TNF-α и IL-4 на 10 и 20 сутки значимо ($p<0,01$) выше, чем на 5 сутки, на 20 сутки не отличается ($p>0,05$) от значений на 10 сутки ТТ.

С использованием корреляционного анализа установлены взаимосвязи между ключевым показателем репарации ожоговой раны – абсолютной площадью ожога – и показателями иммунного статуса в крови. Результаты представлены в таблице 3. На 5 сутки наблюдения обнаружены статистически значимые прямые средней силы связи между абсолютной площадью ожога и количеством в крови палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, активностью фагоцитоза, интенсивностью фагоцитоза, активностью и интенсивностью спонтанного НСТ-теста, активностью индуцированного НСТ-теста нейтрофилов крови, концентрацией в сывороткеTNF-α и IL-4, обратная средней силы связи с концентрацией в сыворотке IgG. На 10 сутки экспериментальной ТТ установлены прямые средней силы связи между абсолютной площадью ожога и количеством в крови палочкоядерных нейтрофилов, активностью фагоцитоза, интенсивностью фагоцитоза, активностью спонтанного НСТ-теста, концентрацией в сыворотке TNF-α и IL-4, обратные средней силы связи с общим количеством в крови лимфоцитов, количеством $CD3^+$, количеством в крови $CD45RA^+$, концентрацией в сыворотке IgM, IgG. На 20 сутки ТТ зафиксированы только прямые средней силы связи между абсолютной площадью ожога и концентрацией в сыворотке TNF-α, ИНФ-γ и IL-4.

Полагаем, что изменения количественного состава и функциональной активности нейтрофилов крови при экспериментальной ТТ обусловлены известными механизмами в ходе реализации воспалительного процесса в ответ на термическое повреждение кожи. Увеличение количества нейтрофилов в крови вызвано стимуляцией миелоидного ростка костного мозга IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, увеличением пролиферации и дифференцировки предшественников нейтрофилов, а также выходом зрелых нейтрофилов из костномозгового пула, их демаргинацией в сосудистом русле [16]. Поглотительная активность нейтрофилов крови и их кислород-зависимый метаболизм являются отражением ключевых функций фагоцитов по захвату и киллингу поврежденных клеток и клеточных компонентов, микроорганизмов. Увеличение активности и интенсивности фагоцитоза, НСТ-редуцирующей способности нейтрофилов крови связано с эффектами провоспалительных медиаторов, синтезируемых в очаге повреждения моноцитами/макрофагами, лимфоцитами, нейтрофилами, а также в крови тромбоцитами, эндотелиоцитами [17]. Максимальная выраженность увеличения количества в крови и функциональной активности нейтрофилов при ТТ наблюдаются на 5 и 10 сутки экспериментальной ТТ, что отражает их участие в реализации воспалительного процесса на начальных этапах. Отметим, что избыточная функциональная активность нейтрофилов в первые сутки ТТ увеличивает защитные и антибактериальные свойства кожи, но при этом сопровождается массивной продукцией свободных радикалов и снижает репаративные и защитные свойства кожи. Характерная для ТТ иммуносупрессия по адаптивному звену имму-

нитета и лимфоцитопения (преимущественно эффекторов клеточного звена $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$) связаны с увеличением миграции лимфоцитов в очаг повреждения, активацией гибели лимфоцитов путем некроза и апоптоза в условиях оксидативного стресса, увеличения концентрации в сыворотке ТНФ-α, экспрессии CD95 на мембране, увеличением активности каспазы 3,цитохромаС, снижением мембранного потенциала митохондрий и секрецией кортизола, кроме того, повышается концентрация супрессорных клеток и других Т-лимфоцитов, регулирующих иммунный ответ [18]. Снижение количества лимфоцитов в крови и очаге ТТ ограничивает их участие в репарации раны за счет секреции факторов роста, ограничения сосудисто-экссудативных реакций, активации ангиогенеза и др. С другой стороны, снижение количества В-лимфоцитов и как следствие антителопродуцирующих клеток, приводит к падению концентрации IgM и IgG в сыворотке, что также может быть связано с экссудацией и выходом белков плазмы в очаг ТТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При экспериментальной ТТ в динамике наблюдений от 5 к 20 суткам уменьшается абсолютная и относительная площадь раневого дефекта, в связи с чем прогрессивно увеличивается скорость эпителизации раны и доля уменьшения ее площади. На 5 и 10 сутки ТТ увеличивается, а к 20 суткам ТТ восстанавливается количество в крови палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, поглотительная и НСТ-редуцирующая способности нейтрофилов крови; на 5 и 10 сутки ТТ снижается, а к 20 суткам ТТ восстанавливается количество в крови лимфоцитов, количество $CD3^+$, количество в крови $CD45RA^+$ снижается на 5, 10 и 20 сутки ТТ. Концентрация в сыворотке IgM не изменяется, а IgG – снижается на 5 и 10 сутки ТТ, концентрация в сыворотке TNF-α, IL-4 повышается, а IFN-γ – не изменяется на 5, 10 и 20 сутки ТТ. Установлены ассоциации между площадью ожога и показателями иммунного статуса в крови, максимально выраженные на 5 и 10 сутки экспериментальной ТТ. Так, выявлены прямые средней силы связи с количеством в крови палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, активностью фагоцитоза, интенсивностью фагоцитоза, активностью и интенсивностью спонтанного НСТ-теста, активностью индуцированного НСТ-теста нейтрофилов крови, концентрацией в сыворотке TNF-α и IL-4, обратные средней силы связи с общим количеством в крови лимфоцитов, количеством $CD3^+$, количеством в крови $CD45RA^+$, концентрацией в сыворотке IgM, IgG.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. WHOFactSheet: Burns. In: World Health Organization.URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns (датаобращения: 10.06.2020).

2. Queiroz L.F., Anami E.H., Zampar E.F. et al. Epidemiology and outcome analysis of burn patients admitted to an Intensive Care Unit in a University Hospital. Burns 2016; 42 (3): 655-662.

3. Traumatism, orthopedic morbidity, state of traumatological and orthopedic care to the population of Russia in 2018: collection. Ed. N.A. Eskin. Moscow: CITOim. N.N. Priorova; 2019. [Травматизм, ортопедическая заболеваемость, состояние травматолого-ортопедической помощи населению России в 2018 году: сборник. Под ред. Н.А. Еськина. М.: ЦИТОим. Н. Н. Приорова; 2019].

4. Singer A.J., Toussaint J., Choi W.T. et al. The effects of Platelet-rich Plasma on healing of partial thickness burns in a porcine model. Ann Burns Fire Disasters 2018; 31 (4): 298-305.

5. Osikov M.V., Simonjan E.V., Saedgalina O.T. Effect of erythropoietin on the content of lipid peroxidation products in lymphocytes during experimental thermal trauma. Kazanskijmedicinskijzhurnal 2015; 96 (5): 849-853.[Осиков М.В., Симонян Е.В., Саедгалина О.Т. Влияние эритропоэтина на содержание продуктов перекисного окисления липидов в лимфоцитах при экспериментальной термической травме. Казанский медицинский журнал 2015; 96 (5): 849-853].

6. Osikov M.V., Simonjan E.V., Saedgalina O.T. Effect of erythropoietin on the quantitative composition and apoptosis of peripheral blood lymphocytes in the dynamics of experimental thermal trauma. Rossijskijimmunologicheskijzhurnal 2016; 10(19) (2-1): 479-481. [Осиков М.В., Симонян Е.В., Саедгалина О.Т. Влияние эритропоэтина на количественный состав и апоптоз лимфоцитов периферической крови в динамике экспериментальной термической травмы. Российский иммунологический журнал 2016; 10(19) (2-1): 479-481].

7. Osikov M.V., Simonjan E.V., Saedgalina O.T. The effect of erythropoietin in the transdermal film on the indicators of the immune status of rats in experimental thermal trauma. Eksperimental'nayaiklinicheskajafarmakologija 2018; 81 (8): 13-18. [Осиков М.В., Симонян Е.В., Саедгалина О.Т. Влияние эритропоэтина в составе трансдермальной пленки на показатели иммунного статуса крысы при экспериментальной термической травме. Экспериментальная и клиническая фармакология 2018; 81 (8): 13-18.]

8. SimonjanE.V., Osikov M.V., Ageeva A.A. et al. Modern aspects of pathophysiology of thermal injury. Sovremennyeproblemynaukiiobrazovanija 2020; (3): URL: https://science-education.ru/ru/article/view?id=29723(accessed 20.02.2020).[СимонянЕ.В., ОсиковМ.В., АгееваА.А. идр. Современные аспекты патофизиологии термической травмы. Современные проблемы науки и образования 2020; (3). URL:https://science-education.ru/ru/article/view?id=29723(дата обращения: 20.02.2021)].

9. FinnertyC.C., JeschkeM.G., BranskiL.K. et al. Hypertrophicscarring: The greatest unmet challenge after burn injury. Lancet 2016; 388: 1427-1436.

10. Lateef Z., Stuart G., Jones N. et al. The Cutaneous Inflammatory Response to Thermal Burn Injury in a Murine Model. Int J MolSci 2019; 20 (3): 538.

11. Davenport L., Dobson G., Letson H. A new model for standardising and treating thermal injury in the rat. MethodsX 2019; 6: 2021-2027.

12. Tobalem M., Wettstein R., Tschanz E. et al. The burn comb model revisited. Burns 2020; 46 (3): 675-681.

13. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Saint-Petersburg; 2012. [Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Санкт-Петербург; 2012.]

14. The European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg; 1986.In: Council of Europe. URL: https://rm.coe.int/CoERMPublicCommonSearchServices/DisplayDCTMContent?documentId=090000168007a6a8 (accessed 13.10.2020). [Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург; 1986.In: Council of Europe. URL: https://rm.coe.int/CoERMPublicCommonSearchServices/ DisplayDCTMContent?documentId=090000168007a6a8 (датаобращения 13.10.2020)].

15. Ringheim G.E., Lee L., Laws-Ricker L. et al. Teriflunomide attenuates immunopathological changes in the dark agouti rat model of experimental autoimmune encephalomyelitis. Frontiers in Neurology 2013. 169 (4): 1-12.

16. Liew P.X., Kubes P. The Neutrophil's role during health and disease. Physiol Rev 2019; 99 (2): 1223-1248.

17. Rosales C. Neutrophils at the crossroads of innate and adaptive immunity. J LeukocBiol 2020; 108 (1): 377-396.

18. Huang H., Cui Y., Tian Z. et al. Tumor necrosis factor-α-induced protein 8-like 2 downregulation reduces $CD4^+$ T lymphocyte apoptosis in mice with thermal injury. Med SciMonit 2019; 25: 7547-7556.

Таблица 1. Показатели репарации раны при экспериментальной ТТ (Me (Q25; Q75))

Показатели	Группа 2 ТТ 5 сутки	Группа 2 ТТ 10 сутки	Группа 2 ТТ 20 сутки
Площадь ожога, $см^2$	11,66 (11,50; 11,94)	9,48 (9,28; 9,93) *	7,59 (7,23; 7,84) * **
Относительная площадь, %	3,34 (3,25; 3,39)	3,17 (3,10; 3,29) *	2,99 (2,94-3,12) *
Скорость эпителизации, % / сутки	0,89 (0,86; 0,89)	1,90 (1,88; 1,95) *	2,26 (2,14; 2,55) * **
Уменьшение площади раны, %	2,61 (2,59; 2,64)	3,68 (3,53; 4,23) *	11,49 (11,43; 11,64) * **

Примечание. * – статистически значимые ($p<0,05$) различия с группой 2 на 5 сутки, ** – с группой 2 на 10 сутки

Таблица 2. Показатели иммунного статуса при экспериментальной ТТ (Me (Q25; Q75))

Показатели	Группа 1 Интактные	Группа 2 ТТ 5 сутки	Группа 2 ТТ 10 сутки	Группа 2 ТТ 20 сутки
ПЯН, $\cdot 10^9$/л	0 (0; 0,04)	0,207 (0; 0,58) *	0,04 (0; 0,29) *	0
СЯН, $\cdot 10^9$/л	1,65 (1,09; 1,88)	2,78 (2,05; 4,55) *	2,48 (1,31; 3,65) *	2,05 (1,27; 2,94)
МЦ, $\cdot 10^9$/л	0,28 (0,21; 0,41)	0,71 (0,29; 0,83) *	0,33 (0,22; 0,60)	0,22 (0,17; 0,29)
АФ, %	19,50 (17,0; 23,0)	38,50 (32,5; 43,0) *	33,00 (24,0; 36,0) *	21,00 (17,0; 23,0)
ИФ, у.е.	0,54 (0,41; 0,62)	1,47 (1,07; 1,92) *	1,14 (0,99; 1,77) *	0,60 (0,47; 0,86)
НСТ-тест спонт., акт-ть, %	5,00 (3,0; 7,0)	10,50 (8,0; 14,5) *	8,00 (6,0; 10,0) *	4,50 (4,0; 6,0)
НСТ-тест спонт., инт-ть, у.е.	0,07 (0,05; 0,09)	0,14 (0,11; 0,16) *	0,11 (0,08; 0,14) *	0,06 (0,05; 0,09)
НСТ-тест индуц., акт-ть, %	9,0 (7,0; 13,0)	16,5 (12,5; 18,5) *	11,0 (8,0; 15,0)	8,5 (6,0; 11,0)
НСТ-тест индуц., инт-ть, у.е.	0,12 (0,08; 0,17)	0,23 (0,19; 0,26) *	0,15 (0,12; 0,18)	0,11 (0,09; 0,12)
ЛЦ, $\cdot 10^9$/л	3,40 (2,32; 3,77)	2,49 (2,00; 2,86) *	2,27 (2,00; 3,69) *	2,79 (2,05; 3,92)
$CD3^+$, $\cdot 10^9$/л	1,72 (1,22; 2,17)	1,22 (0,79; 1,40) *	1,06 (0,73; 1,58) *	1,44 (0,89; 1,94)
$CD45RA^+$, $\cdot 10^9$/л	0,36 (0,30; 0,46)	0,17 (0,09; 0,27) *	0,17 (0,14; 0,33) *	0,16 (0,12; 0,21) *
Ig M, г/л	0,29 (0,27; 0,86)	0,32 (0,24; 0,53)	0,33 (0,22; 0,48)	0,38 (0,19; 0,52)
Ig G, г/л	53,43 (44,21; 53,58)	30,43 (25,42; 38,68) *	30,53 (23,49; 36,54) *	43,80 (32,95; 65,45)
TNF-α, пг/мл	1,18 (0,84; 1,96)	2,25 (2,02; 2,92) *	3,42 (2,72; 6,14) *	3,48 (1,77; 5,05) *
IFN-γ, пг/мл	0,83 (0,29;1,24)	0,73 (0,12; 1,15)	0,98 (0,59; 1,35)	1,06 (0,65; 1,74)
IL-4, пг/мл	0,79 (0,50; 1,75)	1,93 (1,36; 2,51) *	3,26 (2,58; 5,65) *	2,97 (1,57; 4,97) *
Примечание. * – значимые ($p<0,05$) различия с группой 1. ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы, СЯН – сегментоядерные нейтрофилы, ЛЦ – лимфоциты, МЦ – моноциты, АФ – активность фагоцитоза, ИФ – интенсивность фагоцитоза.				

Таблица 3. Корреляция между площадью ожога ($см^2$) и показателями иммунного статуса при экспериментальной ТТ

Показатели	5 сутки	10 сутки	20 сутки
ПЯН, $•10^9$/л	**R=0,49**	**R=0,38**	-
СЯН, $•10^9$/л	**R=0,34**	R=0,22	R=0,24
МЦ, $•10^9$/л	R=0,17	R=0,15	R=0,15
АФ, %	**R=0,58**	**R=0,44**	R=0,31
ИФ, у.е.	**R=0,53**	**R=0,41**	R=0,31
НСТ-тест спонт., активность, %	**R=0,64**	**R=0,47**	R=0,17
НСТ-тест спонт., интенсивность, у.е.	**R=0,57**	R= 0,25	R= 0,15
НСТ-тест индуц., активность, %	**R=0,41**	R=0,19	R=0,19
НСТ-тест индуц., интенсивность, у.е.	R=0,37	R=0,17	R=0,17
ЛЦ, $•10^9$/л	R= - 0,27	**R= - 0,34**	R= - 0,27
$CD3^+$, • 10^9/л	R= - 0,27	**R= - 0,34**	R= - 0,27
$CD45RA^+$, • 10^9/л	R= - 0,31	**R= - 0,38**	R= - 0,18
Ig M, г/л	R= - 0,11	**R= - 0,14**	R= - 0,07
Ig G, г/л	**R= - 0,44**	**R= - 0,52**	R= - 0,19
ТНФ-α, пг/мл	**R=0,57**	**R=0,64**	**R=0,59**
ИНФ-γ, пг/мл	R=0,27	R=0,27	**R=0,37**
IL-4, пг/мл	**R=0,44**	**R=0,51**	**R=0,47**

Примечание. Представлены значения коэффициента корреляции Спирмена. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые ($p<0,05$) связи.

Сведения об авторах:

Осиков Михаил Владимирович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск,prof.osikov@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-6487-9083

Агеева Анна Алексеевна – ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск,anne.ageeva.r@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-3061-7621

Для ссылки: Лысенко О.В. Возможная коррекция патологии иммунной системы у больных микробной экземой / Лысенко О.В., Латанская О.А.// Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. – № 1– с.53-62.

УДК 616.521-002.7-097

ВОЗМОЖНАЯ КОРРЕКЦИЯ ПАТОЛОГИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ МИКРОБНОЙ ЭКЗЕМОЙ

Лысенко О.В., Латанская О.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Южно-Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации,454092, Челябинск, ул. Воровского, 64

POSSIBLE CORRECTION OF THE IMMUNE SESTEM PATHOLOGY FOR PETIENTS WITH MICROBIAL ECZEMA

Lysenko O.V.LatanskayaO.A.

Federal state-funded educational institution of the higher education "Southern Ural state medical university" Ministries of Health of the Russian Federation, 454092, Chelyabinsk, Vorovskogo St., 64

РЕЗЮМЕ

Частота и особенности клинического течения микробной экземы могут быть причиной изучения характера иммунного ответа при данном процессе. Целью работы явилось исследование изменений показателей иммунной системы больных микробной экземой и влияния отечественного иммунотропного препарата на течение воспалительного процесса.

Проведено проспективное одноцентровое рандомизированное исследование, включавшее 139 больных микробной экземой. Стандартными методами изучали субпопуляционный спектр лимфоцитов, гуморальный иммунитет и цитокиновый профиль. Одна часть пациентов получала базисную терапию, вторая – модифицированную терапию с включением отечественного иммунотропного препарата – глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП). Комплексную оценку лечения проводили с помощью изучения динамики Индекса Оценки Тяжести Микробной Экземы

(ИОТМЭ) после завершения базисной и модифицированной терапии.Оценку качества жизни проводили с использованием ДИКЖ (дерматологического индекса качества жизни) так же до и после базисной и модифицированной терапии.

Установлено, что основными проявлениями нарушений иммунного статуса у больных микробной экземой можно считать дисбаланс иммунорегуляторныхсубпопуляций.В результате проведенной терапии отклонения показателей иммунной системы у больных подгруппы 1изменялись в положительную сторону значительнее, чем в подгруппе 2.

Модифицированная терапия с применением отечественного иммунотропного препарата глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) позволяет повысить качество жизни больных инфекционной экземой и сократить сроки госпитализации.

Ключевые слова: микробная экзема, иммунитет, иммунотропная терапия.

SUMMARY

The frequency and characteristics of microbial eczema may be the reason for studying of the immune response in this process. The goal was to study the indicators of the immune system of patients with microbial eczema and the effect of a domestic immunotropic drug on the course of the inflammatory process.

A single-screw randomized trial was conducted, including 139 patients with microbial eczema. Standard methods were used to study the subpopulation spectrum of lymphocytes, humoral immunity and the cytokine profile. Some patients received basic therapy, another received modified therapy with the inclusion of the immunotropic drug – glucosaminylmuramyldipeptid (GMDP). The comprehensive assessment of the treatment was carried out by studying the dynamics of the Index for assessing the severity of microbial eczema after completion of basic and modified therapy. Quality of life assessment was carried out using the Dermatological index of quality of life also before and after basic and modified therapy.

It was found that the main manifestation of immune status disorders in patients with microbial eczema can be considered an imbalance of immunoregulatory subpopulations. As a result of the therapy, deviation of the immune system indices in patients of subgroup 1 changed in a positive direction more significantly then in 2.

Modified therapy using glucosaminylmuramyldipeptid can improve the quality of life of patients with microbial eczema and reduce gospitalization.

Keywords: microbial eczema, immunity, immunotropic therapy.

Экзематозный процесс, инициированный микроорганизмами, тем или иным путем попадающими в кожу, согласно классификациям С.Т. Павлова и соавт.

(1961), О.К. Шапошникова и соавт. (1975), Ю.К. Скрипкина и соавт. (1999) и других известных дерматологов, называется микробной экземой. В МКБ 10 пересмотра, ориентированной более всего на классификации, принятые в США, данный процесс может быть назван либо «монетовидной экземой» (L 30.0), либо «инфекционным дерматитом» (L 30.3). Нумулярная (монетовидная) экземадействительно является одной из разновидностей микробной экземы, но только одной из них. Термин «инфекционный дерматит» вообще не совсем понятен, поскольку располагается в рубрике L 20-L30 (Дерматит и экзема), а по смыслу более соответствует пиодермии. Как бы то ни было, микробная (инфекционная) экзема – актуальная медико-социальная проблема современной дерматологии. Как писала А.А. Кубанова с соавторами еще в 2010 г., именно экзема составляет большую часть заболеваемости аллергодерматозами жителей промышленных центров России, а в экологически неблагоприятных, урбанизированных регионах, таких, как Челябинская область, может достигать 50,0-60,0% от всех зарегистрированных случаев [1]. Среди всех форм экземы именно микробная экзема является одной из наиболее частыхи составляет 12-27% всех случаев, занимая второе место после истинной [2], причем в последние годыимеет тенденцию к более тяжелому течению и торпидностью к проводимой терапии, о чем мы неоднократно убеждались во время проводимых нами исследований [3, 4, 5].

Проблема терапии микробной экземы остаётся по прежнему актуальной, поскольку используемые методы имеют ограничения из-за спектра противопоказаний к ним и наличия осложнений [6, 7, 8]. Повысить эффективность терапиивозможно путем оценки состояния иммунной системы и учета её девиаций, устранение которых позволит ускорить обратное развитие патологического процесса. Известно, чтопод влияниембактериальной флоры, моновалентный тип сенсибилизации, превалирующий в начале, трансформируется в поливалентный, формируются аутоантигены кожи. Аутоантитела,в начале заболевания являющиеся следствием патологического процесса,в дальнейшем становятся одним из патогенетических факторов, приводящих к прогрессированию очагов. Сенсибилизация к указанным аллергенам характеризуется возрастанием размеров гиперэргической реакции немедленного типа, констатируется увеличение иммуноглобулинов всех классов[9,10]. Появление стафилококковых суперантигенов, экзотоксинов, энзимов резко усиливает иммунное воспаление в коже и приводит к накоплению пула Т-клеток памяти, имеющих тропизм к дермальным антигенам. Мы доказали и неоднократно опубликовали, что клеткам с фенотипом CD 45 RO принадлежит ведущая роль в аллергическом воспалении, реализуемом по типу гиперчувствительности замедленного типа. Поступая в кожу, CD45RO активизируются, продуцируют цитокины, хемокины и другие ме-

диаторы воспаления, которые воздействуют на иммунокомпетентные клетки, вовлекая их в каскад воспалительных реакций [3, 4]. Первично в патологический процесс при микробной экземе вовлекаются Т-хелперы 1-го типа, основной функцией которых является участие в реакциях гиперчувствительности замедленного типа и продукции ИЛ-2, ИФН-γ, а также супрессия В-лимфоцитарной активности [11]. При микробной экземе основной хемотоксический сигнал Т-хелперы (CD4) получают от ИЛ-12, и если Т-хелперы 1-го типа запускают иммунные реакции в эпидермисе, то Т-супрессоры (CD8) являются основными исполнителями этих реакций. Дальнейшая активация общего и местного иммунитета при экземе сопровождается синтезом и секрецией Т-клетками значительного количества цитокинов (предположительно ИЛ -1, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-1α, ИЛ-1β, ИЛ-6, ИФН-γ и ФНО- α), дающих разнонаправленный эффект [12].

Коррекция указанной патологии иммунной системы при микробной экземе могла бы обеспечить повышение эффективности терапии и сократить сроки лечения и временной утраты трудоспособности [15]. Поэтому исследования, проводимые в данном направлении, можно считать актуальными.

Цель работы:

Изучить влияние отечественного иммунотропного препарата на измененные показатели иммунной системы больных инфекционной экземой с доказанной патологией иммунной системы.

Для решения данной задачи было проведено одноцентровое проспективное рандомизированное исследование с привлечением 100 больных микробной экземой с доказанной патологией иммунной системы, описанной нами в предыдущих работах [16, 17] и находящихся на лечении в дерматологических стационарах г. Челябинска.

Комплексную оценку тяжести микробной экземы проводили с помощью Индекса Оценки Тяжести Микробной Экземы (ИОТМЭ), оценку качества жизни проводили с использованием ДИКЖ (дерматологического индекса качества жизни). Методом рандомизации 100 пациентов были разделены на 2 подгруппы, отличающиеся по характеру проводимого лечения. Контролем явились 30 условно-здоровых лиц. Клинический мониторинг проводили на 1, 10 и 17 день лечения. Иммунологические исследования осуществляли дважды: до начала лечения и после окончания терапии на 17 день пребывания в стационаре. Иммунологические методы включали анализ функциональной активности комплимента в сыворотке крови, популяционного состава лимфоцитов, процессов их позитивной и негативной активации, определение количества моноцитов в крови пациентов, анализ цитокиновых процессов на основе определения уровней цитокинов IL-17, IL-4 и IFN-γ.

Пациенты подгруппы 1.1. получали базисную терапию, предусмотренную Федеральными клиническими рекомендациями по ведению больных экземой (2017), пациентам подгруппы 1.2. базисную терапию сочетали с иммунотропным препаратом ликопид (с 1-го дня лечения по 10мг 1 раз в сутки 10 дней).

Статистический анализ данных проводили с помощью пакетов прикладных программ MicrosoftExcel 2007 и STATISTICA 6.0 (forWindows; «StatSoft, Inc.», 2001). При обработке полученного материала использовались методы вариационной статистики с вычислением среднего арифметического и стандартной ошибки (M ± m), а также квартильного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Как описано нами в более ранних публикациях, предшествующим лечению состоянием иммунной системы у больных микробной экземой было значительное отклонение показателей всех уровней иммунитета. Установлено увеличение общего количества лейкоцитов при нормальном процентном и абсолютном содержании лимфоцитов. Достоверно высоким оказался уровень CD4 лимфоцитов (0,55±0,01 х10^9кл/л по сравнению с 0,45±0,03×10^9кл/л в группе контроля), в то время как количество цитотоксических лимфоцитов CD8 оставалось в пределах нормы. Соотношение CD4/CD8 лимфоцитов было выше, чем в контрольной группе, что отражало численное превалирование цитотоксической субпопуляции лимфоцитов над хелперной. Процесс микробной экземы сопровождался снижением концентрации естественных киллеров (CD16) (0,43±0,01×10^9кл/л против 0,53±0,03×10^9кл/л в группе контроля, $p<0,01$). В соответствии с этим, отмечено существенное уменьшение, как процентного соотношения, так и абсолютного количества CD95 лимфоцитов, передающих сигнал цитотоксическим клеткам.

Активация клеток посредством трансферрин-зависимого механизма и антигена главного комплекса гистосовместимости II при микробной экземе не происходила, имело место достоверное снижение процентного и абсолютного содержания как CD71 лимфоцитов (0,10±0,01×10^9кл/л при показателе нормы 0,17±0,01×10^9кл/л, $p<0,001$), так и HLA DR. Регистрировалось уменьшение процентного и абсолютного содержания лимфоцитов, активированных посредством интерлейкина-2 (CD25). Отмечалось достоверно повышенное количество наивных Т-лимфоцитов (CD45RA) как в процентном, так и в абсолютном выражении в сравнении с контрольной группой. Так, уровень CD45RA при микробной экземе составил 0,48±0,01×10^9кл/л, в группе контроля – 0,30±0,02×10^9кл/л, $p<0,001$. Процентное содержание апоптических лимфоцитов было повышено незначительно, абсолютные показатели не отличались от контроля.

Содержание комплемента (CH50) было достоверно снижено ($p<0,01$) по сравнению с показателями контрольной группы. Уровень циркулирующих иммунных комплексов в 2 раза превышал показатели контроля. Наблюдалось снижение содержания иммуноглобулинов класса А в сравнении с контролем ($p<0,01$), подобная же динамика имелась и в отношении IgM, IgG, IgE. Кроме того, обнаружено достоверное повышение концентрации IL-2, что может свидетельствовать об активном островоспалительном процессе на системном уровне. Достоверное повышение уровня IL-17 и IFN-γ связано с участием данных цитокинов в развитии аллергического воспаления, а также с тем, что основной физиологической их функцией является защита от инфекций.IFN-γ, выступая в качестве провоспалительного цитокина, обеспечивает запуск цитокинового каскада, направленного на формирование очага воспаления с привлечением эффекторных клеток. Количество лактоферрина в сыворотке крови, напротив, было достоверно ниже по сравнению с контрольной группой, что может являться одним из механизмов развития бактериальной инфекции у данных пациентов.

В соответствии с полученными результатами, препаратом иммуннокоррекции был выбран –глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП), содержащий в своем составе полный синтетический аналог повторяющегося фрагмента пептидогликана клеточной стенки бактерий. В естественных условиях ГМДП (ликопид) «имитирует» естественный процесс обнаружения фрагментов пептидогликана бактерий, т.е. действие препарата максимально приближено к естественной иммунорегуляции.

Фармакологическая активность ГМДП реализуется посредством связывания его действующего начала (ГМДП) с внутриклеточным рецептором врожденного иммунитета NOD2 [13, 17, 18]. Связывание ГМДП с рецептором приводит внутри клетки к целой серии событий, которые заканчиваются активацией нуклеарного фактора NF- и выработкой ряда ключевых цитокинов – ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12, ФНО-α, IFN-g, колониестимулирующих факторов. Воздействуя на ключевую молекулярную мишень (рецептор) в иммунной системе, ГМДП имитирует естественный процесс обнаружения фрагментов пептидогликана бактерий.

ГМДП повышает функциональную активность (бактерицидную, цитотоксическую) главных клеток врожденной иммунной системы – фагоцитов, усиливает презентацию ими антигенов, пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, повышает синтез специфических антител, способствует нормализации баланса Th1/Th2-лимфоцитов в сторону преобладания Th1. ГМДП стимулирует лейкопоэз и восстановление количества гранулоцитов путем активации выработки колониестимулирующих факторов.

Проанализировав после лечения показатели иммунитета у больных обеих подгрупп: 1.1. – получавшей только базисную терапию и 1.2. – дополнительно использовавшей ГМДП, мы установили, что у всех наблюдалось улучшение иммунологического портрета. Практически у всех нормализовались показатели клеточного иммунитета. Во всех исследуемых группах достоверно понизилось общее количество лейкоцитов и наблюдалась тенденция к снижению процентного содержания лимфоцитов.

В то же время, в подгруппе, получавшей ГМДП, процентное и абсолютное содержание CD3 лимфоцитов достоверно повысилось (с 59,58±0,83% до 64,3±1,2%), а в подгруппе с базисной терапией только наметилась тенденция к их повышению. Количество CD4 лимфоцитов в подгруппе 1.2 снизилось и стремилось к показателю контроля, тогда как в подгруппе базисной терапии тенденция только наметилась. Соотношение CD4/CD8 лимфоцитов достоверно снизилось как в подгруппе 1.1, так и в подгруппе 1.2, только в подгруппе 1.2 данный показатель оказался ближе к показателям контрольной группы. В обеих подгруппахпрактически нормализовалась концентрация естественных киллеров (CD16). В соответствии с этим пришло к норме, как процентное соотношение, так и абсолютное количество CD95 лимфоцитов, передающих сигнал цитотоксическим клеткам. Во время лечения микробной экземы восстановились механизмы активации иммунокомпетентных клеток через следующие механизмы: трансферрин-зависимый механизм (CD71), а также через антиген главного комплекса гистосовместимости II (HLA DR). У всех пациентов произошла нормализация содержания лимфоцитов, активированных посредством интерлейкина-2, в подгруппе, получавшей ГМДП, наметилась тенденция по нормализации В-клеток (CD22), снижение которых было выявлено до начала лечения, нормализовалось содержания наивных лимфоцитов CD45RA.

Уровень ЦИК в подгруппе 1.2 (базисная терапия + ГМДП) снизился до уровня контроля, в подгруппе 1.1 уменьшился в 1,5 раза, но контрольных цифр не достиг. Во время лечения с привлечением ГМДП значительно уменьшилось содержание общего иммуноглобулина Е и приблизилось к показателям нормы, а в подгруппе базисной терапии достоверного снижение иммуноглобулина Е не произошло. Уровнииммуноглобулинов класса А, М и G в подгруппе 1.2 нормализовались, в подгруппе 1.1 приблизились к показателям контроля.Уровень комплимента в крови в подгруппе 1.2 достиг показателя контроля, поднявшись с 57,54±1,10 усл. ед. до 67,70±4,4 усл. ед.

Таким образом, в результате проведенной терапии отклонения показателей иммунной системы у больных подгруппы, дополнительно использовавшей ГМДП, изменялись в положительную сторону значительнее, чем в подгруппе исключи-

тельно базисной терапии. В соответствии с изменениями иммунной системы клиническое выздоровление в подгруппе 1.2, также наступало быстрее и носило более завершенный характер.

Так, индекс оценки тяжести микробной экземы (ИОТМЭ) в подгруппе больных микробной экземой, получавших только базисную терапию, снизилсяс 25,3±3,8 до 9,04±1,17, а в подгруппе, использовавшей модифицированную терапию с включением в неё ГМДП–с 26,6±3,43 до 5,3±0,94, что достоверно значительнее, чем в первой подгруппе.ДИКЖ в первой подгруппе пациентов снизился в 3раза, однако это достоверно меньше, чем в подгруппе 1.2, где снижение составило с 25,9±0,7 до 1,47±0,9, т.е. в 5,9 раза (рисунок 1).

Процентное соотношение клинического выздоровления, значительного улучшения и улучшения, а также длительность стационарного лечения в подгруппах 1.1 и 1.2 представлены в таблице 1.

Как видно, значительное улучшение и клиническое выздоровление наступало у 96% больных, получавших модифицированную терапию. В подгруппе базисной терапии этот показатель оказался существенно ниже (26%), клиническое выздоровление при использовании комплексной терапии наблюдалось в 14 раз чаще, чем при базисной.

Выводы:

1. Включение в комплексное лечение больных микробной экземой иммунотропного препарата глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) вызывает коррекцию большинства показателей иммунного ответа, в особенности процентного содержания CD4 лимфоцитов,соотношения CD4/CD8 лимфоцитов, концентрации естественных киллеров (CD16), содержания наивных лимфоцитов CD45RA и уровня комплимента.

2. Индекс оценки тяжести микробной экземы при модифицированной терапии снижаетсяв 13 раз, дерматологический индекс качества жизни – в 5,9 раз.

3. Использование отечественного препарата ГМДП в комплексной терапии больных инфекционной экземой уменьшает срок госпитализациина 30%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kubanova A.A., Lesnaya I.N., Kubanov A.A. et al. Analys of the epidemic situation and morbidity dynamics of sexually transmitted infection, and skin diseases on the territory of the Russian Federation. Vestnikdermatologiiivenerologii2010; (5): 4-21.[КубановаА.А., ЛеснаяИ.Н., КубановА.А. идр. Анализ эпидемической ситуации и динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, и дерматозами на территории Российской Федерации. Вестник дерматологии и венерологии 2010;(5): 4-21].

2. Potekaev N.S. Eczema: aspects of history and modern ideals.Klinicheskayadermatologiyaivenerologiya 2006; (4): 18-24. [ПотекаевН.С. Экзема: аспектыистории исовременныепредставления.Клиническая дерматология и венерология2006;(4): 18-24].

3. Lysenko O.V. Features of the population and subpopulation spectrum of lymphocytes in patients with infectious eczema. Rossiyskiyimmunologicheskiyzhurnal2014;(8): 556-559.[Лысенко О.В. Особенности популяционного и субпопуляционного спектра лимфоцитов у больных инфекционной экземой. Российский иммунологический журнал2014;(8): 556-559].

4. Lukianchikova L.V., Lysenko O.V. Features of the humoral immunity and cytokine profile in patients with microbial eczema. Rossiyskiyimmunologicheskiyzhurnal2015;(9): 78-80. [Лукьянчикова Л.В., Лысенко О.В. Особенности гуморального звена иммунитета и цитокинового профиля у больных инфекционной экземой. Российский иммунологический журнал2015; (9): 78-80].

5. Lysenko O.V., Lukianchikova L.V. Diagnostic immunological criteria for microbial eczema. Rossiyskiyimmunologicheskiyzhurnal2016; (10): 283-285. [ЛысенкоО.В., ЛукьянчиковаЛ.В. Диагностическиеиммунологическиекритериимикробнойэкземы.Российский иммунологический журнал2016;(10): 283-285].

6. KubanovaA.A., SkripkinY.K., AkimovG.V. ZnamenskajaL.V. Eczema. In: Dermatology. National leadership. Eds. Y.K. Skripkin, Y.S. Butov, O.L.Ivanov. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. p. 654-661. [КубановаА.А., СкрипкинЮ.К., АкимовГ.В., ЗнаменскаяЛ.В. Экзема.В: Дерматовенерология. Национальное руководство.Под ред. Ю.К. Скрипкина, Ю.С. Бутова, О.Л. Иванова. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011. с. 654-661].

7. Lysenko O.V., Lukianchikova L.V., Podshvalova T.V. The use of Tyloron in the treatment of microbial eczema against trophic ulcers. Klinicheskayadermatologiyaivenerologiya2010; (8): 85-89. [ЛысенкоО.В., Лукьянчикова, Л.В., ПодшиваловаТ.В. Применениетилоронаприлечениимикробнойэкземынафонетрофическихязв.Клиническая дерматология и венерология2010; (8): 85-89].

8. Abdrahimova N.A., Khismatullina Z.R., Mustafina G.R. et al. An index for assessing the severity of microbial eczema in assessing the clinical efficacy of treatment of nummular microbial eczema. Dnevnikkazanskoymeditsinskoyshkoly2018; (2): 138-141. [АбдрахимоваН.А., ХисматуллинаЗ.Р., МустафинаГ.Р. идр. Индекс оценки тяжести микробной экземы в оценке клинической эффективности терапии нумулярной микробной экземы.Дневник казанской медицинской школы2018; (2): 138-141].

9. Strukova E.I., Kenikfest Y.V. Pathogenetic significance of Staphylococcus aureus with atopic dermatitis. Fundamental'nyeissledovaniya2013; (7-3): 680-687. [СтуковаЕ.И., КениксфестЮ.В. Патогенетическоезначениезолотистогостафилококкаприатопическомдерматите.Фундаментальные исследования2013; (7-3): 680-687].

10. Bakulev A.L. Kravchenia S.S., Murashkin N.N. et al. Microbial eczema: new possibilities of combined topical therapy.Vestnikdermatologiiivenerologii2011; (6): 98-107.[БакулевА.Л., КравченяС.С., МурашкинН.Н. идр. Микробная экзема: новые возможности комбинированной топической терапии. Вестник дерматологии и венерологии2011; (6): 98-107].

11. Lysenko O.V., Lukianchikova L.V. Correlation between indicators of immunity and the level of bacterial contamination in patients with microbial eczema. Uspekhimeditsinskoymikologii2016; 15: 260-264. [Лысенко О.В., Лукьянчикова Л.В. Корреляционные связи между показателями иммунитета и уровнем бактериальной обсемененности у больных микробной экземой.Успехи медицинской микологии 2016; 15: 260-264].

12. KhismatullinaZ.R., Nadyrchenko N.A. Clinical and immunological efficiency "Imunofan" in the treatment of nummular microbial eczema. IntJ Pharm Res2019; 11(3): 416-420.

Сведения об авторах:

Лысенко Ольга Васильевна – д.м.н., профессор, профессор кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, врач-дерматовенеролог ООО «Экология здоровья»; ORSID – 0000-002-1633-2902

Латанская Оксана Андреевна – старший лаборант кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Автор ответственный за переписку:
Лысенко О.В. 454084 г. Челябинск ул. Набережная д.11 кв.8
Тел +79222305425 olga_lisenko@bk.ru

Для ссылки: Белогорохов В.С. Проблема генетической изменчивости вируса иммунодефицита человека в вопросах специфической / Белогорохов В.С., Зарипов В.И., Пешикова М.В., Шлепотина Н.М. // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. – №1 – с.63-75.

УДК 577.21 + 578.53

ПРОБЛЕМА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА В ВОПРОСАХ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Белогорохов В.С.,ЗариповВ.И., Пешикова М.В., Шлепотина Н.М.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия

THE PROBLEM OF GENETIC VARIABILITY OF THE HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS IN THE ISSUES OF SPECIFIC PREVENTION AND THERAPY OF HIV-INFECTION

Belogorokhov V.S.,Zaripov V.I., Peshikova M.V., Shlepotina N.M.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South-Urals State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

РЕЗЮМЕ

В статье рассмотрены механизмы изменчивости вируса иммунодефицита человека, включающие в себя мутации и рекомбинации. Рассмотрена роль обратной транскриптазы, ДНК-полимеразы, ферментов APOBEC и др. Рассмотрены сложности в создании вакцин против вируса иммунодефицита человека, в том числе в ключе его высокой изменчивости.

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека, генетическая изменчивость, нуклеиновая кислота, иммунопрофилактика, иммунотерапия.

SUMMARY

The article discusses the mechanisms of the human immunodeficiency virus variability, including mutations and recombinations. The role of reverse transcriptase, DNA-

polymerase, APOBEC enzymes, etc. is considered. Difficulties in the creation of vaccines against the human immunodeficiency virus, including in the context of its high variability, are considered.

Keywords: human immunodeficiency virus, geneticvariability, nucleic acid, immunoprophylaxis, immunotherapy.

Введение. В настоящее время ВИЧ-инфекция представляет собой актуальную проблему для врачей всех специальностей. Будучи сравнительно молодой инфекцией, она получила распространение как в группах риска, так и за их пределами. Случаи заражения встречаются в различных странахи на различных континентах [1]. Согласно предварительным данным федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, в России на 31.12.2019 кумулятивное число случаев заражения ВИЧ, выявленных с помощью иммунного блота, составило 1 423 999, за 2019 год – 94 668; показатель заболеваемости в 2019 году по России составил 64,5 на 100 тыс. населения; при этом аналогичный показатель в Челябинской области оказался равен 130,1 на 100 тыс. населения; наибольшая пораженность ВИЧ-инфекцией наблюдалась среди лиц 30-44 года; среди впервые выявленных случаев ВИЧ-инфекции в качестве пути заражения преобладал гетеросексуальный половой контакт (62,7%) по сравнению с парентеральным путем при употреблении наркотических веществ (33,6%). Это свидетельствует о распространении ВИЧ-инфекции за пределами уязвимых групп среди общей популяции, что наносит значимый социальный и экономический урон [2].

Генетическая изменчивость ВИЧ. Большое значение для разработки мер специфической профилактики и лечения ВИЧ-инфекции имеет чрезвычайно высокий уровень генетического разнообразия вируса. Во многом генетическое разнообразие ВИЧ-1,принадлежащего к M, N, O и P группам, обязано неоднократно реализовавшемуся зоонозному пути проникновения данного вируса в человеческую популяцию. Наблюдается неравномерное распределение генетических вариантов ВИЧ по миру, что приводит к преобладанию различных подтипов и рекомбинантных форм вируса в разных регионах. Например, подтип B распространен в странах Европы и Северной Америки, Японии, Австралии, а подтип C в значительной мере представлен в Южной Африке и Индии. Данный феномен стал результатом процессов миграции населения и мог быть обусловлен не столько свойствами вируса (например, репликативной способностью), сколько так называемым «эффектом основателя», описанным в теории эволюции, суть которого заключается в том, что на каждой территории прежде других получает распространение именно тот вариант,

который попал на нее первым. Указанный эффект привел к последующей дивергенции вируса в пределах исходного генетического варианта [3].

Ретровирусы имеют две копии РНК-генома, которые упакованы в вирионы вместе с ферментом обратной транскриптазой [4]. Вариабельность генома, характерная для ретровирусов, может обусловливать ускользание ВИЧ от иммунной защиты организма хозяина, а также низкую эффективность антиретровирусной терапии, наблюдающуюся в ряде случаев, и проблемы на пути создания вакцин против ВИЧ [5]. На сегодня известно, что скорость возникновения мутаций у ВИЧ-1 составляет около 10^{-4}-10^{-5} на одну пару азотистых оснований за один цикл репликации, что в 100 000 раз выше аналогичного показателя у млекопитающих. Данный вирус имеет длину генома примерно 10 000нуклеотидов. Таким образом, для ВИЧ может быть характерно возникновение мутации почти в каждом цикле репликации. Тем не менее, частота мутирования ВИЧ, выявленная в ходе различных исследований, может варьировать в зависимости подтипа вируса и методического подхода к ее изучению и может иметь более низкое значение [5-7].В результате мутаций и рекомбинаций у зараженного ВИЧ человека появляется вирусная популяция с большим генетическим разнообразием РНК, вследствие чего формируются так называемые «квазивиды» (варианты исходного вируса) [5]. При этом последовательности вирусной РНК, выделенной от одного пациента, могут отличаться на 10%. В терминальную стадию ВИЧ-инфекции (СПИД) генетическое разнообразие квазивидов сопоставимо с генетическим разнообразием вируса гриппа, циркулирующего в человеческой популяции в течение года [5, 8].

Вариабельность генома вируса зависит от степени точности копирования его генома. Ошибки при считывании генетической информации во время копирования нуклеотидных последовательностей нуклеиновых кислот в процессах репликации, транскрипции и обратной транскрипции являются источником генетического разнообразия. Фермент обратная транскриптаза при попадании вируса в клетку человека участвует в построении двухцепочечноймолекулы ДНК на основе имеющейся вирусной РНК. После интеграции данной ДНК в геном клетки-хозяина нуклеотидные последовательности ВИЧ-1 транскрибируются уже РНК-полимеразой II эукариотической клетки [9]. Обратная транскриптаза вируса совершает большое количество ошибок в процессе обратной транскрипции, что выступает основной причиной вариабельности ВИЧ-1 [5, 9, 10]. Вирусная обратная транскриптаза не обладает экзонуклеазной корректирующей активностью [5, 9]. Частота ошибок обратной транскриптазы вируса достигает примерно $5{,}9^{-4}$-$5{,}3^{-5}$ мутаций на пару оснований за цикл репликации [6, 9, 11], по другим данным – $(5{,}0\text{-}6{,}7) \times 10^{-4}$ [5, 12].Кравацкий Ю.В. и соавт. (2016) при определении частот мутаций в геноме ВИЧ-1 субтипа А в областях, содержащих эффек-

тивные мишени РНК-интерференции, выявили, что обратная транскриптаза вируса способна продуцировать меньшее количество инделей по сравнению с количеством точечных мутаций [9], что оказалось достаточно неожиданным, так как для обратной транскриптазы ВИЧ-1 характерно «проскальзывание» в процессе обратной транскрипции, сопровождающееся возникновением небольших делеций и сдвигомрамки считывания [13].В отношении мутаций генома ВИЧ-1 было установлено, что частота возникновения мутаций за один цикл репликации invitro значительно превосходит таковую invivo [6]. Влиять на частоту мутаций генома ВИЧ-1 может также наличие полиморфизмов обратной транскриптазы [5].

Встроенный в геном клетки провирус, полученный в результате обратной транскрипции вирусной геномной РНК, транскрибируется РНК-полимеразой II хозяина в информационную РНК и геномную РНК. Информационная РНК подвергается сплайсингуи служит основой для построения вирусных белков, при этом геномные РНК образуют димеры и составляют геном генерируемых вирусных частиц [14]. Мутации могут возникать и в процессе транскрипции генома вируса РНК-полимеразой II, но ее вклад в изменчивость вирусного генома незначителен: при анализе длинных концевых повторов ВИЧ-1 было установлено, что большинство мутаций происходит именно в процессе обратной транскрипции [5, 15]; кроме того, РНК-полимераза IIобусловливает меньше 3% ошибок во время репликации [5, 16].

Важную роль в возникновении мутаций у ВИЧ-1 играют ферменты дезаминазы семейства APOBEC [5]. Эти энзимы производят дезаминирование азотистых оснований в составе нуклеиновых кислот, изменяя таким образом содержащуюся в ней генетическую информацию [4]. Ферменты, относящиеся к группе APOBEC3, способствуют защите клеток от ретровирусов, включая ВИЧ-1 [4, 17]. APOBEC, влияющие на репликацию ВИЧ, упаковываются в вирусные частицы и модифицируют минус-цепь ДНК после того, как РНК была расщеплена, но до того, как была синтезирована плюс-цепь [18, 19]. Гипермутирование генома ВИЧ может быть вызванодезаминированием с помощьюферментов APOBEC [5, 20]. При дезаминированиицитозина данное азотистое основание замещается на урацил, а в комплементарной цепи происходит замена гуанина на аденин [21]. Вследствие этого процесса образуются гипермутировавшие и нежизнеспособные вирусные геномы. Противодействие APOBEC-белкам у ВИЧ-1 происходит с помощью белка Vif (VirusInfectivityFactor) [5]. Белок Vif блокирует включение APOBEC3F и APOBEC3G в процессе сборки вирусной частицы [21]. Вирусы при нарушении функционирования Vifв условиях invivoподвергаются гипермутагенезу [22].

Возникшие в геноме ВИЧ мутации подвергаются селекции благодаря иммунной системе организма хозяина, что приводит к формированию различных под-

типов вируса и может обусловливать феномен резистентности к лекарственной терапии данной инфекции, а также неэффективность иммунного ответа макроорганизма [23, 24]. Высокая скорость размножения вируса и возникновение в его геноме мутаций превосходит скорость развертывания механизмов иммунного ответа. Формирование мутаций позволяет ускользать вирусу от иммунного ответа – за счет этого эффект антител, способных нейтрализовать вирус, оказывается кратковременным[23]. Примечательным является тот факт, что другие ретровирусы, у которых частота мутаций сравнима с ВИЧ-1, все-таки имеют меньшую вариабельность, так как эти вирусы реплицируются более медленно в инфицированных клетках [19].

Помимо мутаций источником изменчивости генома ВИЧ-1 служат генетические рекомбинации, которые могут возникать между первично и вторично проникшими в организм человека штаммами вируса [23, 24]. Рекомбинации не сопровождаются возникновением мутаций denovo, но обеспечивают комбинацию предсуществующих полиморфных аллелей, в том числе обеспечивающих устойчивость к противовирусным препаратам [14, 25]. Рост числа взаимодействий между популяциями различных подтипов вируса, что наблюдается во время ко-инфекции, приводит к увеличению встречаемости его рекомбинантных вариантов в мире [26].Рекомбинации происходятмежду геномами двух генетически различающихся молекул РНК в одной вирусной частице, возникая в ходе обратной транскрипции. Рекомбинации служат важным механизмом эволюции вируса [27]. В результате рекомбинаций возникают изоляты вируса с геномными компонентами из разных подтипов, что, например, наблюдается в группе М ВИЧ-1 [28], вызывающей наибольшее количество случаев заражения в мире.Так, наряду с формированием в ходе дивергенции различных подтипов(A, B, C, D, F, G, H, J, K)и некоторых под-подтипов (A1-A4; F1-F2), наблюдается существование целого ряда циркулирующих рекомбинантных форм и большого числа уникальных рекомбинантных форм[3, 28, 29]. Наибольшее генетическое разнообразие ВИЧ-1 имеет место в Африке [28].В структуре пандемии ВИЧ-инфекции удельный вес рекомбинантных форм вируса постоянно возрастает, достигая 20%. Также наблюдается наличие так называемых двойных рекомбинантов – производных подтипов и рекомбинантов, которые уже были ранее зарегистрированы, а также мозаичных форм, сочетающих в себе участки геномов нескольких подтипов [3, 29]. Согласно данным RawsonJ.M.O. etal. (2018), рекомбинация необходима для поддержания целостности генома ВИЧ-1, а также для эффективной репликации вируса. Так, при блокировании рекомбинации у провируса наблюдалось наличие крупных делеций [30].Некоторые из рекомбинантов быстро закрепляются и распространяются в популяции [31]. При оценке частоты возникновения рекомбинаций у ВИЧ-1 подтипа В у инфицированного из одного ис-

точника оказалось, что эта величина (1,38 х 10^{-4} рекомбинаций/соседние локусы/поколение) примерно в 5,5 раз выше известной частоты развития точковых мутаций [32]. То, насколько высок потенциал рекомбинаций для изменчивости вируса, хорошо демонстрирует исследование NikolaitchikO. etal. (2015), в котором был изучен с помощью секвенирования ген полимеразы (pol) у рекомбинантов, полученных после одного цикла репликации у ВИЧ-1, содержащего геномные последовательности двух вариантов ВИЧ-1 субтипа А, циркулирующих в России. При этом рекомбинации происходили на протяжении всего гена, а каждая из 58 провирусных рекомбинантных последовательностей обладала уникальным генотипом [25].

При изучении SmythR.P. etal. (2014) частоты возникновения рекомбинаций в последовательностях gag и pol минимально модифицированного полноразмерного генома ВИЧ-1 оказалось, что событие рекомбинации не является случайным, а зависит от структурной последовательности гена, поскольку рекомбинации происходят в 6 раз чаще в так называемых «горячих точках» по сравнению с «холодными точками» [33].

Важнейшим механизмом рекомбинации служит происходящее во время обратной транскрипции переключение матрицы между двумя генетически различными геномными молекулами РНК [31]. По данным CromerD. etal. (2016), переключение матрицы в ходе обратной транскрипции происходит с частотой от 0,5 до 1,5/1000 нуклеотидов, что на всю длину генома ВИЧ составляет примерно 5-14 рекомбинаций [34].Для понимания механизмов рекомбинаций необходимо вспомнить последовательность работы генома ВИЧ. Каждая вирусная частица ВИЧ несет в себе две молекулы геномной РНК, создавая некое подобие диплоидности. Геном ВИЧ представлен двумя одноцепочечными молекулами РНК, нековалентно связанными около их 5'-конца. Фермент обратная транскриптаза для формирования двухцепочечной ДНК сначала синтезирует одноцепочечную ДНК (минус цепь) на основе геномной РНК, используемой в качестве матрицы. Последняя постепенно разрушается при помощиРНКазы Н. Минус-цепь ДНК служит матрицей для синтеза комплементарной цепи. Во время обратной транскрипции при синтезе минус-цепи ДНК происходит переключение матрицы от одной цепи РНК к другой с достаточно высокой частотой [14].В настоящее время рассматриваются различные механизмы переключения матрицы во время обратной транскрипции, среди которых данное событие может объясняться как результат преобладания скорости работы РНКазыН над скоростью работы ДНК-полимеразы [5, 14]. Формирование вирусных частиц, содержащих две разные геномные РНК (так называемых гетерозиготных вирионов), требует выполнения определенных условий: два или более вируса с разными гено-

мами должны инфицировать одну и ту же клетку, а также геномные РНК разного происхождения должны совместно упаковываться в вирусные частицы[14].

Подходы к специфической профилактике и терапии ВИЧ-инфекции.Как и любая другая вакцина, вакцина против ВИЧ-инфекции должна индуцировать иммунный ответ против данного вируса. Встает вопрос о выборе антигена, на который бы отреагировала иммунная система. ВИЧ вызывает иммунный ответ как путем антителогенеза, так и путем индукции антителозависимой клеточной цитотоксичности и ВИЧ-специфических цитотоксических лимфоцитов, что реализуется уже на ранней стадии ВИЧ-инфекции и продолжает свое сущствование в той или иной степени выраженности в течение всей жизни ВИЧ-инфицированного человека. Тем не менее, механизмы эффективной иммунной защиты против ВИЧ/СПИДа до сих пор не определены. Создание терапевтической вакцины является еще более сложной задачей, поскольку ее действие должно быть направлено на уже поврежденную иммунную систему [35]. Понимание молекулярных механизмов изменчивости ВИЧ позволяет создавать и обосновывать подходы к иммунотерапии и иммунопрофилактике данной инфекции [5].Разработка средств для проведения превентивной и терапевтической вакцинации уже не одно десятилетие привлекает к себе внимание исследователей. При этом нужно учитывать, что антигены для создания этих двух типов вакцин могут отличаться, так как заражение могут предотвратить, предположительно, только антитела, а при наличии инфекции сдерживающим фактором, главным образом, выступают цитотоксические лимфоциты, разрушающие пораженные вирусом клетки [35]. К сожалению, кандидатные вакцины, чья эффективность была оценена, либо не дали результатов, либо показали очень незначительную и спорную эффективность. В 2008 году на научной конференции одним из ведущих вирусологов в мире Дэвидом Балтимором была высказана мысль о том, что, возможно, эффективная вакцина против ВИЧ не будет создана никогда [36].

Тем не менее, научный поиск продолжается. В частности, были начаты испытания новых вакцин, основанных на индукции как антителогенеза, так и Т-клеточного иммунитета [37]. По данным на 2018 год, проходили испытания российской вакцины, представляющей собой смесь четырех плазмидных ДНК в изотоническом растворе натрия хлорида [38]. Разнообразие известных вирусных штаммов, безусловно, делает задачу разработки эффективной вакцины непростой [19]. Эффективная вакцина против ВИЧ-1 должна будет преодолеть высокую генетическую изменчивость вируса, при которой наибольшая вариабельность наблюдается в гликопротеинах вирусной оболочки, являющихся мишенями для нейтрализующих антител [39]. Активный научный поиск направлен на создание терапевтических вакцин. Стоит отметить, что первыми терапевтическими кандидатными вакцинами были препараты на основе гликопротеинов

оболочки ВИЧ, такие как инактивированные частицы ВИЧ с удаленным гликопротеином gp120, рекомбинантные gp120 и gp160. Применение этих препаратов не оказало влияния на клинические показатели пациентов. Отсутствие эффективности при прямой индукции нейтрализующих антител с помощью гликопротеинов оболочки объяснялось тем, что нейтрализующие эпитопы белков ВИЧ-1 скрыты и кратковременно экспонируются лишь во время заражения клеток [35].Кроме того, стоит помнить, что некоторые эпитопы гликопротеинов оболочки гомологичны белкам клеток человека. Большая часть индуцируемых ВИЧ-1 антител реактивны к вариабельным петлям gp120 и gp41 или осуществляют распознавание тех консервативных эпитопов, связывание с которыми не вызывает нейтрализацию вируса. Также важное значение имеет то, что эффект от антител, способных нейтрализовать вирусный штамм, оказывается недолгосрочным из-за формирования мутаций, позволяющих вирусу уходить от иммунного ответа [23, 40]. Обнадеживает то, что от ВИЧ-инфицированных лиц удалось выделить широко нейтрализующие антитела (bnAb), эффективные в отношении ряда штаммов ВИЧ [41, 42]. Тем не менее есть данные, что такие моноклональные широко нейтрализующие антитела образуются спустя месяцы и годы после заражения, возникая в условиях хронической ВИЧ-инфекции и не предупреждают прогрессирование заболевания [23, 43]. Также имеются данные о неэффективности вакцины, направленной на индукцию клеточного иммунитета против ВИЧ-1 [44]. Отмечено, что иммунодоминантные эпитопы ВИЧ являются высокомутабельными, при этом его консервативные эпитопы имеют недостаточный уровень иммуногенности [23].Таким образом традиционная концепция создания вакцин против ВИЧ пока не увенчалась успехом, что требует дальнейшего расширения представлений о ВИЧ-инфекции в целом. Именно здесь – на стыке вирусологии, иммунологии и генетики – находится основная масса проблем, с которыми сталкиваются создатели вакцин против ВИЧ.

Заключение. К сожалению, несмотря на имеющиесянаправления и предложения, в настоящее время не существует метода специфической профилактики и эрадикации ВИЧ-инфекции. Безусловно, подход к данной проблеме многогранен. Ученые стремятся противостоять колоссальной изменчивости ВИЧ всеми возможными способами. Необходимо акцентировать внимание на создании терапевтических вакцин и их применении в сочетании с антиретровирусными препаратами[35].Трудности в разработке вакцины против ВИЧ могут быть обусловлены как изменчивостью вируса, так и недостаточными представлениямио механизмах взаимодействия ВИЧ и иммунной системы. Вероятно, в последующие годы могут появиться революционные открытия в этой области, которые способствовали бы созданиюэффективного иммунобиологического препарата, преодолевающеговысокую генетическую изменчивость ВИЧ. В современных реалиях нужно продолжать активно развивать направление

первичной неспецифической профилактики ВИЧ-инфекции, где важную роль играет просвещение населения, повышение уровня профессиональных знаний у медицинских работников и студентов-медиков. Так, имеет место проведение мероприятий, посвященных профилактике ВИЧ-инфекции, для студенческой молодежи, просвещение населения с помощью информационных материалов, где в доступном виде описана опасность ВИЧ-инфекции и способы ее профилактики. Подготовка медицинских кадров в области предупреждения распространения ВИЧ-инфекции обеспечивается работой кафедр медицинских ВУЗов [45-48].

СПИСОКЛИТЕРАТУРЫ

1. Pirogova I.A. The prevalence of HIV infection in Russia. Vestnik Soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoi oblasti 2017; 2 (4) (19): 45-49. [Пирогова И.А. Распространенность ВИЧ-инфекции в России. Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области 2017; 2 (4) (19): 45-49].
2. Drachuk P.E., Drachuk T.E., Peshikova M.V. et al. Social and economic aspects of the problem of HIV-infection in Russia. Vestnik Soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoi oblasti 2018; 2 (2) (21): 30-33. [ДрачукП.Э., ДрачукТ.Э., ПешиковаМ.В. идр. Социальные и экономические аспекты проблемы распространения ВИЧ-инфекции в России. Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области 2018; 2 (2) (21): 30-33.]
3. Bobkova M.R. Genetic diversity of human immunodeficiency viruses and antiretroviral therapy. Terapevticheskijarhiv 2016; 88 (11): 103-111. [Бобкова М.Р. Генетическое разнообразие вирусов иммунодефицита человека и антиретровирусная терапия. Терапевтический архив 2016; 88 (11): 103-111.]
4. Lada A.G., Fram-Krik K., Koz'min S.G. et al. Mutatory effects and mutation specificity of editing desaminases. Biokhimiya 2011; 76 (1): 157-175. [Лада А.Г., Фрам-Крик К., Козьмин С.Г. и др. Мутаторные эффекты и мутационная специфичность редактирующих дезаминаз. Биохимия 2011; 76 (1): 157-175.]
5. Sosin D.V., Tchurikov N.A. Molecular mechanisms of HIV-1 genetic diversity. MolBiol (Mosk) 2017; 51 (4): 547-560.
6. Abram M.E., Ferris A.L., Shao W. et al. Nature, position, and frequency of mutations made in a single cycle of HIV-1 replication. J Virol 2010; 84 (19): 9864-9878.
7. Abecasis A.B., Vandamme A.-M., Lemey P. Quantifying differences in the tempo of human immunodeficiency virus type 1 subtype evolution. J Virol 2009; 83 (24): 12917-12924.
8. Korber B., Gaschen B., Yusim K. et al. Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation. Br Med Bull 2001; 58: 19-42.
9. KravatskiiYu.V., Chechetkin V.R., Fedoseeva D.M. et al. Estimation of mutation frequencies in the HIV-1 genome of subtype A in regions containing effective RNA interference targets. Molekulyarnayabiologiya 2016; 50 (3): 480-485. [КравацкийЮ.В., ЧечеткинВ.Р., ФедосееваД.М.

идр. Оценка частот мутаций в геноме ВИЧ-1 субтипа А в областях, содержащих эффективные мишени РНК-интерференции. Молекулярнаябиология 2016; 50 (3): 480-485].

10. Kim T., Mudry R.A.Jr., Rexrode C.A., Pathak V.K. Retroviral mutation rates and A-to-G hypermutations during different stages of retroviral replication. J. Virol 1996; 70 (11): 7594-7602.

11. Rezende L.F., Prasad V.R. Nucleoside-analog resistance mutations in HIV-1 reverse transcriptase and their influence on polymerase fidelity and viral mutation rates. Int J Biochem Cell Biol 2004; 36 (9): 1716-1734.

12. Roberts J.D., Bebenek K., Kunkel T.A. The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1. Science 1988; 242(4882): 1171-1173.

13. Hamburgh M.E., Curr K.A., Monaghan M. et al. Structural determinants of slippage-mediated mutations by human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. J Biol Chem 2006; 281 (11): 7421-7428.

14. Simon-Loriere E., Rossolillo P., Negroni M. RNA structures, genomic organization and selection of recombinant HIV. RNA Biol 2011; 8 (2): 280-286.

15. O'Neil P.K., Sun G., Yu H. et al. Mutational analysis of HIV-1 long terminal repeats to explore the relative contribution of reverse transcriptase and RNA polymerase II to viral mutagenesis. J Biol Chem 2002; 277 (41): 38053-38061.

16. Zhang J. Host RNA polymerase II makes minimal contributions to retroviral frameshift mutations. J Gen Virol 2004; 85 (8): 2389-2395.

17. Mangeat B., Turelli P., Caron G. et al. Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts. Nature 2003; 424 (6944): 99-103.

18. Liu B., Yu X., Luo K. et al. Influence of primate lentiviral Vif and proteasome inhibitors on human immunodeficiency virus type 1 virion packaging of APOBEC3G. J Virol 2004; 78 (4): 2072-2081.

19. Hu W.-S., Hughes S.H. HIV-1 reverse transcription. Cold Spring Harb Perspect Med 2012; 2 (10): a006882.

20. Dang Y., Wang X., Esselman W.J. et al. Identification of APOBEC3DE as another antiretroviral factor from the human APOBEC family. J Virol 2006; 80 (21): 10522-10533.

21. Suspene R., Rusniok C., Vartanian J.P., Wain-Hobson S. Twin gradients in APOBEC3 edited HIV-1 DNA reflect the dynamics of lentiviral replication. Nucl Acids Res2006; 34: 4677-4684.

22. Kieffer T.L., Kwon P., Nettles R.E. et al. G→A hypermutation in protease and reverse transcriptase regions of human immunodeficiency virus type 1 residing in resting CD4+ T cells in vivo. J Virol 2005; 79 (3): 1975-1980.

23. Kharchenko E.P. HIV: collisions of vaccinology. Immunologiya 2012; (4): 206-212. [ХарченкоЕ.П. ВИЧ: коллизиивакцинологии.Иммунология 2012; (4): 206-212.]

24. Montagnier L. 25 years after HIV discovery: Prospects for cure and vaccine. Virology 2010; 397 (2): 248-254.

25. Nikolaitchik O., Keele B., Gorelick R. et al. High recombination potential of subtype A HIV-1. Virology 2015; 484: 334-340.

26. Vuilleumier S., Bonhoeffer S. Contribution of recombination to the evolutionary history of HIV. Curr Opin HIV AIDS 2015; 10 (2): 84-89.

27. Galetto R., Negroni M. Mechanistic features of recombination in HIV. AIDS Rev 2005; 7 (2): 92-102.

28. Peeters M., Delaporte E. Genetic diversity of HIV infection worldwide and its consequences. Med Trop (Mars) 1999; 59 (4 Pt 2): 449-455.

29. Hemelaar J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. Trends mol med 2012;18 (3): 182-192.

30. Rawson J.M.O., Nikolaitchik O.A., Keele B.F. et al. Recombination is required for efficient HIV-1 replication and the maintenance of viral genome integrity. Nucleic Acids Res 2018; 46 (20): 10535-10545.

31. Ramirez B.C., Simon-Loriere E., Galetto R. et al. Implications of recombination for HIV diversity. Virus Res 2008; 134 (1-2): 64-73.

32. Shriner D., Rodrigo A.G., Nickle D.C. et al. Pervasive genomic recombination of HIV-1 in vivo. Genetics 2004; 167 (4): 1573-1583.

33. Smyth R.P., Schlub T.E., Grimm A.J. et al. Identifying recombination hot spots in the HIV-1 genome. J Virol 2014; 88 (5): 2891-2902.

34. Cromer D., Grimm A.J., Schlub T.E. et al. Estimating the in-vivo HIV template switching and recombination rate. AIDS 2016; 30 (2): 185-192.

35. Sidorovich I.G., Nikolaeva I.A., Gudima G.O. et al. Prospects for immunotherapy of HIV infection and AIDS, anti-HIV/AIDS vaccines and microbicides. Tsitokiny i vospalenie 2005; 4 (3): 82-88. [СидоровичИ.Г., НиколаеваИ.А., ГудимаГ.О. идр. Перспективы иммунотерапии ВИЧ-инфекции и СПИДа, анти-ВИЧ/СПИД-вакцины и микробициды. Цитокиныивоспаление 2005; 4 (3): 82-88.]

36. Skvortsov V.V., Tumarenko A.V., Ustinova M.N. Prevention of HIV infection. Meditsinskiialfavit 2014; 3 (16): 11-17. [СкворцовВ.В., ТумаренкоА.В., УстиноваМ.Н. ПрофилактикаВИЧ-инфекции. Медицинскийалфавит 2014; 3 (16): 11-17.]

37. Burton D.R. Advancing an HIV vaccine; advancing vaccinology. Nat Rev Immunol 2019; 19 (2): 77-78.

38. Akulova E.B., Murashev B.V., Verevochkin S.V. et al. Development of DNA vaccine against HIV-1. Rossiiskiiimmunologicheskiizhurnal 2018; 12 (21) (4): 597-600. [АкуловаЕ.Б., МурашевБ.В., ВеревочкинС.В. идр. Разработка ДНК-вакцины против ВИЧ-1. Российский иммунологический журнал 2018; 12 (21) (4): 597-600.]

39. DeCamp A., Hraber P., Bailer et al. Global panel of HIV-1 Env reference strains for standardized assessments of vaccine-elicited neutralizing antibodies. J Virol 2014; 88 (5): 2489-2507.

40. McElrath M.J., Barton H.F. Induction of immunity to human immunodeficiency virus type-1 by vaccination. Immunity 2010; 33 (4): 542-554.

41. Haynes B.F., Mascola J.R. The quest for an antibody-based HIV vaccine. Immunol Rev 2017; 275 (1): 5-10.

42. Burton D.R., Mascola J.R. Antibody responses to envelope glycoproteins in HIV-1 infection. Nat Immunol 2015; 16 (6): 571-576.

43. Benmira S., Bhattacharya V., Schmid M.L. An effective HIV vaccine: a combination of humoral and cellular immunity? Curr HIV Res 2010; 8 (6): 441-449.

44. Buchbinder S.P., Mehrotra D.V., Duerr A. et al. Step study protocol team. Efficacy assessment of a cell-mediated immunity HIV-1 vaccine (the Step Study): a double-blind, randomised, placebo-controlled, test-of-concept trial. Lancet 2008; 372 (6953): 1881-1893.

45. Radzikhovskaya M.V., Moskvicheva M.G., Brylina N.Yu. et al. Comprehensive analysis of preventive actions for prevention of diffusion of HIV-infection in Chelyabinsk region for 2011-2016. Vestnik Soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoi oblasti 2017; 1 (3) (18): 61-65. [Радзиховская М.В., Москвичева М.Г., БрылинаН.Ю. идр. Комплексный анализ профилактических мероприятий по предотвращению распространения ВИЧ-инфекции в Челябинской области за 2011-2016 гг. Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области 2017; 1 (3) (18): 61-65.]

46. Brylina N.Yu., Radzikhovskaya M.V., Batin K.O. The use of information technology (digital content booklet) in the prevention of HIV infection among young people in Chelyabinsk region. Vestnik Soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoi oblasti 2017; 2 (4) (19): 3-6. [Брылина Н.Ю., Радзиховская М.В., Батин К.О. идр. Использование информационных технологий (цифровой контент-буклет) в профилактике ВИЧ-инфекции среди молодежи Челябинской области. Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области 2017; 2 (4) (19): 3-6.]

47. AkleevA.A., AksenovA.V., Krasil'nikovaI.V. etal. The continuity of studying of HIV-infection in South Ural State Medical University. Vestnik Soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoi oblasti 2016; 2 (3) (14): 4-11. [АклеевА.А., АксеновА.В., Красильникова И.В. и др. Преемственность в изучении ВИЧ-инфекции в Южно-Уральском государственном медицинском университете. Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области 2016; 2 (3) (14): 4-11.]

48. ShlepotinaN.M., Krasil'nikovaI.V., PeshikovaM.V. Experience in conducting events dedicated to theprevention o fHIV infectionamongy oung people. Vestnik Soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoi oblasti 2016; 2 (3) (14): 79-82. [Шлепотина Н.М., КрасильниковаИ.В., Пешикова М.В. Опыт проведения мероприятий, посвященных профилактике ВИЧ-инфекции среди молодежи. Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области 2016; 2 (3) (14): 79-82.]

Сведения об авторах:

Белогорохов Вениамин Сергеевич – студент4 курсалечебного факультета ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Ми-

нистерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, benjaminbelogorohov@yandex.ru

Зарипов Вячеслав Ильшатович – студент 4 курсалечебного факультета ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

Шлепотина Нина Михайловна – преподавателькафедры биологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, SPIN-код: 1280-5171, ORCID-iD: https://orcid.org/0000-0003-1297-999, grant0408@yandex.ru

Пешикова Маргарита Валентиновна – кандидат медицинских наук,доценткафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, SPIN-код: 2358-9769, ORCID-iD: orcid.org/0000-0002-2113-5495, peshikova@mail.ru

Для ссылки: Долгушин И.И. Диагностическая ценность иммунологических показателей у женщин с внутриматочной инфекцией во время беременности/ Долгушин И.И., Асташкина М.В., Курносенко И.В., Долгушина В.Ф., Никонова Т.И.// Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. – № 1– с.76-89.

УДК 618.3-06:616.9-097

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ЖЕНЩИН С ВНУТРИМАТОЧНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Долгушин И.И., Асташкина М.В., Курносенко И.В., Долгушина В.Ф., Никонова Т.И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, Россия

DIAGNOSTIC VALUE OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN WOMEN WITH INTRAUTERINE INFECTION DURING PREGNANCY

Dolgushin I. I., Astashkina M. V., Kurnosenko I. V., Dolgushina V. F., Nikonova T. I.

South Ural Medical University, Chelyabinsk, Russia

РЕЗЮМЕ

Введение. В настоящее время продолжается поиск дополнительных критериев, в том числе и иммунологических, позволяющих повысить точность диагностики субклинической ВМИ у беременных женщин. Изменения концентрации специфических биомаркеров в цервикальной слизи могут отражать активацию воспалительных процессов в плодных оболочках, находящихся в непосредственной близости к шейке матки.

Цель исследования. Определить диагностическую ценность ММП-8, HMGB-1, MIP-1b в цервикальной слизи у женщин с внутриматочной инфекцией во время беременности.

Материалы и методы. Проведено проспективноекогортное исследование 60 беременных женщин. Были сформированы 3 группы: I группа – 32 женщины, у которых сумма критериев ВМИ составляла не менее 3-х баллов по шкале прогноза

ВМИ (умеренный риск); II группа – 28 женщин, у которых сумма критериев ВМИ составляла не менее 4-5 баллов по шкале прогноза ВМИ (высокий риск); III группа (контроль) – 20 пациенток с нормальным течением беременности.

Результаты. У беременных женщин с умеренным и высоким риском наличия ВМИ в цервикальной слизи выявлено повышение общего количества лейкоцитов, лизосомальной активности нейтрофилов, уровня НВЛ.Концентрация ММП-8, HMGB-1, MIP-1b в цервикальной слизи была статистически значимо повышена у пациенток с умеренным и высоким риском ВМИ по сравнению с группой контроля.

Заключение. Определение уровня ММП-8, HMGB-1, MIP-1b в цервикальной слизи могут быть использованы в качестве диагностических тестов субклинической ВМИ у беременных женщин. Учитывая отсутствие единых референтных интервалов для предложенных нами иммунологических показателей, рекомендуется использовать количественные критерии, предложенные нами, не как точный диагностический тест, а как значимый прогностический признак, способный указывать на возможный воспалительный процесс. Данные признаки необходимо использовать только с учетом клинической картины и в совокупности с другими видами исследования.

Ключевые слова: внутриматочная инфекция, беременность, врожденный иммунитет, цервикальная слизь.

SUMMARY

Introduction. Currently, the search for additional criteria, including immunological ones, continues to improve the accuracy of the diagnosis of subclinical intrauterine and pregnant women. Changes in the concentration of specific biomarkers in the cervical mucus may reflect the activation of inflammatory processes in the fetal membranes located in the immediate vicinity of the cervix.

The purpose of the study. To determine the diagnostic value of MMP-8, HMGB-1, MIP-1b in cervical mucus in women with intrauterine infection during pregnancy.

Materials and methods. A prospective cohort study of 60 pregnant women was conducted. Three groups were formed: Group I – 32 women whose total criteria for intrauterine infection were at least three points on the intrauterine infection prognosis scale (moderate risk); Group II – 28 women whose total criteria for intrauterine infection were at least 4-5 points on the intrauterine infection prognosis scale (high risk); Group III (control) – 20 patients with normal pregnancy.

Results. In pregnant women with moderate and high risk of intrauterine infection in the cervical mucus, an increase in the total number of white blood cells, lysosomal activity of neutrophils, and the level of NVL was detected. The concentration of MMP-8,

HMGB-1, and MIP-1b in the cervical mucus was statistically significantly increased in patients with moderate to high risk of intrauterine infection compared to the control group.

Conclusion. Determination of the level of MMP-8, HMGB-1, MIP-1b in the cervical mucus can be used as diagnostic tests of subclinical intrauterine infection in pregnant women. Given the lack of uniform reference intervals for the proposed immunological parameters, it is recommended to use the quantitative criteria proposed by us, not as an accurate diagnostic test, but as a significant prognostic sign that can indicate a possible inflammatory process. These signs should be used only taking into account the clinical picture and in conjunction with other types of research.

Keywords: intrauterine infection, pregnancy, innate immunity, cervical mucus.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на пристальное внимание к проблеме внутриматочной инфекции (ВМИ) во время беременности, стандартизированный алгоритм, позволяющий осуществлять комплексный подход к проведению ранних диагностических и лечебных мероприятий, до настоящего времени не создан. Для прогнозирования ВМИ во время беременности предложена шкала, основными критериями в которой выступили: отягощенный акушерско-гинекологический анамнез; стойкая угроза прерывания беременности; наличие цервицита; изменения фето-плацентарного комплекса при УЗИ; нарушение маточно-плодового кровотока. Каждому из перечисленных критериев был присвоен 1 балл. Применение указанной шкалы в практической деятельности позволяет выделить три степени риска наличия ВМИ у беременных женщин. Высокая степень риска (сумма 4-5 баллов) в 88,9-100% случаев подтверждается признаками ВМИ при морфологическом исследовании последов [1]. Исходя из этого, беременным с высокой степенью риска ВМИ (4-5 баллов) показано проведение системной антибактериальной терапии. Дисскутабельным остается вопрос о тактике ведения беременности у женщин с умеренным риском наличия ВМИ. Обычно в сумме такие пациентки к началу II триместра имеют не более 3-х критериев по предложенной шкале. Именно данная категория женщин требует повышенного внимания для проведения лечебно-диагностических мероприятий с целью профилактики осложнений, ассоциированных с ВМИ. На современном этапе продолжается поиск дополнительных критериев, в том числе и иммунологических, позволяющих повысить точность диагностики субклинической ВМИ у беременных женщин [2,3,4,5,6].

В настоящее время перспективным является определение интерлейкина-6 и матриксной металлопротеиназы-8 (ММП-8), что связано с их высокой чувствитель-

ностью и специфичностью, а также доказанной ролью в деградации и разрыве плодных оболочек, преждевременном ремоделировании шейки матки вследствие расщепления коллагена и эластина [7,8, 9, 10]. Корреляция с показателями интерлейкина-6 зафиксирована у негистонового белка HMGB1, усиленно синтезируемого воспаленными плодными оболочками [11, 12]. Согласно данным зарубежных исследователей, при преждевременных родах, ассоциированных с ВМИ, отмечается увеличение концентрации ММП-8, HMGB, MIP-1b в околоплодных водах [5, 6, 7, 12, 14, 15].

Поскольку забор околоплодных вод путем амниоцентеза является инвазивным методом, представляло интерес изучение уровня данных показателей в цервикальной слизи.Изменения концентрации специфических биомаркеров в цервикальной слизи могут отражать активацию воспалительных процессов в плодных оболочках, находящихся в непосредственной близости к шейке матки [2]. Таким образом, в качестве неинвазивной диагностики субклинической ВМИ, цервикальная слизь может стать лучшим биологическим образцом.

Цель исследования – определить диагностическую ценность ММП-8, HMGB-1, MIP-1b в цервикальной слизи у женщин с внутриматочной инфекцией во время беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективноекогортное исследование 60 беременных женщин на сроке 14-24 недель.

Критерии включения в исследование:

1) срок беременности 14-24 недели;
2) информированное согласие на участие;
3) риск наличия ВМИ (не менее 3-х баллов по шкале) – использовалась шкала, предложенная Долгушиной В.Ф. и Курносенко И.В. (2016).

Критерии исключения: многоплодная беременность, беременность, наступившая в результате ВРТ, экстрагенитальная патология в стадии декомпенсации, клинически выраженный хориоамнионит.

Были сформированы 3 группы:

– группа I – 32 женщины, у которых сумма критериев ВМИ составляла не менее 3-х баллов по шкале (умеренный риск)

– группа II – 28 женщин, у которых сумма критериев ВМИ составляла не менее 4-5 баллов по шкале (высокий риск)

– группа III (контроль) – 20 пациенток с нормальным течением беременности

В цервикальной слизи определяли: общее количество лейкоцитов, показатели функциональной активности нейтрофилов (фагоцитоз, лизосомальную активность и жизнеспособность нейтрофилов, внутриклеточную кислород-зависимую бактерицидность с помощью НСТ-теста,нейтрофильные внеклеточные ловушки и апоптоз), уровни ММП-8, Mip-1b и HMGB-1.

Исследование проводилось на базе НИИ иммунологии, центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России согласно инструкциям с применением набора реагентов фирм-производителей («BenderMedSystems», США; «IBL» Германия).

Статистическая обработка полученных в ходе исследования данных проводилась с использованием пакетов прикладных программ MS Excel 2016 и IBMSPSSStatistics 23.0.Для характеристики показателей вариационных рядов были использованы следующие характеристики: медиана (Me), средние значение (M), среднее квадратическое отклонение (σ). Для сравнения количественных признаков в группах применялся критерий Крускалла-Уоллиса, с последующим проведением множественных попарных сравнений. Уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали 0,05. Корреляционный анализ проводился с использованием коэффициента Спирмена. Для определения диагностической ценности применялся ROC-анализ.Для установления точки разделения (cutoffpoint) проводился пересмотр значений всех параметров от максимального до минимального. Критерием выбора точки разделения являлось требование максимальной суммарной чувствительности и специфичности.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке клеточных факторов врожденного иммунитета цервикальной слизи (таблица №1) установлено, что уровень лейкоцитов был статистически выше у женщин с умеренным и высоким риском наличия ВМИ по сравнению с группой контроля ($p < 0{,}0001$). В то же время, были получены достоверные различия по количеству лейкоцитов между I и II группами – статистически более высоким был уровень лейкоцитов у женщин с высоким риском ВМИ ($p = 0{,}011$). При анализе лизосомальной активности было выявлено достоверное увеличение данного показателя у пациенток групп умеренного и высокого риска наличия ВМИ по сравнению с группой контроля ($p = 0{,}001$). У пациенток с ВМИ было установлено достоверно более высокое количество нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) в цервикальной слизи по сравнению с группой контроля ($p < 0{,}0001$). При анализе фагоцитарной функции нейтрофилов достоверных отличий между группами по активности и интенсивности фагоцитоза выявлено не было. При этом в группе контроля досто-

верно выше были уровень НСТ индуцированной активности (p=0,018) и количество живых нейтрофилов (p=0,001).

Как видно из таблицы №2, концентрация ММП-8, HMGB1, MIP-1β статистически значимо повышалась у пациенток с умеренным и высоким риском наличия ВМИ по сравнению с контрольной группой.

Значительный интерес представлялаоценка корреляции изучаемыхбиомаркеров (MMP-8, HMGB-1,MIP-1b) с исследуемыми показателями цервикальной слизи и периферической крови, а также с перинатальными исходами и результатами морфологического исследования последов.Были определены достоверные положительные корреляции (p<0,05), представленные в таблице №3.

Было установлено, что MMP-8 имеет сильные корреляционные взаимосвязи с MIP-1b и НВЛ, а также со сверхранними преждевременными родами и воспалительными процессами в последе.

Мы выявили сильные положительные связи между HMGB-1 и такими показателями,как число эритроцитов, общее количество лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, содержание С-реактивного белка в периферической крови, общее количество лейкоцитов и НВЛ в цервикальной слизи. Также обнаружены прямые корреляции между уровнем HMGB-1 и наличием воспалительныхпроцессов в последе.

Установлено, что MIP-1b имеет сильную корреляцию с MMP-8, С-реактивным белком и уровнем НВЛ.

Мы изучили диагностическую ценность данных показателей с помощью ROC-анализа и расчета показателей чувствительности и специфичности теста.

Мы сравнили уровни показателей у женщин с умеренным и высоким риском наличия ВМИ с диапазоном значений аналогичных показателей, полученных у 20 здоровых беременных женщин (физиологическое течение беременности, отсутствие генитальной инфекции).

ROC-кривые, площадь под кривой, показатели чувствительности и специфичности для значений ММП-8, HMGB-1, MIP-1b в группе здоровых женщин приведены в таблицах №4 и 5, рисунок 1.

Мы определили, что в качестве значимых тестов (площадь под кривой >0,7) для диагностики субклинической ВМИ у беременных женщин могут быть использованы иммунологические показатели в цервикальной слизи – ММП-8 >17 нг/л, MIP-1b >8,3 пг/мл, HMGB1>6,25 нг/мл.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, состояние клеточных факторов врожденного иммунитета цервикальной слизи у беременных женщин с умеренным и высоким риском нали-

чия ВМИ характеризовалось повышением общего количества лейкоцитов, лизосомальной активности нейтрофилов, уровня НВЛ.Концентрация ММП-8, HMGB-1, MIP-1b в цервикальной слизи была статистически значимо повышена у пациенток с умеренным и высоким риском ВМИ по сравнению с группой контроля. Выявлены сильные корреляционные связи между уровнем ММП-8,HMGB-1,MIP-1bи некоторыми показателями периферической крови и цервикальной слизи. Наиболее сильные корреляционные связи с системной воспалительной реакцией имел HMGB-1. ММП-8 коррелирует с экстремально ранними преждевременными родами и наличием морфологических форм ВМИ, указывающих на высокую степень вовлеченности тканей последа в воспалительный процесс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все изучаемые биомаркеры имели также прямую корреляцию с воспалительными сдвигами в клеточном звене иммунитета цервикальной слизи. Определение уровня ММП-8, HMGB-1,MIP-1b в цервикальной слизи могут быть использованы в качестве диагностических тестов субклинической ВМИ у беременных женщин. Учитывая отсутствие единых референтных интервалов для предложенных нами иммунологических показателей, рекомендуется использовать количественные критерии, предложенные нами, не как точный диагностический тест, а как значимый прогностический признак, способный указывать на возможный воспалительный процесс. Данные признаки необходимо использовать только с учетом клинической картины и в совокупности с другими видами исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kurnosenko I.V., Dolgushina V.F. Diagnostic criteria for intrauterine infection during pregnancy. Rossiyskiyvestnikakushera-ginekologa2016; 16 (6): 63-67. [Курносенко И.В., Долгушина В.Ф. Диагностическиекритериивнутриматочнойинфекциивовремябеременности. Российскийвестникакушера-гинеколога 2016; 16 (6): 63-67].

2. Kim S.A., Park K.H., Lee S.M. et al. Inflammatory Proteins in the Amniotic Fluid, Plasma, and Cervicovaginal Fluid for the Prediction of Intra-amniotic Infection/Inflammation and Imminent Preterm Birth in Preterm Labor. Am J Perinatol 2020 Oct 14. doi: 10.1055/s-0040-1718575.

3. Chaemsaithong P., Romero R., Korzeniewski S.J. et al. A point of care test for interleukin-6 in amniotic fluid in preterm prelabor rupture of membranes: a step toward the early treatment of acute intra-amniotic inflammation/infection. J Matern Fetal Neonatal Med 2016;29(3):360-367.

4. Kunze M., Klar M., Morfeld C.A. et al. Cytokines in noninvasively obtained amniotic fluid as predictors of fetal inflammatory response syndrome. Am J ObstetGynecol2016;215(1): 96.e1-8.

5. Park H., Hong S., Yoo H.N.et al. The Identification of Immune-Related Plasma Proteins Associated with Spontaneous Preterm Delivery and Intra-Amniotic Infection in Women with Premature Cervical Dilation or an Asymptomatic Short Cervix. J Korean Med Sci 2020;35(7):e26.

6. Myntti T., Rahkonen L., Tikkanen M.et al. Amniotic fluid rapid biomarkers are associated with intra-amniotic infection in preterm pregnancies regardless of the membrane status. J Perinatol 2016;36(8): 606-611.

7. Kim S.M., Romero R., Lee J. et al. About one-half of early spontaneous preterm deliveries can be identified by a rapid matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) bedside test at the time of mid-trimester genetic amniocentesis. J Matern Fetal Neonatal Med 2016;29(15): 2414-2422.

8. Tency I. Inflammatory response in maternal serum during preterm labour. FactsViewsVisObgyn 2014;6 (1):19-30.

9. Shcherbina N.A., Vygivska L.A. The state of immunity in pregnancies complicated by intrauterine infection of the fetus. Dev Period Med 2017;21(4):384-389.

10. Romero R., Chaemsaithong P., Docheva N.et al. Clinical chorioamnionitis at term V: umbilical cord plasma cytokine profile in the context of a systemic maternal inflammatory response. J Perinat Med 2016;44(1):53-76.

11. Plazyo O., Romero R., Unkel R. et al. HMGB1 Induces an Inflammatory Response in the Chorioamniotic Membranes That Is Partially Mediated by the Inflammasome. BiolReprod 2016;95(6):130.

12. Brien M.E., Baker B., Duval C.et al. Alarmins at the maternal-fetal interface: involvement of inflammation in placental dysfunction and pregnancy complications 1. Can J PhysiolPharmacol 2019;97(3):206-212.

13. Helmo F.R., Alves E.A.R., Moreira R.A.A. et al. Intrauterine infection, immune system and premature birth. J Matern Fetal Neonatal Med 2018;31(9):1227-1233.

14. Nadeau-Vallée M., Obari D., Palacios J.et al. Sterile inflammation and pregnancy complications: a review. Reproduction 2016;152(6): R277-R292.

15. Cappelletti M., Della Bella S., Ferrazzi E.et al. Inflammation and preterm birth. J LeukocBiol 2016;99(1):67-78.

Таблица 1.Показатели функции нейтрофилов цервикальной слизи

Показатель		Умеренный риск наличия ВМИ (n=32)	Высокий риск наличия ВМИ (n=28)	Группа контроля (n = 20)	P, Крас-келлаУоли-са	P,Mann-Whitney
1		2	3	4	5	6
Лизосомальная активность, у.е.	Me (lq…uq)	133 (81,25…186,75)	134 (90,5…182,75)	42 (10,25…136)	0,001	p1-3< 0, 001 p2-3< 0, 001
	M±m	150,42±16,42	137,11±11,19	66,6±15,01		
Лейкоциты, 10^9/л	Me (lq…uq)	11,62 (8,14…25,61)	22,55 (10,86…41,44)	8,85 (5,54…12,34)	< 0, 0001	p1-3=0,028 p1-2=0,011p2-3< 0,0001
	M±m	16,29±2,01	29,05±4,14	9,58±1,4		
Активность фагоцитоза,%	Me (lq…uq)	49 (30,75…58)	51 (40…61)	46 (35…70,5)	00,573	
	M±m	46,38±3,04	50,25±2,78	50,65±4,4511		
Фагоцитарное число, у.е.	Me (lq…uq)	1,84 (1,37…2,18)	1,99 (1,45…2,18)	1,635 (1,4…2,48)	00,770	
	M±m	1,83±0,09	1,94±0,1	1,92±0,16		
НСТ спонтанная активность,%	Me (lq…uq)	13,5 (4…43,75)	23 (8,5…43,5)	17 (8…28,75)	00,385	
	M±m	23,97±4,84	30,04±5,08	19±2,58		
НСТ спонтанная активность (индекс), у.е.	Me (lq…uq)	0,17 (0,04…0,49)	0,31 (0,09…0,5)	0,09 (0,04…0,79)	00,650	
	M±m	0,3±0,07	0,36±0,06	0,34±0,10		

Окончание таблицы 1.

12		2	3	4	5	6
НСТ индуцир. Активность, %	Me (lq…uq)	14 (4…49)	24 (8…35,75)	44 (23,75…55,5)	00,018	p1-3=0, 007 p2-3=0, 031
	M±m	26,97±5,37	30,32±5,39	41,95±3,91		
НСТ индуцир. активность (индекс), у.е.	Me (lq…uq)	0,15 (0,04…0,6)	0,28 (0,08…0,4)	0,215 (0,04…0,42)	00,683	
	M±m	0,33±0,07	0,36±0,07	0,25±0,05		
Живые клетки,%	Me (lq…uq)	16 (9…34)	12 (7…17)	23 (18…25)	00,001	p1-2=0, 029 p2-3< 0,0001
	M±m	22±3	13±2	22±1		
Мертвые клетки,%	Me (lq…uq)	20 (13,25…30)	21,5 (13,25…28,5)	28 (24…30)	00,081	
	M±m	24,47±2,72	21,32±1,98	26,38±1,52		
НВЛ,%	Me (lq…uq)	16,5 (12…25,75)	25 (16,25…30)	8,5 (6…12,5)	< 0, 0001	p1-2=0,016 p1-3<0,0001 p2-3<0, 0001
	M±m	19,13±1,56	25,39±2,05	8,55±0,98		
Апоптоз,%	Me (lq…uq)	35,5 (21,25…47,5)	40 (33…44,75)	44,5 (39…47,75)	0,199	
	M±m	36±2,7	39,92±1,88	43,25±1,89		

Таблица 2. Содержание ММР -8, HMGB-1, MIP- 1b в цервикальной слизи обследованных женщин

Показатель		I группа (умеренный риск наличия ВМИ) (n=32)	II группа (высокий риск наличия ВМИ) (n=28)	Группа контроля (n = 20)	P,Краскелла-Уолиса	P,Mann-Whitney
ММР-8, нг/мл	Me (lq…uq)	21,25 (4,79…40,14)	30,44 (7,39…38,32)	13,09 (0,64…15,9)	0,002	p1-3=0,009 p2-3<0,0001
	M±m	22,15±2,92	25,96±2,95	9,87±1,65		
MIP-1b, пг/мл	Me (lq…uq)	10,2 (6,2…24,96)	6,51 (4,99…20,31)	6,42 (4,05…7,73)	0,017	p1-3=0,004
	M±m	20,52±5,31	15,66±3,85	5,83±0,51		
HMGB-1, нг/мл	Me (lq…uq)	6,94 (5,47…17,7)	11,22 (6,95…49,4)	4,82 (3,12…6,12)	< 0, 0001	p1-3=0,003 p2-3<0,0001
	M±m	16,84±4,36	26,09±5,47	4,62±0,44		

Таблица №3. Корреляционный анализ и оценка достоверности связи между ММР-8, HMGB-1, MIP- 1b и показателями цервикальной слизи, периферической крови, перинатальными исходами и результатами морфологического исследования последов

Иммунологический показатель	Коррелирующие показатели	RSpearman	P- level
ММР -8	MIP- 1b	0,574	<0,0001
	НВЛ	0,268	0,016
	Преждевременные роды	0,255	0,023
	Экстремально ранние преждевременные роды	0,267	0,017
	Базальный децидуит	0,064	0,03
	Мембранит	0,356	0,001
	Мембранит, фуникулит	0,256	0,022
HMGB-1	Лейкоциты (ОАК)	0,376	0,002
	Эритроциты	0,244	0,047
	Палочкоядерные нейтрофилы	0,266	0,03
	С- реактивный белок	0,493	<0,0001
	Лейкоциты в цервикальной слизи	0,318	0,009
	НВЛ	0,392	0,001
	Базальный и париетальный децидуит	0,334	0,006
	Хореодецидуит	0,323	0,008
MIP- 1b	ММП -8	0,574	<0,0001
	С- реактивный белок	0,266	0,02
	НВЛ	0,266	0,015

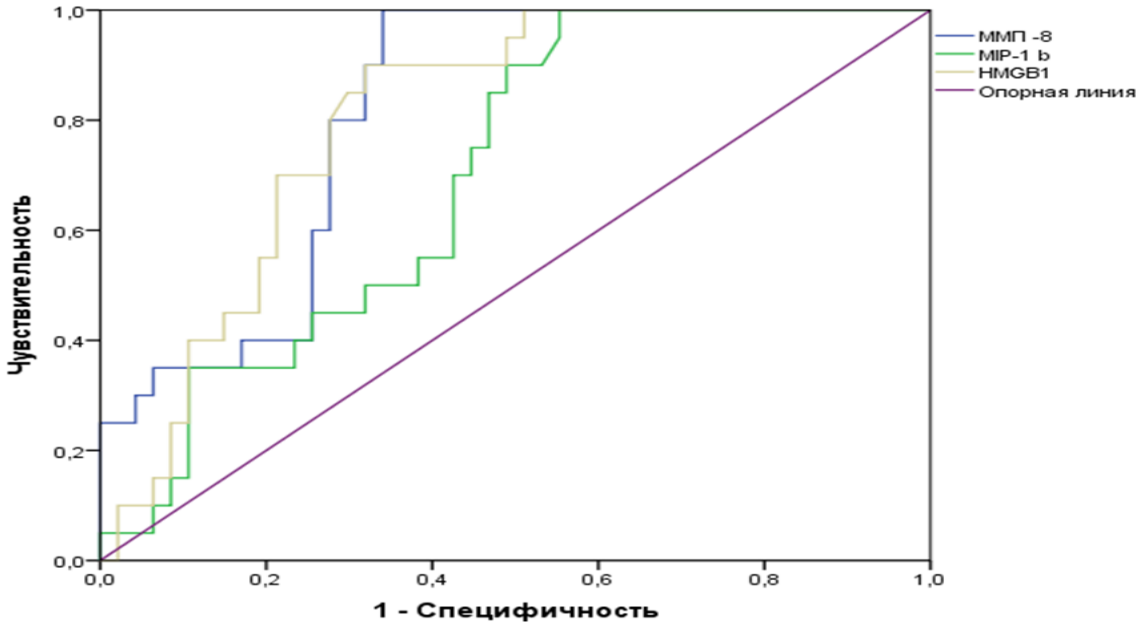


Рисунок 1.ROC-кривая для иммунологических показателей в цервикальной слизи в группе здоровых женщин

Таблица 4.Диагностическая ценность уровней ММП-8, MIP-1b, HMGB1 в цервикальной слизи

Показатель	Площадь под кривой	Стандартная ошибка площади под кривой	Достоверность
ММП-8	0,814	0,051	<0,0001
MIP-1b	0,699	0,063	0,01
HMGB1	0,804	0,053	<0,0001

Таблица 5. Чувствительность и специфичность уровня ММП-8, MIP-1b, HMGB1 в цервикальной слизи

Показатель	Критерий	Чувствительность	Специфичность
ММП-8	>17 нг/л	80%	70,2%
MIP-1b	>8,3 пг/мл	90%	51%
HMGB1	>6,25 нг/мл	85%	70,2%

Сведения об авторах:

Долгушин Илья Ильич – академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,г. Челябинск, ул. Воровского, 64, dolii@mail.ru

Асташкина Марина Владимировна – ассистент кафедры акушерства и гинекологииФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,г. Челябинск, ул. Воровского, 64https//orcid.org/0000-0003-4756-4500,astashkina-marina83@mail.ru

Курносенко Илона Владимировна – доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологииФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64,kurnosenko.ilona@gmail.com

Долгушина Валентина Федоровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедры акушерства и гинекологииФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64,https://orcid.org/0000-0002-3929-7708,dolgushinavf@yandex.ru

Никонова Танзиля Ильдаровна – старший лаборант НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, NT3004190@yandex.ru

Автор, ответственный за переписку: Асташкина Марина Владимировна, astashkina-marina83@mail.ru

Для ссылки: Деева Н.В. Распределение меланина в коже у пациентов с витилиго/ Деева Н.В., Сергеева И.Г. // Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. – №1 – с.90-101.

УДК 616.5-003.829.85

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МЕЛАНИНА В КОЖЕ У ПАЦИЕНТОВ С ВИТИЛИГО

Деева Н.В., Сергеева И.Г.

ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Российская Федерация

DISTRIBUTION OF MELANIN IN THE SKIN IN PATIENTS WITH VITILIGO

Deeva N.V., Sergeeva I.G.

Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Конфликт интересов отсутствует

РЕЗЮМЕ

Витилиго – это приобретенный гипомеланоз, проявляющийся на коже очагами гипопигментации. Мексаметрия позволяет определить уровень меланина в очагах витилиго, что невозможно сделать при обычном клиническом осмотре.

Цель исследования: оценить характер распределения меланина в очагах гипопигментации и на окружающей здоровой коже у пациентов с витилиго.

Материал и методы. У 52 пациентов с витилиго (36 женщин и 16 мужчин в возрасте от 3 до 77 лет) проведена мексаметрия в очагах депигментации и на окружающей здоровой коже. Длительность заболевания составила 14,8 ± 2,3 лет. Уровень меланина определяли в 19 локализациях на лице, туловище и конечностях (выполнено 364 измерений в очагах витилиго и 556 – на окружающей здоровой коже). 94,2% пациентов имели несегментарное витилиго и прогрессирование заболевания в 84,2% случаях. Более 50% пациентов имели очаги витилиго на кистях, веках, подмышечных областях, тыльной поверхности стоп.

Результаты. Во всех локализациях пятен витилиго, кроме очагов на коже щек, уровень меланина составлял более 1 у.е., с наибольшими показателями на ко-

же подбородка и губ (до 30 у.е.) у 92,3% пациентов. Уровни меланина в области подбородка и ягодиц не отличались в очагах витилиго и на окружающей здоровой коже (p >0,05). Уровень меланина на участках здоровой кожи у пациентов с витилиго зависел от локализации: наибольшее значение пигмента обнаружено на коже тыла стоп 23,3 ± 9,5 у.е., наименьшее – на коже груди 6,7 ± 8,2 у.е.

Выводы. В очагах витилиго в области подбородка и ягодиц уровень меланина не отличается от здоровой кожи при визуальном различии пигментации, в области щек характерно отсутствие меланина в очагах у всех пациентов.

Ключевые слова: витилиго, меланин, уровень меланина, мексаметрия.

SUMMARY

Vitiligo appears on the skin with patches of hypopigmentation. Mexametry allows you to determine the melanin level in the patches of vitiligo, which cannot be done during a routine clinical examination.

Objective: to assess the nature of melanin distribution in hypopigmentation patches and on surrounding healthy skin in vitiligo patients.

Material and methods. The study followed 52 patients with vitiligo (36 female patients and 16 male patients; age from 3 to 77 years). The mean disease duration was 14.8 ± 2.3 years. We performed mexametry in vitiligo patches and on the surrounding healthy skin in 19 localizations: of the face, trunk, and extremities by using mexametry (364 measurements were made in vitiligo patches and 556 – on the healthy skin). 94.2% of patients had nonsegmental vitiligo and disease progression in 84.2% of cases. More than 50% of patients had vitiligo patches on the hands, eyelids, axillary areas and the dorsum of the feet.

Results. Melanin levels were over 1 c.u. in all localizations of vitiligo patches, except for lesions on the skin of the cheeks. The highest melanin levels of vitiligo patches were on the skin of the chin and lips (up to 30 c.u.) in 92.3% of patients. Melanin levels in the chin and buttocks were not different in vitiligo patches and on the surrounding healthy skin (p>0.05). The melanin level depended on the localization in areas of healthy skin in patients with vitiligo: the highest melanin level was on the skin of the dorsum of the feet (23.3 ± 9.5 c.u.), the lowest was on the skin of the chest (6.7 ± 8.2 c.u.).

Conclusions. The melanin level in vitiligo patches in the chin and buttocks does not differ from healthy skin, although a difference in pigmentation was noticed on a visual general examination of the skin. Melanin levels were absent in the cheek vitiligo patches in all patients.

Key words: vitiligo, melanin, melanin level, mexametry.

Витилиго – это аутоиммунное приобретенное заболевание, которое клинически проявляется гипопигментацией на различных участках кожи, характеризуется разрушением функциональных меланоцитов эпидермиса и частичной потерей меланина в коже [1]. Меланоциты у пациентов с витилиго могут сохранить способность к синтезу меланина, что будет проявляться в уменьшении количества пигмента, но не в отсутствии его в «эпидермально-меланиновой единице». Однако визуальный клинический осмотр кожи пациента с витилиго не позволяет оценить истинный уровень меланина в очагах гипопигментации.

Интерес к изучению характера распределения пигмента в коже нашел свое отражение в нескольких проведенных ранее исследованиях. С помощью неинвазивных методов (мексаметрии и спектрометрии) был определен индекс меланина в коже различных локализаций у здоровых людей, также ранее проведено исследование по мексаметрии лишь нескольких очагов депигментации у пациентов с витилиго с целью оценки репигментации после меланоцитарной трансплантации, были изучены ультраструктура и распределение меланосом в меланоцитах и окружающих кератиноцитах в очагах витилиго и в неизмененной окружающей коже с помощью трансмиссионной электронной микроскопии [2, 3, 4, 5]. До сих пор продолжаются поиски простых, удобных в использовании и объективных методов диагностики для распределения пигмента в очагах гипопигментации при витилиго с целью стандартизации методики и контроля терапии [4, 6].

Цель исследования: оценить характер распределения меланина в очагах гипопигментации и на окружающей здоровой коже у пациентов с витилиго.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Методом последовательной случайной выборки проведено исследование 52 пациентов с витилиго в возрасте от 3 до 77 лет (средний возраст составил 35,5 ± 19,1 лет) с установленным диагнозом витилиго, из них 36 (69,2%) женщин и 16 (30,8%) мужчин. Длительность заболевания – 14,8 ± 14,0 лет. Протокол обследования включал: анкетирование, осмотр кожи, оценку характера распределения пигмента, измерение уровня меланина в очагах витилиго и на здоровой окружающей коже методом мексаметрии. 94,2% пациентов имели несегментарное витилиго и прогрессирование заболевания в 84,2% случаях. Более 50% пациентов имели очаги витилиго на кистях, веках, подмышечных областях, тыльной поверхности стоп. Пациенты с 2 и 3 фототипами кожи составляли 48 (92,3%) всех случаев.

Уровень меланина в коже измеряли методом мексаметрии на приборе для оценки основных параметров кожи «*Soft plus*» (изготовитель «*Callegari S.p.A*», Ита-

лия). Диапазон значений составляет от 0 до 100 условных единиц (у.е.), ошибка метода не превышает 0,1 %.

Уровень меланина измеряли в очагах витилиго и на окружающей здоровой коже в 19 локализациях: на лице и шее (на лбу, веках, губах, подбородке, щеках, шее); на туловище (на груди, в подмышечной области, на спине, ягодицах, в паховых складках); на верхних конечностях (на плечах, локтях, предплечьях, тыле кистей); на нижних конечностях (на бедрах, коленях, голенях, тыле стоп). Было выполнено 364 измерения в очагах витилиго и 556 на окружающей здоровой коже.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы *«Statistica 10,0»* (*StatSoft*, США). Результаты представлены как среднее арифметическое величины показателя и его среднеквадратичное отклонение ($M \pm SD$) или частота случаев в процентах. Для оценки межгрупповых различий использовали t-критерий Стьюдента. Минимальную вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5 % уровне значимости ($p<0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке уровня меланина методом мексаметрии обнаружено, что меланин с уровнем выше 1 у.е. наблюдали практически во всех локализациях очагов витилиго (рисунок 1). Наибольший уровень меланина в очагах витилиго встречали на коже подбородка – 30 у.е, предплечья – 25 у.е, коленей – 20 у.е. и паховых областей – 19 у.е. Также было установлено, что на щеках меланин полностью отсутствовал (1 у.е.) у всех пациентов с локализацией пятен в этой области.

На коже лица и шеи выявлено следующее распределение меланина: на коже щек – 11,7 ± 6,0 у.е. на здоровой коже и 1,0 ± 0,0 у.е. в очагах витилиго, на коже век – 8,9 ± 7,8 у.е. и 1,2 ± 0,6 у.е. соответственно, на коже шеи – 13,3 ± 6,8 у.е. и 1,6 ± 1,4 у.е. соответственно, на коже лба – 14,9 ± 7,7 у.е. и 2,4 ± 2,2 у.е. соответственно, вокруг губ – 12,1 ± 4,3 у.е. и 8,2 ± 4,8 у.е. соответственно, на коже подбородка – 13,9 ± 5,4 у.е. и 11,1 ± 6,6 у.е. Уровни меланина в очагах витилиго и на видимо здоровой коже в области век, щек, шеи ($p<0,001$), лба ($p=0,005$), губ ($p=0,02$) отличались. Различий в уровне меланина в очагах витилиго и на окружающей здоровой коже подбородка не обнаружено ($p=0,18$) (рисунок 2, 3).

На туловище выявлено следующее распределение меланина: в подмышечных областях – 14,3 ± 10,4 у.е. на здоровой коже и 2,8 ± 3,9 у.е. в очагах витилиго, на спине – 12,9 ± 10,7 у.е. и 2,3 ± 2,6 у.е. соответственно, в паховых складках – 14,4 ± 7,5 у.е. и 3,8 ± 4,7 у.е. соответственно. Уровни меланина в очагах витилиго и на видимо здоровой коже в подмышечных областях, на спине и в паховых складках значительно отличались ($p <0,001$). Также были обнаружены отличия в количестве ме-

ланина на видимо здоровой коже в области груди – 6,7 ± 8,2 у.е., и в очагах витилиго – 1,5 ± 2,2 у.е. (p=0,003).

Различий в количестве меланина в области ягодиц в очагах витилиго (2,7 ± 2,8 у.е.) и на видимо здоровой коже (7,4 ± 7,6 у.е.) не обнаружено (p=0,08).

На верхних конечностях уровни меланина различались на здоровой коже и в очагах витилиго (p <0,001): на плечах – 16,4 ± 11,6 у.е. и 2,0 ± 1,7 у.е. соответственно, на локтях – 18,9 ± 11,6 у.е. и 2,1 ± 2,2 у.е., на предплечьях – 19,4 ± 10,9 у.е. и 3,0 ± 5,1 у.е., на тыле кистей – 17,8 ± 11,6 у.е. и 1,5 ± 1,3 у.е.

На нижних конечностях также было отмечено, что количество пигмента на видимо здоровой коже достоверно больше, чем в гипопигментированных пятнах (p <0,001): на бедрах – 17,2 ± 11,9 у.е. и 4,6 ± 3,5 у.е. соответственно, на коленях – 21,2 ± 10,8 у.е. на видимо здоровой коже и 5,7 ± 5,4 у.е. в очагах витилиго, на голенях – 17,5 ± 10,5 у.е. и 3,5 ± 3,2 у.е. соответственно, на тыле стоп 23,3 ± 9,5 у.е. и 3,7 ± 4,5 у.е. соответственно.

Таким образом, при сравнении количества пигмента в очагах депигментации и на видимо здоровой коже методом мексаметрии обнаружено, что при одинаковом уровне меланина 10-15 у.е. на окружающей здоровой коже лба, щек, губ, шеи, подмышечных областей, спины, паховых областей, подбородка количество меланина в очагах витилиго в этих областях значительно варьируется, при этом в очагах на коже щек уровень меланина составлял 1 у.е. у всех пациентов, а в пятнах на коже подбородка и ягодиц количество пигмента статистически не отличалось от здоровой окружающей кожи.

ОБСУЖДЕНИЕ

В мире проводилось достаточно большое количество исследований по аппаратным методам диагностики кожи человека *in vivo*, которые являются более стандартизированными и, следовательно, более объективными по сравнению с физикальным осмотром. Метод мексаметрии применяли для количественной оценки аллергической или воспалительной реакции, вызванной ультрафиолетовым повреждением, при подтверждении диагноза гемангиомы, также для определения степени интенсивности загара кожи, типа кожи, оценки эффективности отбеливающих процедур, для подтверждения диагноза меланомы, в ряде работ – для оценки эффективности лечения витилиго после процедур [3, 7]. В проведенном нами исследовании с помощью мексаметрии получены данные о сохранении достаточно большого количества меланина в коже в очагах витилиго большинства локализаций и особенности его распределения на здоровой окружающей коже.

К настоящему времени накоплено достаточно большое количество данных о механизме развития депигментации в очагах заболевания. При гистологическом и иммуногистохимическом исследованиях кожи у пациентов с витилиго было показано, что в большинстве случаев меланоциты отсутствуют в коже в очагах депигментации. Дифференцировка меланоцитов, их апоптоз и функции находятся под влиянием связей эпидермальных и дермальных клеток и структур, таких как эпидермальные кератиноциты, белки внеклеточного матрикса и фибробласты [8]. Описана вакуольная дегенерация базальных и парабазальных кератиноцитов в коже у пациентов с витилиго как в очагах витилиго, так и на видимо неизмененной коже, при этом в очагах гипопигментации не выявляли инфильтрат из цитотоксических Т-клеток CD81, вероятно, потому, что он исчезает к тому времени, когда эпидермис становится заметно депигментированным. Фактически, видимая депигментация кожи может не проявляться в течение 48 дней после того, как произошел апоптоз меланоцитов [6, 9]. Кератотиноциты в очагах витилиго представляют собой основной источник IFN-γ-индуцированного хемокина CXCL10, играющего основную роль для активации аутореактивных цитотоксических Т-клеток CD81, инициируя апоптоз меланоцитов и окружающих их кератиноцитов [10].

Кроме того, для кератиноцитов в очагах витилиго характерно уменьшение возможности усваивать кальций, более короткая продолжительность жизни, измененная экспрессия маркеров старения и неспособность поддерживать меланоциты в «эпидермально-меланиновой единице» [8], что, вероятно, может затруднять транспорт меланосом с меланином по отросткам меланоцитов в кератиноциты. Процесс переноса меланоцитов зависит от рецептора, связанного с протеазоактивируемым рецептором-2 (PAR-2), который усиливает фагоцитоз меланосом в кератиноциты, а ультрафиолетовое излучение повышает его активность [11]. Нарушения кератиноцитов и транспорта пигмента в них из меланоцитов также могут являться причиной клинической гипопигментации при витилиго с некоторым незначительным снижением уровня меланина по сравнению с окружающей здоровой кожей при сохранении синтеза меланина в некоторых меланоцитах при витилиго.

В связи с рассмотренными выше процессами, сложно оценить динамику изменения меланина в очагах, так как при обращении пациента этот процесс идет на протяжении длительного времени, прежде чем становится клинически значимым. Полученные данные показали, что уровень пигмента значительно отличается в зависимости от локализации высыпаний и не связан с распространенностью процесса.

На видимо здоровой коже уровень меланина зависел от локализации исследуемого участка, что может быть связано с количеством солнечного облучения, влияющим на данные области. Наибольшее значение меланина выявлено на коже

тыла стоп (средний уровень меланина – 23,3 ± 9,5 у.е.), наименьшее – на коже груди (средний уровень меланина – 6,7 ± 8,2 у.е.).

В литературе описаны данные об оценке количества меланина методом мексаметрии (The Mexameter (MX18; Courage & Khazaka Electronic GmbH)) у людей со здоровой кожей в 16 локализациях. Наименьшее среднее значение индекса меланина (42,6 а.е.) обнаружено на коже ладоней во всех возрастных группах женщин и мужчин (42,6-69,6 лет), затем на коже живота (82,9-142,4 а.е.), нижней части спины (96,0-154,1 а.е.), середины плеча (113,7-146,9 а.е.). Наибольший средний индекс меланина (240,2 а.е.) выявлен на тыльной поверхности кисти. На коже щеки (144,4–220,3 а.е.) и разгибательной поверхности предплечья (177,3–214,9 а.е.) обнаружены также высокие средние значения содержания меланина в коже, что может объясняться повышенным воздействием солнечного излучения на эти участки [12].

На эпидермальную пигментацию влияют фибробласты либо через непосредственную активацию при распределении меланина, либо через активацию кератиноцитов при продукции меланогенных факторов [13]. В качестве промеланогенных стимулов выступают многие паракринные медиаторы, такие как фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор роста кератиноцитов (KGF), фактор стволовых клеток (SCF) и нейрегулин 1, связываясь со своими специфическими рецепторами и, таким образом, модулируя внутриклеточные сигнальные пути, связанные с меланоцитами (MAPK/ERK, cAMP/PKA, Wnt/b-catenin, PI3K/Akt), способствуя росту, дифференцировке, миграции и выживанию меланоцитов [14]. Плотность меланоцитов на коже ладоней и подошв в пять раз ниже, чем на других участках, вследствие подавления передачи сигналов сигнального пути Wnt из-за высокой экспрессии в фибробластах ладоней и подошв Dickkopf-связанного белка 1 (DKK1) [15]. Фототипы кожи при одинаковом количестве меланоцитов определяются разнообразием экспрессии определенных генов в фибробластах, влияющих на количество вырабатываемого меланина и эффективность переноса меланина от меланоцитов в кератиноциты. Например, экспрессия генов белка нейрегулина 1 (NRG-1) является высокой в коже с фототипом 6, и отсутствует в коже с фототипом 1 и 3 [16].

Большинство пациентов (92,3%) имели уровень меланина больше 1 у.е. в очагах витилиго в области подбородка и губ (до 30 у.е. и 16 у.е. соответственно). При этом количество пигмента в очагах гипопигментации статистически не отличалось от уровня меланина на здоровой окружающей коже подбородка и ягодиц, причем на подбородке выявлено максимальное среднее количество пигмента в очаге, равное 13,9 ± 5,4 у.е., в то же время у всех пациентов уровень меланина на коже щек полностью отсутствовал. Эти отличия невозможно выявить с помощью обычного клинического осмотра.

Области лица и шеи – это участки кожи, которые представляют особый интерес, как с косметической точки зрения для пациентов, так и в плане подбора терапии для врача. При витилиго поражаются преимущественно открытые области кожи, что сказывается на психологическом состоянии больных, приводит к социальной дезадапции и снижению качества жизни. Все пациенты с витилиго, у которых уровень меланина в пятнах на щеках был равен 1 у.е., имели генерализованную форму заболевания, следовательно, можно предположить, что эта локализация характерна для генерализации процесса.

По данным литературы, при проведении фототерапии очаги витилиго на разных локализациях по-разному отвечают на лечение, например, терапия эксимерным лазером наиболее эффективна при локализации очагов на коже лица, шеи, туловища по сравнению с меньшей эффективностью данного вида лечения при локализации очагов витилиго на коже конечностей, где требуется более высокая доза излучения для достижения репигментации [17, 18]. Сообщалось о лучших показателях репигментации при узкополосной фототерапии при локализации очагов витилиго на коже лица по сравнению с другими открытыми и закрытыми участками кожи [19]. При этом репигментация на акральных участках кожи (на кистях и стопах) неизменно показывает наиболее низкие значения эффективности NB-UVB и PUVA-терапии, при этом околоногтевые области имеют наиболее худший прогноз [20]. Резистентные к NB-UVB очаги витилиго на лице включают ушные области и кожу вокруг, губы и углы рта [21]. Причина в разном ответе на фототерапию для этих анатомических областей все еще не ясна, предположительно, это может быть связано с региональными изменениями в плотности волосяных фолликулов, «резервуара меланоцитов», а также, возможно, более низким количеством меланоцитов и низкой экспрессией фактора стволовых клеток в этих областях [22]. Полученные при мексаметрии очагов витилиго данные, демонстрирующие значительные отличия уровня меланина в коже очагов различных локализаций у одного пациента, по-видимому, являются важным шагом к решению данного вопроса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ezzedine K., Eleftheriadou V., Whitton M., van Geel N. Vitiligo. Lancet 2015; 386 (9988): 74-84.

2. Linthorst Homan M.W., Wolkerstorfer A., Sprangers M.A., van der Veen J.P. Digital image analysis vs. clinical assessment to evaluate repigmentation after punch grafting in vitiligo. J Eur Acad Dermatol Venereol 2013; 27 (2): e235-238.

3. Ho B.K., Robinson J.K. Color bar tool for skin type self-identification: A cross-sectional study. J Am Acad Dermatol 2015; 73 (2): 312-313.

4. Visscher M.O. Skin Color and Pigmentation in Ethnic Skin. Facial Plast Surg Clin North Am 2017; 25 (1): 119-125.

5. Xiong X.X., Ding G.Z., Zhao W.E. et al. Differences in the melanosome distribution within the epidermal melanin units and its association with the impairing background of leukoderma in vitiligo and halo nevi: a retrospective study. Arch Dermatol Res 2017; 309 (5): 323-333.

6. Rodrigues M., Ezzedine K., Hamzavi I. et al. Current and emerging treatments for vitiligo. J Am Acad Dermatol 2017; 77 (1): 17-29.

7. Papiy N.A. Hardware methods of skin research. Meditsinskaya panorama 2009; (1): 52-54. [Папий Н.А. Аппаратные методы исследования кожи. Медицинская панорама 2009; (1): 52-54].

8. Bastonini E., Bellei B., Filoni A. et al. Involvement of non-melanocytic skin cells in vitiligo. Exp Dermatol 2019; 28 (6): 667-673.

9. Sosa J.J., Currimbhoy S.D., Ukoha U. et al. Confetti-like depigmentation: A potential sign of rapidly progressing vitiligo. J Am Acad Dermatol 2015; 73 (2): 272-275.

10. Rashighi M., Agarwal P., Richmond J.M. et al. CXCL10 is critical for the progression and maintenance of depigmentation in a mouse model of vitiligo. Sci Transl Med 2014; 6 (223): 223ra23.

11. Boissy R.E. Melanosome transfer to and translocation in the keratinocyte. Exp Dermatol 2003; 12, suppl 2: 5-12.

12. Nedelec B., Forget N.J., Hurtubise T. et al. Skin characteristics: normative data for elasticity, erythema, melanin, and thickness at 16 different anatomical locations. Skin Res Technol 2016; 22 (3): 263-275.

13. Cario-André M., Pain C., Gauthier Y. et al. In vivo and in vitro evidence of dermal fibroblasts influence on human epidermal pigmentation. Pigment Cell Res 2006; 19 (5): 434-442.

14. Bastonini E., Kovacs D., Picardo M. Skin Pigmentation and Pigmentary Disorders: Focus on Epidermal/Dermal Cross-Talk. Ann Dermatol 2016; 28 (3): 279-289.

15. Yamaguchi Y., Itami S., Watabe H. et al. Mesenchymal-epithelial interactions in the skin: increased expression of dickkopf1 by palmoplantar fibroblasts inhibits melanocyte growth and differentiation. J Cell Biol 2004; 165 (2): 275-285.

16. Choi W., Wolber R., Gerwat W. et al. The fibroblast-derived paracrine factor neuregulin-1 has a novel role in regulating the constitutive color and melanocyte function in human skin. J Cell Sci 2010; 123 (Pt 18): 3102-11.

17. Cheng Y.P., Chiu H.Y., Jee S.H., Tsai T.F. Excimer light photototherapy of segmental and non-segmental vitiligo: experience in Taiwan. Photodermatol Photoimmunol Photomed 2012; 28 (1): 6-11.

18. Cho S., Zheng Z., Park Y.K., Roh M.R. The 308-nm excimer laser: a promising device for the treatment of childhood vitiligo. Photodermatol Photoimmunol Photomed 2011; 27 (1): 24-29.

19. Brazzelli V., Prestinari F., Castello M. et al. Useful treatment of vitiligo in 10 children with UV-B narrowband (311 nm). Pediatr Dermatol 2005; 22 (3): 257-261.

20. Sapam R., Agrawal S., Dhali T.K. Systemic PUVA vs. narrowband UVB in the treatment of vitiligo: a randomized controlled study. Int J Dermatol 2012; 51 (9): 1107-1115.

21. Parsad D., Kanwar A.J., Kumar B. Psoralen-ultraviolet A vs. narrow-band ultraviolet B phototherapy for the treatment of vitiligo. J Eur Acad Dermatol Venereol 2006; 20 (2): 175-177.

22. Lee D.Y., Kim C.R., Lee J.H. Recent onset vitiligo on acral areas treated with phototherapy: need of early treatment. Photodermatol Photoimmunol Photomed 2010; 26 (5): 266-268.

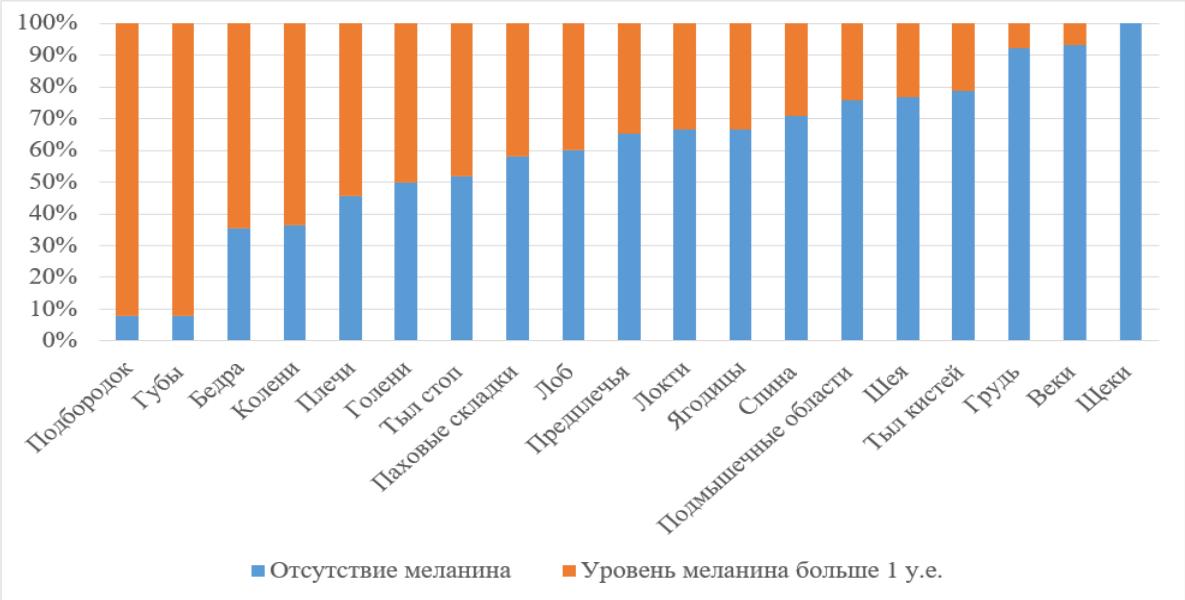
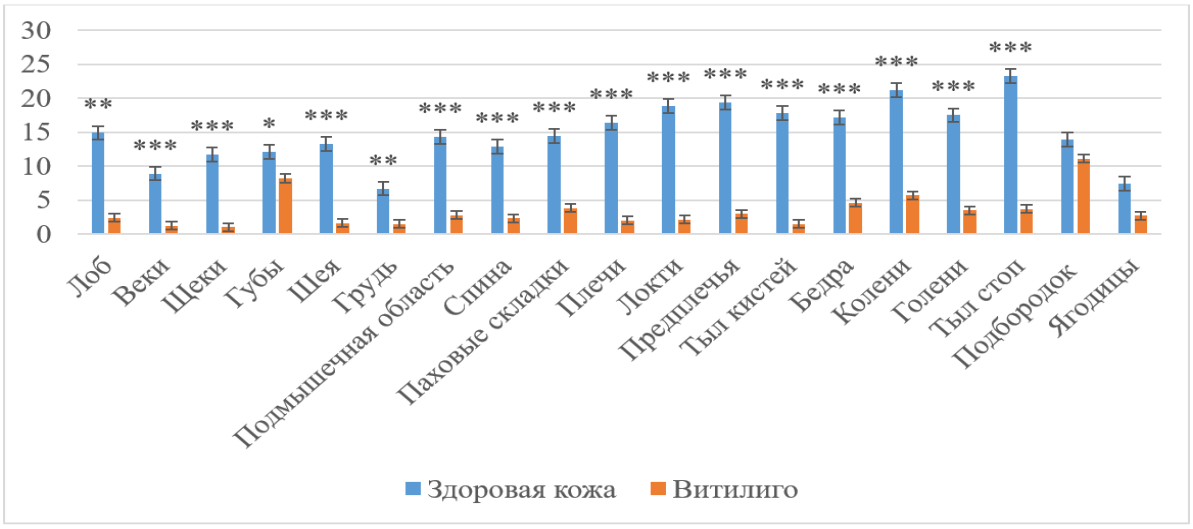


Рисунок 1. Количество пациентов с отсутствием меланина и уровнем меланина больше 1 у.е. в различных очагах витилиго



*Примечание: * – p <0,05; ** – p <0,01; *** – p <0,001.*

Рисунок 2. Средний уровень меланина на здоровой коже и в очагах витилиго у обследованных пациентов, у. е.

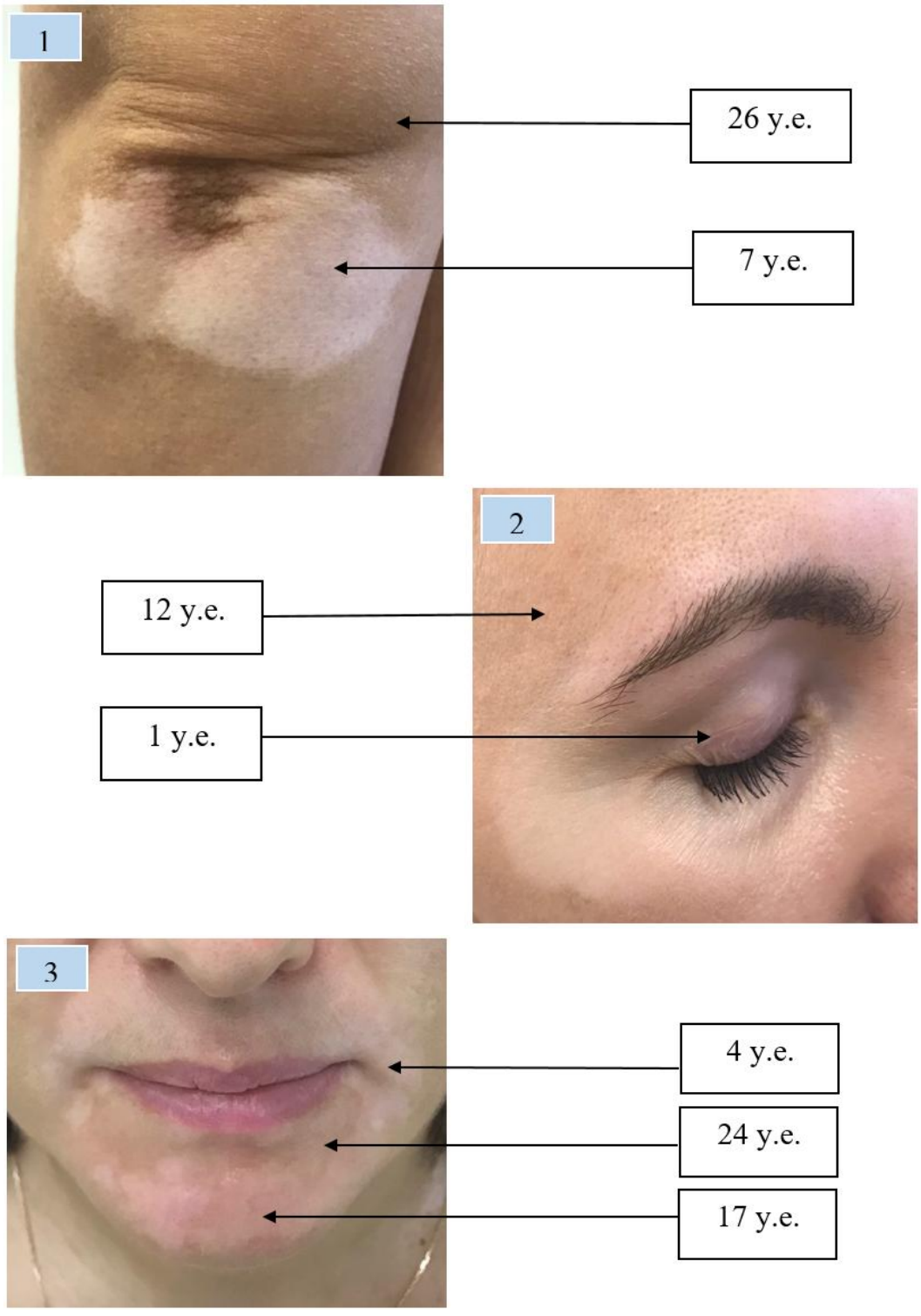


Рисунок 3. Уровни меланина у пациентов с витилиго: **1)** в очаге депигментации на разгибательной поверхности локтевого сустава (1 у.е.) и на окружающей здоровой коже (26 у.е.); **2)** в очаге депигментации на коже века (1 у.е.) и на здоровой коже (12 у.е.); **3)** в очаге витилиго на коже вокруг губ (4 у.е.) и на коже подбородка (17 у.е.), на окружающей здоровой коже (24 у.е.).

Сведения об авторах:

Деева Наталья Владимировна – ассистент кафедры фундаментальной медицины Новосибирского национального исследовательского государственного университета, врач-дерматовенеролог МНОЦ ИМПЗ НГУ

Сергеева Ирина Геннадьевна – д.м.н, профессор кафедры фундаментальной медицины, директор Центра постдипломного медицинского образования Новосибирского национального исследовательского государственного университета

Для ссылки: Осиков М.В. Взаимосвязь клинических проявлений с показателями иммунного статуса в динамике экспериментального язвенного колита/ Осиков М.В., Бойко М.С.// Южно-Уральский медицинский журнал. – 2020. – №1 – с.102-112.

УДК: 616.348-002.44-097

ВЗАИМОСВЯЗЬ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ИММУННОГО СТАТУСА В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

Осиков М.В., Бойко М.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования«Южно-Уральский Государственный Медицинский Университет» Минздрава РФ, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского,64

THE RELATIONSHIP OF CLINICAL MANIFESTATIONS WITH INDICATORS OF THE IMMUNE STATUS IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL ULCERATIVE COLITIS

Osikov M.V., Boyko M.S.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "South Ural State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 454092, Chelyabinsk, st.Vorovskogo, 64

РЕЗЮМЕ

Введение. Изучение корреляционной зависимости клинических проявлений с показателями иммунного статуса в динамике язвенного колита поможет выделить наиболее значимые показатели иммунного статуса, имеющие существенное диагностическое и прогностическое значение.

Организация и методы. Экспериментвыполнен на 56 крысах-самцах линии Wistar. ЯК моделировали двухэтапным (накожным, а затем ректальным) применением 3% спиртового раствора оксазолона.На 2, 4 и 6 сутки ЯКпо адаптированной для крыс шкале Diseaseactivityindex (DAI) оценивали клиническую картину, определяли в крови количество популяций лейкоцитов на гематологическом анализаторе, количество $CD3^+$, $CD45RA^+$ методом проточной цитометрии, поглотительную способность нейтрофилов крови с использованием частиц латекса, кислородзависимый метаболизм – в

спонтанном и индуцированном НСТ-тесте, в сыворотке исследовали концентрацию IgM, IgG, IL-8 и IL-6 методом иммуноферментного анализа.

Результаты и заключение. При ЯК на 2, 4 и 6 сутки повышается DAI, в крови увеличивается общее количество лейкоцитов, количество нейтрофилов, их поглотительная и НСТ-редуцирующая активность, увеличивается общее количество лимфоцитов, включая$CD3^+$, $CD45RA^+$, повышается концентрация в сыворотке IgM, IgG, IL-8, IL-6. Установлены максимально выраженные ассоциации между DAIи показателями иммунного статуса на 2 и 6 сутки ЯК. Обнаружены прямые средней силы с общим количеством лейкоцитов, количеством сегментоядерных нейтрофилов, активностью фагоцитоза, активностью и интенсивностью спонтанного НСТ-теста, количеством лимфоцитов, включая CD45RA+, уровнем IgG, IgM, прямые сильные связи с количеством палочкоядерных нейтрофилов,CD3+ лимфоцитов и концентрацией IL-8, IL-6.

Ключевые слова:язвенный колит, иммунный статус, индекс активности болезни, взаимосвязь

SUMMARY

Introduction.The study of the correlation dependence of clinical manifestations with indicators of the immune status in the dynamics of ulcerative colitis will help to identify the most significant indicators of the immune status, which have significant diagnostic and prognostic value.

Organization and methods.The experiment was performed on 56 male Wistar rats. UC was modeled by a two-stage (cutaneous and then rectal) application of a 3% alcohol solution of oxazolone. On days 2, 4 and 6 of UC, the clinical picture was assessed according to the Disease activity index (DAI) scale adapted for rats, the number of leukocyte populations in the blood was determined using a hematological analyzer, the number of CD3+, CD45RA+ by flow cytometry the absorption capacity of blood neutrophils using latex particles, oxygen-dependent metabolism – in spontaneous and induced NBT-test, the concentration of IgM, IgG, IL-8 and IL-6 in serum was investigated by enzyme immunoassay.

Results and conclusion.With UC on days 2, 4 and 6, DAI increases, the total number of leukocytes in the blood increases, the number of neutrophils, their absorption and NBT-reducing activity, the total number of lymphocytes, including CD3 +, CD45RA +, increases, the serum concentration of IgM, IgG, IL-8, IL-6. The most pronounced associations between DAI and indicators of immune status on days 2 and 6 of UC were found. Straight lines of medium strength with the total number of leukocytes, the number of segmented neutrophils, the activity of phagocytosis, the activity and intensity of the spon-

taneous NBT test, the number of lymphocytes, including CD45RA+, the level of IgG, IgM, direct strong links with the number of stab neutrophils, CD3+ lymphocytes and the concentration of IL-8 were found, IL-6.

Key words: ulcerative colitis, immune status, disease activity index, relationship

ВВЕДЕНИЕ

Во всем мире в течение последних десятилетий увеличивается распространенность аутоиммунных заболеваний желудочно-кишечного тракта, в частности, язвенного колита (ЯК). По данным разных авторов, в зависимости от региона распространенность ЯК составляет от 37 до 246 случаев на 100 тысяч населения, не имея тенденции к снижению [1, 2].ЯК – это полиэтиологическое заболевание, с хроническим воспалительно-деструктивным прогредиентным поражением слизистой оболочки толстой кишки факторами иммунной системы в условиях дизрегуляции иммунного ответа.Многочисленные данные свидетельствуют о роли в патогенезе ЯК факторов врожденного иммунитета, в частности гиперактивации нейтрофилов и макрофагов, увеличении продукции провоспалительных цитокинов и снижении противовоспалительных цитокинов, изменении иммунного ответа в сторону преобладания Th2-зависимых и Th17-зависимых реакций, ограничении эффектов Treg, избыточной продукции иммуноглобулинов и других факторов [3-6].Указанные факторы приводят к повреждению дистальных отделов толстой кишки, язвообразованию в слизистой оболочке, фиброзу, что клинически проявляется тенезмами, изменениями консистенции стула, примесью крови в каловых массах, дефицитом массы тела и др. симптомами, включая кишечные и внекишечные осложнения [7-9].С учетом вышеизложенного, изучение иммунного статуса в динамике ЯК и обнаружение корреляционной зависимостипозволит уточнить роль иммунных факторов в патогенезе, их диагностическое и прогностическое значение.

Цель исследования. Установить взаимосвязь между клиническими проявлениямии показателями иммунного статуса в динамике экспериментального язвенного колита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 56 крысах-самцах с массой 215-245 г линии Wistar, которые содержались в соответствии с требованиями Европейской конвенции по содержанию, уходу и выводу из эксперимента лабораторных животных [10]. Заключение этического комитета ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России от 27.12.2017 г., протокол №11. Животных случайным образом разделили на 2 группы: I (n=7) – интактный контроль; II (n=49) – животные с ЯК. Анестезия проводилась

путем внутримышечного введения препарата «Золетил-100» (МНН: тилетамина гидрохлорид, «VirbacSanteAnimale», Франция) в дозе 20 мг/кг. ЯК моделировали путем двухэтапного применения150 мкл 3% спиртового раствора оксазолона («Sigma-aldrich», USA): на первом этапе сенсибилизация путем нанесения на кожу между лопаток, на втором этапе введением *perrectum*на глубину 7-8 см [11]. Верификацию ЯК проводили клиническими и морфологическими методами исследования. Клинический статус оценивали, используя шкалу активности болезни (Diseaseactivityindex, DAI) адаптированную для крыс, которая включает массу тела, консистенцию стула и наличие крови в каловых массах. Каждый критерий оценивали по шкале от 0 до 4, баллы суммировали, минимальное значение индекса – 0, максимальное – 12 [12].Оценку в крови общего количества лейкоцитов выполняли с помощью автоматического гематологического анализатора для ветеринарии «BC-2800Vet» («Mindray», Китай), откалиброванного для крови крыс, лейкоцитарную формулу определяли путем подсчета клеток в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Нейтрофилы и лимфоциты выделяли из цельной крови на градиенте плотности стерильных растворов фиколла («Pharmacia», Швеция) и верографина («Spofa», Чехия). О функциональной активности нейтрофилов крови судили по поглощению частиц монодисперсного полистирольного латекса с подсчетом активности фагоцитоза, фагоцитарного числа, кислородзависимому метаболизму в тесте восстановления нитросинеготетразолия (НСТ) в спонтанном и индуцированном режимах с подсчетом активности и интенсивности НСТ-теста[13]. Субпопуляционный спектр лимфоцитов крови определяли с помощью проточного цитофлуориметра «Navios» («BeckmanCoulter», США) с использованием специфических крысиных моноклональных антител («eBioscience», США) с фенотипом CD3+ (Т-лимфоциты) и CD45RA+ (В-лимфоциты). На автоматическом иммуноферментном анализаторе «Personal LAB» (Италия) в сыворотке определяли концентрацию иммуноглобулинов G (IgG) иМ(IgM) (результат выражалинг/мл), интерлейкина-8 (IL-8) и интерлейкина-6 (IL-6)(результат выражали в пг/мл) с использованием специфических тест-систем для крыс фирмы «Cloud-ClonCorp.» (Китай).Полученные данные обрабатывали, используя программу «IBM SPSS Statistics v.23» (США). Характеристика выборок представлена в формате «Me (Q1; Q3)», где Me – медиана, Q1 и Q3 – значение нижнего и верхнего квартиля соответственно. Для оценки значимости различий между двумя группами использовали непараметрические критерии Манна-Уитни, Вальда-Вольфовитца, Колмогорова-Смирнова при условии, что межгрупповые различия значимы по критерию Краскела-Уоллиса. Для выявления связи между изучаемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (R). Статистически значимыми считали отличия при $p<0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При экспериментальном ЯК у животных на 2 сутки наблюдения снижается масса тела, увеличивается количество дефекаций, консистенция кала становится жидкой, появляется кровь, определяемая визуально и в бензидиновой пробе. На 4 и 6 сутки клинические признаки усугубляются,кроме этого, у крыс снижается двигательная активность, подходы к пище и воде. Клиническая картина отражена в статистически значимом увеличении индекса DAI на 2, 4 и 6 сутки. DAI прогрессивно увеличивается от 2 к 6 суткам наблюдения, значение DAI на 6 сутки значимо ($p<0,01$) выше, чем на 2 сутки (табл. 1).

При ЯК на 2, 4 и 6 сутки эксперимента статистически значимо увеличивается общее количество лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов (табл. 2). В динамике ЯК количество лейкоцитов в крови на 4 сутки ниже ($p<0,05$), чем на 2 суток, на 6 сутки выше ($p<0,05$), чем на 4 сутки, но не отличается ($p>0,05$) от 2 суток.Количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов снижаетсяк 6 суткам эксперимента: на 4 сутки не отличается ($p>0,05$) от 2 суток, на 6 сутки ниже ($p<0,01$), чем на 2 и 4 сутки наблюдения. Исследование поглотительной способности нейтрофилов крови выявило значимое повышение активности фагоцитоза и фагоцитарного числа на 2, 4 и 6 сутки ЯК. В динамике ЯК активность фагоцитоза на 4 сутки не отличается ($p>0,05$) от 2 суток, на 6 сутки не отличается ($p>0,05$) от 4 и 2 суток, фагоцитарное число на 4 сутки ниже ($p<0,01$), чем на 2 сутки, на 6 сутки не отличается ($p>0,05$) от 2 суток, но выше ($p<0,01$), чем на 4 сутки. НСТ-редуцирующая активность нейтрофилов крови в спонтанном режиме увеличивается на 2, 4 и 6 сутки ЯК по показателю активности НСТ-теста, на 4 и 6 сутки – по показателю интенсивности НСТ-теста, в индуцированном режиме активность и интенсивность НСТ-теста значимо увеличиваются на 2, 4 и 6 сутки исследования. В динамике наблюдения активность и интенсивность спонтанного НСТ-теста на 6 сутки выше ($p<0,01$), чем на 2 и 4 сутки, активность и интенсивность индуцированного НСТ-теста на 4 сутки выше ($p<0,01$), чем на 2 и 6 сутки.На 2, 4 и 6 сутки экспериментального ЯК в крови увеличивается общее количество лимфоцитов (табл. 2). При оценке субпопуляционного состава лимфоцитов в крови выявлено значимое увеличение количества CD3+ лимфоцитов, т.е. представителей преимущественно Т-лимфоцитов и CD45RA+ лимфоцитов, представителей преимущественно В-лимфоцитов. В динамике экспериментального ЯК общее количество лимфоцитов, количество CD3+, CD45RA+ лимфоцитов на 4 сутки не отличается ($p>0,05$) по сравнению со 2 сутками, на 6 сутки не отличается ($p>0,05$) по сравнению с 4 и 2 сутками. Увеличение количества В-лимфоцитов в крови нашло отражение в повышении концентрации в сыворотке иммуноглобулинов IgM и IgG на 2, 4 и 6 сутки ЯК (табл. 2). При исследовании цитокинов в сыворотке выявлено статистически значимое увеличение концентрации IL-8 и IL-6 на 2, 4 и 6 сутки экспериментально-

го ЯК (табл. 2). Отметим, что в динамике наблюдения концентрация в сыворотке IgM и IgG на 4 сутки не отличается ($p>0,05$) по сравнению со 2 сутками, на 6 сутки не отличается ($p>0,05$) по сравнению с 4 и 2 сутками. Концентрация в сыворотке IL-8 была стабильно высокой на 2, 4 и 6 сутки ЯК, а концентрация IL-6 на 4 и 6 сутки наблюдения была выше ($p<0,01$), чем на 2 сутки ЯК.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полагаем, что при экспериментальном оксазолон-индуцированном ЯК увеличение в крови количества нейтрофилов, их поглотительной и НСТ-редуцирующей способности реализуется за счет демаргинации в сосудистом русле, выхода зрелых нейтрофилов из костного мозга на 2 сутки, активации пролиферации и дифференцировки клеток миелоидного ростка костного мозга под действием провоспалительных медиаторов, в том числе, IL-6, IL-8, концентрация которых в сыворотке увеличивается [14]. Возможно, увеличение в крови количества лимфоцитов, включая CD3+, CD45RA+, связано не только с активацией синтеза их denovo, активацией лимфопоэза, но и ограничением их гибели в условиях цитокинового дисбаланса, нарушения равновесия между эффекторами Th1-, Th2-, Th17-, Treg-зависимого ответа, что сопровождается активной миграцией лимфоцитов в очаг повреждения и играет ключевую роль в механизмах аутоиммунной деструкции стенки толстой кишки [15, 16]. При ЯК изменения иммунного статуса включают увеличение концентрации в сыворотке и в очаге повреждения толстой кишки IL-2, IL-6, IL-8, IL-17, IL-22, TNF-a, активацию преимущественно Th2-зависимого иммунного ответа с гиперпродукциейIgM, IgG, образованием иммунных комплексов, активацией системы комплемента, цитотоксическим действием нейтрофилов и макрофагов в очаге воспаления, что поддерживает повреждение стенки толстой кишки [17]. В ответ на повреждение толстой кишки активируются нейтрофилы, моноциты/макрофаги, эндотелиоциты и другие клетки, участвующие в синтезе и секреции провоспалительных цитокинов, в частности IL-6, IL-8, что было обнаружено, начиная со 2 суток экспериментального ЯК и максимальной выраженностью на 4 и 6 сутки. Изменения иммунного статуса сопровождаются усугублением клинических проявлений от 2 к 6 суткам: изменением консистенции стула, примесью крови в каловых массах и дефицитом массы тела.С использованием корреляционного анализа установлены связи между показателем DAI и показателями иммунного статуса в динамике экспериментального ЯК (табл. 3). На 2 сутки обнаружены статистически значимые прямые средней силы с общим количеством лейкоцитов, количеством сегментоядерных нейтрофилов, активностью фагоцитоза, активностью и интенсивностью спонтанного НСТ-теста, количеством лимфоцитов, включая CD45RA+, уровнем IgG, IgM и концентрациейIL-8, прямые сильные связи с количеством палочкоядерных нейтрофилов и концентрацией IL-6. На 4 сутки зафиксированы прямые средней силы связи

с количеством сегментоядерных нейтрофилов, уровнем IgG и концентрацией IL-8,IL-6. На 6 сутки зафиксированы прямые средней силы связи с общим количеством лейкоцитов, активностью фагоцитоза, активностью спонтанного НСТ-теста, количеством лимфоцитов, включая CD45RA+ и уровнем IgM, прямые сильные связи с количеством CD3+ лимфоцитов и концентрацией IL-8, IL-6.Можно сделать вывод, что такие показатели как общее количество лейкоцитов, количество нейтрофилов, активность фагоцитоза, активность спонтанного НСТ-теста, количество лимфоцитов, включая CD3+,CD45RA+ и концентрация IgG, IgMи IL-8,IL-6 имеют диагностическое значение при ЯК. Увеличение данных показателей связано с увеличением индекса активности болезни при экспериментальном ЯК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При экспериментальном оксазолон-индуцированном ЯК на 2, 4 и 6 сутки повышается DAI, в крови увеличивается общее количество лейкоцитов, количество нейтрофилов, их поглотительная и НСТ-редуцирующая активность, увеличивается общее количество лимфоцитов, включая$CD3^+$, $CD45RA^+$, повышается концентрация в сыворотке IgM, IgG, IL-8, IL-6. Установлены максимально выраженные ассоциации между индексом активности болезни и показателями иммунного статуса на 2 и 6 сутки ЯК. Обнаружены прямые средней силы с общим количеством лейкоцитов, количеством сегментоядерных нейтрофилов, активностью фагоцитоза, активностью и интенсивностью спонтанного НСТ-теста, количеством лимфоцитов, включая CD45RA+, уровнем IgG, IgM, прямые сильные связи с количеством палочкоядерных нейтрофилов, CD3+ лимфоцитов и концентрацией IL-8, IL-6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ng S.C., Shi H.Y., Hamidi N. et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. Lancet 2018; 390(10114):2769-2778.

2. Yang Y., Owyang C., Wu G.D. East Meets West: the increasing incidence of inflammatory bowel disease in Asia as a paradigm for environmental effects on the pathogenesis of immune-mediated disease. Gastroenterology 2016; 151(6): 1-5.

3. Ahluwalia B., Moraes L., Magnusson M.K., Öhman L. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. Scand J Gastroenterol 2018; 53(4):379-389.

4. Eichele D.D., Kharbanda K.K. Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis. World J Gastroenterol 2017; 23(33):6016-6029.

5. Larabi A., Barnich N., Nguyen H.T.T. New insights into the interplay between autophagy, gut microbiota and inflammatory responses in IBD. Autophagy 2020; 16(1):38-51.

6. Lynch W.D., Hsu R. Ulcerative Colitis. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020. URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29083748 (дата обращения : 19.02.2021).

7. Kopecki Z., Yang G., Treloar S. et al. Flightless I exacerbation of inflammatory responses contributes to increased colonic damage in a mouse model of dextran sulphate sodium-induced ulcerative colitis. Sci Rep 2019; 9:12792.

8. Sitkin S.I., Vahitov T.YA., Dem'yanova E.V. The microbiome, colon dysbiosis and inflammatory bowel disease: when function is more important than taxonomy. Al'manah klinicheskoj mediciny 2018; 46 (5):396-425. [Ситкин С.И., Вахитов Т.Я., Демьянова Е.В. Микробиом, дисбиоз толстой кишки и воспалительные заболевания кишечника: когда функция важнее таксономии. Альманахклиническоймедицины 2018; 46 (5):396-425.]

9. Ungaro R., Mehandru S., Allen P.B. et al. Ulcerative colitis. The Lancet 2017; 389(10080):1756-1770.

10. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Saint-Petersburg; 2012. [Директива 2010/63/ EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Санкт-Петербург; 2012.]

11. Heller F., Fuss I.J., Nieuwenhuis E.E. et al. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells. Immunity 2002; 17(5):629-638.

12. Wang X.W., Yang J.H., Cao Q., Tang J.M. Therapeutic efficacy and mechanism of water-soluble extracts of Banxiaxiexin decoction on BALB/c mice with oxazolone-induced colitis. Exp Ther Med 2014; 8(4):1201-1204.

13. FreydlinI.S. Metody izucheniya fagotsitiruyushchikh kletok pri otsenke immunnogo statusa cheloveka. Leningrad; 1986. [Фрейдлин И.С. Методы изучения фагоцитирующих клеток при оценке иммунного статуса человека. Л.; 1986.].

14. Martinez-Fierro M.L., Garza-Veloz I., Rocha-Pizaña M.R. et al. Serum cytokine, chemokine, and growth factor profiles and their modulation in inflammatory bowel disease. Medicine 2019; 98(38):17208.

15. Silva F.A., Rodrigues B.L., Ayrizono M.L., Leal R.F. The Immunological Basis of Inflammatory Bowel Disease. Gastroenterol Res Pract 2016; 2016:2097274.

16. Xiuhong L., Yajun D.U., Guoxing L. et al. Kirenol relieves dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice by inhibiting inflammatory cytokines and inducing $CD4^+$ T lymphocyte apoptosis. Nan Fang Yi Ke Da XueXueBao 2019; 39(12):1387-1392.

Таблица 1. Индексактивности болезни (DAI, у.е.) при экспериментальном ЯК (Me (Q_1; Q_3))

Группа 1	Группа 2		
	2 сутки	4 сутки	6 сутки
0	7,00 (3,00;7,00) *	8,00 (6,00;10,00) *	11,00 (11,00;11,00) *
Примечание. * – значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1			

Таблица 2. Показатели иммунного статуса при экспериментальном ЯК (Me (Q_1; Q_3))

Показатели	Группа 1	Группа 2		
		2 сутки	4 сутки	6 сутки
1	2	3	4	5
Лейкоциты, • 10^9/л	4,40 (4,00;5,40)	10,45 (7,10;12,80)*	6,45 (6,00;11,40)*	8,95 (6,10;14,20)*
ПЯН, •10^9/л	0,04 (0;0,14)	0,37 (0,21;0,38)*	0,23 (0,15;0,41)*	0,12 (0,07;0,14)*
СЯН, •10^9/л	1,36 (1,33;1,56)	5,41 (2,41;6,14)*	2,43 (2,04;4,78)*	2,28 (1,74;3,13)*
АФ, %	36,00 (32,00;39,00)	78,50 (74,00;79,00)*	61,00 (61,00;78,00)*	74,00 (69,00;75,00)*
ФЧ, у. е.	1,88 (1,87;2,22)	15,65 (14,78;16,25)*	13,06 (10,28;13,27)*	16,18 (13,69;19,29)*
НСТ-тест сп, акт-ть, %	4,00 (4,00;5,00)	10,50 (8,00;15,00)*	14,50 (11,00;15,00)*	16,50 (14,00;19,00)*
НСТ-тест сп, инт-ть, у. е.	0,06 (0,05;0,07)	0,05 (0,05;0,11)	0,13 (0,05;0,30) *	0,19 (0,11;0,27)*
НСТ-тест ин, акт-ть, %	3,50 (3,00;4,00)	12,50 (10,00;14,00)*	30,00 (22,00;37,00)*	22,50 (17,00;26,00)*
НСТ-тест ин, инт-ть, у. е.	0,06 (0,06;0,06)	0,19 (0,19;0,20)*	0,39 (0,34;0,39)*	0,19 (0,12;0,23)*

Окончание таблицы 2.

1	2	3	4	5
Лимфоциты,•10^9/л	8,62 (8,42;8,82)	11,83 (10,93;14,82)*	12,87 (11,12;15,01)*	12,42 (11,97;15,29)*
CD3+,•10^9/л	3,00 (2,80;3,41)	4,97 (3,76;8,15)*	4,39 (4,24;6,31)*	4,67 (3,47;5,74)*
CD45RA+,•10^9/л	2,60 (2,00;3,40)	3,99 (3,98;4,86)*	3,63 (2,54;5,71)*	3,87 (2,04;4,98)*
Ig G, г/л	3,23 (3,05;7,27)	10,51 (10,32;10,67)*	11,69 (10,84;33,33)*	10,58 (10,51;16,66)*
IgM, г/л	12,71 (11,82;17,64)	29,98 (29,63;60,58)*	32,45 (31,39;35,62)*	34,22 (29,63;34,92)*
IL-8, пг/мл	90,61 (88,51;93,12)	273,47 (222,36;291,08)*	224,91 (217,68;233,41)*	245,74 (225,76;296,36)*
IL-6, пг/мл	16,57 (15,65;18,41)	45,11 (44,18;46,03)*	51,55 (50,63;52,47)*	52,47 (49,71;54,31)*

Примечание. * – значимые ($p<0,01$) различия с группой 1

Сокращения: ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы; СЯН – сегментоядерные нейтрофилы; АФ – активность фагоцитоза; НСТ-тест сп, акт-ть –активность спонтанного НСТ-теста; НСТ-тест сп, инт-ть – интенсивность спонтанного НСТ-теста; НСТ-тест ин, акт-ть – активность индуцированного НСТтеста; НСТ-тест ин, инт-ть – интенсивность индуцированного НСТ-теста; ФЧ – фагоцитарное число.

Таблица 3. Корреляция между индексом активности болезни (DAI, у.е.) и показателями иммунного статуса при ЯК

Показатели	2 сутки	4 сутки	6 сутки
Лейкоциты,• 10^9/л	**0,54**	0,47	**0,57**
ПЯН, •10^9/л	**0,87**	0	0,25
СЯН, •10^9/л	**0,58**	**0,53**	0,15
АФ, %	**0,56**	0,31	**0,51**
ФЧ, у. е.	0,32	0,37	0,26
НСТ-тест сп,акт-ть, %	**0,51**	0,41	**0,62**
НСТ-тест сп,инт-ть, у. е.	**0,59**	0,41	0
НСТ-тест ин,акт-ть, %	0,34	0,31	0,37
НСТ-тест ин,инт-ть, у. е.	0,13	0,25	0,41
Лимфоциты, •10^9/л	**0,67**	0,21	**0,54**
CD3+, •10^9/л	0,31	0,47	**0,79**
CD45RA+, •10^9/л	**0,59**	0,35	**0,57**
Ig G, г/л	**0,57**	**0,54**	0,39
IgM, г/л	**0,51**	0	**0,54**
IL-8, пг/мл	**0,61**	**0,56**	**0,72**
IL-6, пг/мл	**0,81**	**0,54**	**0,71**
Примечание. Приведены значения коэффициента корреляции Спирмена (R). Полужирным шрифтом выделены статистически значимые ($p<0,05$) связи.			

Сведения об авторах:

Михаил Владимирович Осиков, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, e-mail: prof.osikov@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-6487-9083. eLibrary SPIN: 7919-2947

Osikov Mikhail Vladimirovich, D.Sc (Medicine), Professor, Head of the Department of Pathophysiology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation, e-mail: prof.osikov@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-6487-9083. eLibrary SPIN: 7919-2947

Бойко Маргарита Сергеевна, ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, адрес: ул. Воровского, д. 64, г. Челябинск, 454045, тел: 8-982-288-07-18. ORCID: 0000-0002-4046-2424, eLibrary SPIN: 2646-0335, e-mail: ri-tochka9@list.ru

Boyko Margarita Sergeevna, Assistant of the Department of Pathophysiology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation, address: st. Vorovskogo, 64, Chelyabinsk, 454045, n: 8-982-288-07-18. ORCID: 0000-0002-4046-2424, eLibrary SPIN: 2646-0335, e-mail: ri-tochka9@list.ru

Требования к оформлению материалов

Общие правила:

1. Текст статьи подается в формате Microsoft Office Word.

2. Язык статьи: русский или английский.

3. Если статья написана на русском языке, обязателен перевод на английский язык (Ф.И.О. авторов, официальное название учреждений авторов, адреса, название статьи, резюме статьи, ключевые слова, информация для контакта с ответственным автором, а также список литературы (References)).

4. Объем рукописи с учетом таблиц, иллюстраций, списка литературы не менее 25 стр. для обзорных статей и 20 стр. для прочих материалов. Статьи большего объема печатаются только по согласованию с редакционной коллегией.

5. Шрифт Times New Roman 14, интервал — 1,5, ширина всех полей — 2,5 см, абзацный отступ (красная строка) — 1,27.

6. Нумерация страниц начинается с титульного листа.

7. Автоматический перенос слов запрещен.

8. При использовании рисунков, таблиц, схем, фотокопий, представленных в опубликованных ранее материалах, необходимы ссылки на авторов и источники публикации, а также разрешение на использование.

9. В конце статьи оформляют сведения об авторах.

10. Статьи предоставляются с сопроводительным письмом, содержащим информацию о том, что:

1) документ не находится на рассмотрении в другом месте;

2) статья не была ранее опубликована;

3) все авторы читали и одобрили рукопись;

4) документ содержит полное раскрытие конфликта интересов;

5) автор(ы) несут ответственность за достоверность представленных в рукописи материалов;

В сопроводительном письме также должен быть указан автор, ответственный за переписку.

Авторство:

1. Каждый автор вносит значимый вклад в представленную для опубликования работу.

2. Если в авторском списке рукописи представлены более 4 авторов, желательно указание вклада в данную рукопись каждого автора в сопроводительном письме.

3. Если авторство приписывается группе авторов, все члены группы должны отвечать всем критериям и требованиям для авторов.

4. Для экономии места члены группы исследователей могут быть перечислены отдельным списком в конце статьи.

5. Участие авторов в работе, представленной в рукописи, может быть следующее:

1) разработка концепции и дизайна или анализ и интерпретация данных;

2) обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания;

3)окончательное утверждение на представление рукописи.

6. Участие только в сборе данных не оправдывает авторство; по этому поводу может быть сделано соответствующее уведомление в разделе Благодарности.

Содержание рукописи:

1.Титульный лист: начинается с информации:

1) УДК;

2) Название статьи;

3) Фамилия, инициалы всех авторов;

4) Полное наименование учреждения, в котором работает каждый автор, в именительном падеже с обязательным указанием статуса организации, города, страны.

Если авторов несколько, у каждой фамилии и соответствующего учреждения проставляется цифровой индекс. Если все авторы статьи работают в одном учреждении, указывать место работы каждого автора отдельно не нужно, достаточно указать учреждение один раз. Если у автора несколько мест работы, каждое обозначается отдельным цифровым индексом.

2. Резюме — источник информации в отечественных и зарубежных информационных системах и базах данных, индексирующих журнал.

1) Структура резюме: введение, цель исследования, организация и методы, результаты, заключение (выводы).

2) Объем текста авторского резюме: от 100 до 200 слов.

3) Оригинальный перевод резюме на английский язык должен быть оригинальными (не калька русскоязычной аннотации).

4) Резюме должно сопровождаться несколькими ключевыми словами или словосочетаниями, отражающими основную тематику статьи. Ключевые слова перечисляются через запятую. В конце перечисления ставится точка.

5) Цель работы указывается в том случае, если она не повторяет заглавие статьи; изложение методов должно быть кратким и давать представление о методических подходах и методологии исследования. Приводятся основные теоретические и экспериментальные результаты, новые научные факты, обнаруженные взаимосвязи и закономерности.

6) Сведения, содержащиеся в заглавии статьи, не должны повторяться в тексте резюме.

7) Резюме и ключевые слова должны быть представлены как на русском, так и на английском языках.

3.Текст:

1)Структурирование текста оригинальных работ на Введение, Материал и методы, Результаты, Обсуждение и Заключение.

2)Текст описания клинического случая или обзора может быть не структурирован, но рекомендуется включать разделы Обсуждение и Заключение (Выводы, Рекомендации).

3) В заголовке работы указывается МНН лекарственных средств. Исключения — случаи, когда использование торговых названий обосновано по существу (при публикации результатов исследований био- или терапевтической эквивалентности препаратов). Торговое название в тексте используется не более 2 раза на стандартную страницу (1800 зн. с пробелами).

4) Все единицы измерения в рукописи представлены в системе СИ. Сокращения слов не допускаются, кроме общепринятых сокращений химических и математических величин, терминов.

5) Каждые рисунок, схема, таблица, фотоиллюстрация, ссылка на литературу, источник должны быть указаны в тексте в порядке упоминания.

6) Ссылки в тексте обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках.

4.Статистика:

1) В разделе «Методы» должен присутствовать подраздел подробного описания статистических методов, включая конкретные методы, используемые для обобщения данных; методов, используемых для проверки гипотез (если таковые имеются), и уровень значимости для проверки гипотез.

2) При использовании более сложных статистических методов (помимо t-теста, хи-квадрата, простой линейной регрессии) указывается статистический пакет, применявшийся при обработке результатов, и номер его версии.

5.Благодарности:

1) Раздел «Благодарности» или «Приложение» должен содержать не более 100 слов.

6.Ссылки:

1) Список литературы оформляется через двойной интервал на отдельном листе, каждый источник с новой строки под порядковым номером.

2) Все документы, на которые делаются ссылки в тексте, включаются в список литературы.

3) Список литературы составляется в порядке цитирования авторов.

4) Используйте Index Medicus для поиска сокращений названий журналов.

5) В список литературы не включаются ссылки на диссертационные работы, авторефераты, тезисы, опубликованные более 2 лет назад, а также материалы, наличие которых невозможно проверить (материалы локальных конференций и т.п.).

6) Принадлежность материала к тезисам обозначается в скобках (тезисы).

7) Желательно ссылаться на печатные источники в периодических изданиях, входящих в список ВАК.

8) Для повышения цитирования авторов в журнале проводится транслитерация русскоязычных источников с использованием официальных кодировок в следующем порядке: авторы и название журнала транслитерируются при помощи кодировок, а название статьи — смысловая транслитерация (перевод). При наличии оригинальной транслитерации указанного источника используется последняя. Для удобства транслитерации используйте http://translit.ru

9) Список литературы должен соответствовать формату, рекомендуемому Американской Национальной Организацией по Информационным Стандартам (NLM).

Примеры оформления ссылок по рекомендациям NLM:

Статьи из журналов, разделенных на тома:

Kormeili T., Lowe N.J.,Yamauchi P.S. Psoriasis: immunopathogenesis and evolving immunomodulatoris and systemic therapies. British Journal of Dermatology 2004; 151: 3-15

Статьи из журналов, разделенных наномера:

Кубанова А.А., Панова О.С., Мартынов А.А. Организационно-правовые аспекты врачебной косметологии и эстетический медицины. Вестник дерматологии и венерологии 2008; (2): 15-22.

Русскоязычные источники с транслитерацией:

Kubanova A.A., Frigo N.V., Rotanov S.V. et al. Modern approaches and prospects of development of laboratory diagnostics for sexually transmitted infections. Vestnik dermatologii I venerologii 2011;(5):54-63. [Кубанова А.А., Фриго Н.В., Ротанов С.В. и др.. Современные направления и перспективы развития лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем. Вестник дерматологи и венерологии 2011;(5):54-63]

Книги:

Дмитриев Г.А., Фриго Н.В. Сифилис. Дифференциальный клинико-лабораторный диагноз. Москва: Медицинская книга; 2004.

Глава в книге:

Кубанова А.А., Ковалык В.П. Гонорея. В: Клиническая дерматовенерология : в 2 т. Под ред. Ю.К. Скрипкина, Ю.С. Бутова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. Т. I. с. 403-435.

Графики, схемы, рисунки:

1) Принимаются в электронном варианте в форматах "MS Excel", "Adobe Illustrator", "Corel Draw" или "MS PowerPoint".

2) В тексте статьи обозначаются места для желательного размещения графиков, схем и рисунков.

3) Графики, схемы и рисунки должны размещаются на отдельных страницах, нумеруются в порядке упоминания в тексте, не повторяют содержание таблиц, имеют название и при необходимости примечания.

4) Оси графиков имеют названия и размерность. График снабжается легендой (обозначением линий и заполнений).

5) При сравнении диаграмм указывается достоверность различий. Запрещены 3-D модели для гистограммы.

6) Фотографии предоставляются с разрешением не менее 300 dpi. Место обрезки на микрофотографии показывает только основные поля.

7) Особенности фото отмечаются стрелками. Все символы, стрелки и надписи на полутоновых иллюстрациях должны контрастировать с фоном.

8) Все используемые сокращения определяются или после их первого упоминания в легенде, или в алфавитном порядке в конце каждой легенды.

9) Все используемые символы (стрелки, окружности и т.п.) должны быть объяснены.

10) Если используются данные, публиковавшиеся ранее, желательно указание на письменное разрешение от издателя.

8. Таблицы:

1) Печатаются через двойной интервал, имеют номер, соответствующий порядку упоминания в тексте, и название.

2) В таблицах указывается размерность показателей и форма представления данных (M±m; M±SD; Me; Mo; перцентили и т.д.).

3) Все цифры, итоги и проценты в таблицах должны быть тщательно выверены, а также соответствовать своему упоминанию в тексте.

4) Таблицы имеют заголовки колонок и строк, соответствующие их содержанию. Данные, представленные в таблицах, не дублируются в тексте или рисунке.

5) При необходимости приводятся пояснительные примечания ниже таблицы.

6) Сокращения перечисляются в сноске под таблицей в алфавитном порядке. Символы сносок приводятся в следующем порядке: *, †, ‡, §, | |, , #, **, † † и т.д.

7) Если используются таблицы, публиковавшиеся ранее, желательно указание на письменное разрешение от издателя.