

3
НОМЕР

БОИЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ

<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

Оренбургская область

Букобайские яры

Валиева Ж.А.



2023

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ОРЕНБУРГСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

© Коллектив авторов, 2023

УДК. 616.248 ; 616.08

Т.П. Оспельникова^{1, 2}, Г.Л. Осипова³, Н.В. Зарембо¹, Л.В. Колодяжная^{1, 2},
О.А. Свитич^{1, 4}, Ф.И. Ершов²

ИНТЕРФЕРОНИНДУЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛИГАНДОВ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

¹ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова (НИИВС им. И.И. Мечникова), Москва, Россия

² Национальный исследовательский Центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи (НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи), Москва, Россия

³ НИИ пульмонологии ФМБА России, Москва, Россия

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Цель. Оценить действие бактериальных лигандов при бронхиальной астме.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили кровь и сыворотка крови больных бронхиальной астмой в ремиссии. Лечение проводилось с использованием поликомпонентной вакцины ВП-4 (бактериальные лиганды). Система интерферонов (IFN) оценивалась до и после лечения по концентрации белков IFN γ и IL4 в сыворотке крови методом ИФА, по активности IFN α и IFN γ , продуцируемых лейкоцитами крови, методом IFN статус.

Результаты. У больных бронхиальной астмой выявлены сниженная биологическая активность IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови; повышенные концентрации IFN γ и IL4 в сыворотке крови. Терапия бактериальными лигандами показала выравнивание дисбаланса в системе IFN со статистически значимым снижением белков и повышением активности IFN ($p < 0,05$).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение бактериальных лигандов при бронхиальной астме способствует повышению клинической эффективности базисной терапии, оказывает корригирующее воздействие на функциональную активность системы IFN, снижает частоту ОРВИ и обострений заболевания.

Ключевые слова: бронхиальная астма, нарушения системы интерферонов, иммунокоррекция поликомпонентной вакциной ВП-4.

T.P. Ospelnikova^{1, 2}, G.L. Osipova³, N.V. Zarembo¹, L.V. Kolodyazhnaya^{1, 2},
O.A. Svitich^{1, 4}, F.I. Ershov²

INTERFERON-INDUCING ACTION OF BACTERIAL LIGANDS IN BRONCHIAL ASTHMA

¹ Scientific Research Institute of Vaccines and Sera of I.I. Mechnikov, Moscow, Russia

² Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology of N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

³ Federal Research Institute of Pulmonology of the Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russia

⁴ First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow, Russia

Aim. To evaluate the effect of bacterial ligands in bronchial asthma.

Materials and methods. The material of the study was the blood and serum of patients

with bronchial asthma in remission. The treatment was carried out using a multicomponent vaccine VP-4 (bacterial ligands). The interferon system (IFN) was assessed before and after treatment by the concentration of IFN γ and IL4 proteins in the blood serum by ELISA, by the activity of IFN α and IFN γ produced by blood leukocytes, by the IFN status method

Results. In patients with bronchial asthma, a reduced biological activity of IFN I and II types produced by blood leukocytes was revealed; increased concentrations of IFN γ and IL4 in the blood serum. Therapy with bacterial ligands showed an equalization of the imbalance in the IFN system with a statistically significant decrease in proteins and an increase in IFN activity ($p < 0.05$).

Conclusion. The results obtained indicate that the use of bacterial ligands in bronchial asthma improves the clinical effectiveness of basic therapy, has a corrective effect on the functional activity of the IFN system, and reduces the incidence of acute respiratory viral infections and exacerbations of the disease.

Key words: bronchial asthma, disorders of the interferon system, immunocorrection with a polycomponent vaccine VP-4.

Введение

По данным ВОЗ, более 300 миллионов человек во всём мире страдают бронхиальной астмой (БА), и их число растёт [1]. Распространенность БА среди взрослого населения России составляет от 3,4 до 10,6% [2, 3].

Изменение иммунологической реактивности у больных БА со снижением местного и адаптивного иммунитета и недостаточностью системы интерферона (IFN) создаёт предпосылки для частых острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) и развития на их фоне обострений заболевания.

Известно, что система IFN является одним из первых рубежей защиты организма человека при внедрении вирусов, способствуя их элиминации на ранних этапах болезни [4]. Кроме того, система IFN играет роль связующего звена между механизмами врождённого и приобретённого иммунитета, обеспечивая пролиферацию и дифференцировку иммунокомпетентных клеток, а также регулируя их активность [5].

В нашей работе для иммунокоррекции и достижения долговременной ремиссии [6] у больных с бронхиальной астмой средней тяжести и тяжелого течения был применен препарат бактериальных лигандов, воздействующих на клетки врождённого иммунитета, преимущественно, через Толл-подобные рецепторы (Toll-like-receptor, TLR) TLR-2, TLR-4 и Nod-подобные рецепторы (Nod-like-receptor, NLR) NOD-1, NOD-2. Эти рецепторы играют важную роль в индукции интерферонов, повышая неспецифическую реактивность организма.

Целью работы явилась оценка действия бактериальных лигандов при

бронхиальной астме.

Материалы и методы

Клинический материал. На базе ГКБ №57 (г. Москва) взяты в исследование образцы крови 32 пациентов БА в период ремиссии до и после лечения с дальнейшим клиническим наблюдением за больными в течение года. Диагноз БА установлен согласно рекомендациям ВОЗ (Глобальная стратегия лечения и профилактики БА (GINA)) и Российских клинических рекомендаций – Бронхиальная астма 2021 (сайт spulmo.ru) на основании анамнеза, клинических данных, результатов спирометрии, аллергологического обследования. Оценка степени тяжести проводилась по объему терапии, которая требуется для контроля симптомов и обострений (GINA) [7]. Исследования проводились при информированном согласии пациентов.

Вакцинацию бактериальными лигандами (БЛ) получали 17 пациентов с БА среднего и тяжелого течения в фазе ремиссии, в возрасте 16-61 лет (средний возраст $34,7 \pm 3,4$ лет). В группе сравнения было 15 больных с БА среднего и тяжелого течения в фазе ремиссии, в возрасте от 17 до 68 лет (средний возраст $39,1 \pm 5,1$ лет).

Препарат бактериальных лигандов (Иммуновак ВП-4) состоит из антигенов условно-патогенных микроорганизмов и разрешен к применению в практике отечественного здравоохранения, РУ № 93/270/20 от 17.11.93. Препарат разработан в НИИВС им. И.И. Мечникова, включает комплекс антигенов, извлечённых из специально селекционированных штаммов *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, обладающих высокой иммуногенной активностью, слабыми сенсibiliзирующими свойствами и широкой перекрёстной протективной активностью антигенов.

Препарат БЛ вводили пациентам комбинированным назально-подкожным способом: 3 интраназальных и 5-6 подкожных введений препарата. При интраназальном введении препарат вводили 3 дня подряд с увеличением дозы от 1-й до 4-х капель. Через 3-5 суток переходили к подкожному введению в дозах от 0,05 до 0,2 мл, соблюдая интервал между инъекциями 3-5 суток.

Клиническая эффективность терапии БЛ оценивалась по частоте обострений БА и объёму базисной лекарственной терапии через год после лечения. В течение 6 мес. проводили мониторинг аллергологических показателей, показателей IFN статуса, уровня белков IFN γ и IL4 в сыворотке крови, показателей функции внешнего дыхания (ФВД). Основными критериями эф-

фективности препарата являлись уменьшение количества обострений заболевания в течение 1 года после терапии БЛ, улучшение показателей IFN статуса.

Методы. 1) Клинико-лабораторные исследования: клинический анализ крови; исследование функции внешнего дыхания (спирография, индивидуальная пикфлоуметрия), флюорография или рентгенография органов грудной клетки по показаниям; 2) Аллергологическое обследование: сбор аллергологического анамнеза, определение уровней общего и специфических IgE. Определение уровня общего IgE и IgE-специфических антител к бытовым, пыльцевым аллергенам и аллергенам некоторых грибковых и условно-патогенных микроорганизмов проводили с помощью непрямого твёрдофазного метода иммуноферментного анализа (ИФА), разработанного в лаборатории аллергодиагностики НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН; 3) Иммунологические исследования. Методом ИФА в сыворотке крови определяли концентрации белков IFN γ и IL4 с помощью тест-систем «ProCon IFN- γ » и «ProCon IL-4» (ООО «Протеиновый контур», г. С-Петербург, Россия). Исследование проводили согласно прилагаемым инструкциям. Биологическую активность IFN α и IFN γ , продуцируемых лейкоцитами крови, предварительно индуцированных вирусом болезни Ньюкасла и фитогемагглютинином, соответственно, определяли с помощью метода «IFN статус» и оценивали в титрах биологической активности (ТБА) [8]; 4) Математическая обработка результатов исследования. При обработке данных использовали общепринятые методы вариационной статистики, определяя среднюю величину, стандартную ошибку средней. Различия считались достоверными, если уровень значимости не превышал 5% ($p < 0,05$). Статистическую обработку осуществляли, используя компьютерную программу «Statistica 6.0».

Результаты и обсуждение

У пациентов с БА в ремиссии до применения БЛ оценивали уровень IgE, концентрацию белков IFN γ и IL4 в сыворотке крови, биологическую активность IFN α и IFN γ , продуцируемых лейкоцитами крови. Следует отметить выявленную полисенсibilизацию у пациентов с БА и повышенный уровень общего IgE (в пределах 596 ± 195 кЕ/л) при физиологической норме до 100 кЕ/л. В группе вакцинированных пациентов и в группе сравнения на базисной терапии клинические показатели, данные общего анализа крови, иммунологические показатели исходно были сопоставимы, за исключением уров-

ня IL4, который изначально был выше ($p < 0,05$) в группе вакцинированных пациентов.

Биологическая активность интерферонов, продуцируемых лейкоцитами крови, в группе терапии БЛ составила: IFN α - $131,76 \pm 25,7$ ТБА, IFN γ - $15 \pm 3,5$ ТБА (рис. 1).

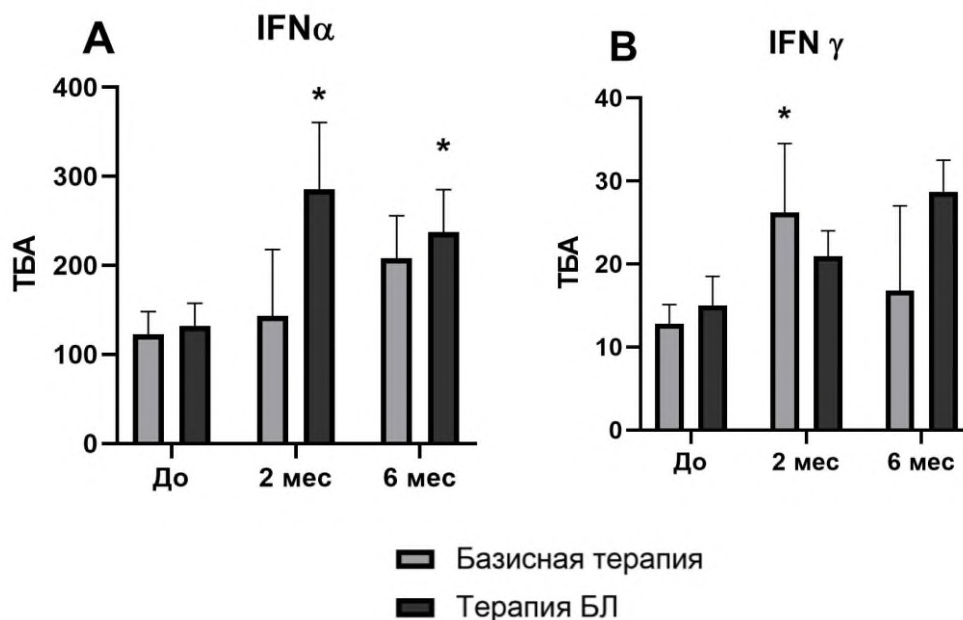


Рис. 1. Показатели активности IFN α (А) и IFN γ (В) лейкоцитами крови у вакцинированных пациентов и пациентов группы сравнения на базисной терапии. * $p < 0,05$ - статистически значимые различия показателей по сравнению с исходными данными внутри группы. *Примечание.* По оси абсцисс: до лечения, через 2 и 6 мес. после лечения; по оси ординат: значения активности IFN в ТБА.

После вакцинации отмечено повышение по сравнению с исходными данными биологической активности IFN α , продуцируемого лейкоцитами крови: через 2 месяца – со $131,8 \pm 25,7$ до $285,9 \pm 74,6$ ТБА ($p = 0,009$), через 6 мес. – до $237,6 \pm 47,7$ ТБА ($p = 0,027$) (рис.1). В группе сравнения активность IFN α , продуцируемого лейкоцитами крови, за время наблюдения статистически значимо не изменялась. В группе сравнения отмечено кратковременное повышение ($p < 0,05$) активности IFN γ лейкоцитами с $12,8 \pm 2,3$ до $26,2 \pm 8,3$ ТБА через 2 месяца терапии (рис. 1).

Методом ИФА определены концентрации белков IFN γ в сыворотке крови, которые были исходно сопоставимо повышены у пациентов обеих групп, при значительно повышенном IL4 – $92,6 \pm 39,7$ пг/мл ($p < 0,05$) в группе терапии БЛ (рис. 2).

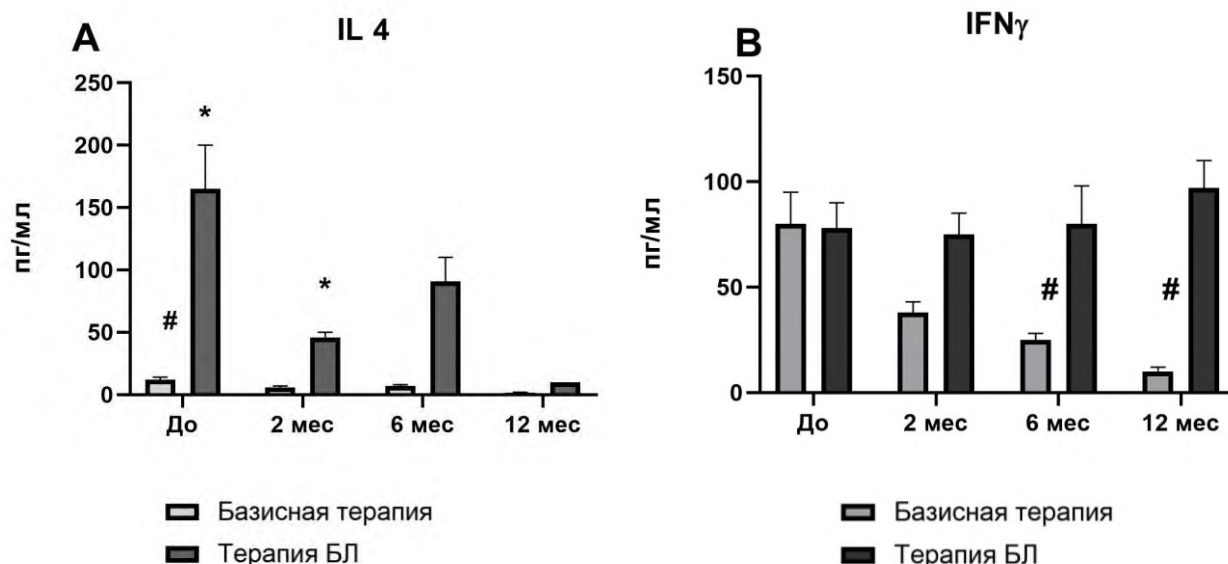


Рис. 2. Цитокины IL4 (А) и IFN γ (В) в сыворотке крови больных БА в ремиссии до и после лечения базисной терапией и терапией БЛ.

Примечание. По оси абсцисс: до лечения, через 2, 6 и 12 мес. после лечения; по оси ординат: значения концентрации белков в пг/мл; * $p < 0,05$ - статистически значимые различия показателей по сравнению с исходными данными внутри группы. # $p < 0,05$ - статистически значимые различия показателей по сравнению с данными между группами.

Через 2 мес. терапии БЛ определено снижение концентрации IL4 ($p < 0,05$). Через 6 мес. наблюдения концентрация IFN γ в сыворотке крови в группе вакцинированных пациентов составила $80,2 \pm 17,7$ пг/мл и была выше, чем у пациентов в группе сравнения ($p = 0,008$). Статистически значимых изменений общего IgE, IL4 за 6 мес. наблюдения как в группе вакцинированных пациентов, так и в контрольной группе, не выявлено (рис. 2). При сравнении степени сенсibilизации грибковыми и бактериальными аллергенами вакцинированных пациентов и пациентов группы сравнения исходно, через 2 и через 6 мес. наблюдения статистически значимых различий не отмечено.

Через 2 мес. у вакцинированных пациентов по сравнению с группой сравнения было отмечено статистически значимое снижение дневных приступов удушья с $1,8 \pm 0,6$ до $0,6 \pm 0,4$ в неделю ($p = 0,021$) и ночных приступов удушья с $0,3 \pm 0,1$ до $0,1 \pm 0,1$ в неделю ($p = 0,002$). После вакцинации у больных через 2 мес. по сравнению с их исходными данными отмечено снижение количества ОРВИ до $0,11 \pm 0,05$ /месяц у человека ($p = 0,002$) и обострений заболевания до $0,05 \pm 0,04$ /месяц у человека ($p = 0,002$). Через 6 мес. у вакцинированных пациентов отмечено снижение количества

ОРВИ по сравнению с исходными данными до $0,13 \pm 0,03$ /месяц у человека ($p = 0,002$) и обострений заболевания до $0,09 \pm 0,03$ /месяц у человека. В группе сравнения по сравнению с исходными данными отмечено снижение количества обострений через 2 мес. наблюдения до $0,1 \pm 0,05$ ($p = 0,03$) и их увеличение через 6 мес. наблюдения до $0,81 \pm 0,66$ ($p = 0,02$).

Через 1 год проводилось сравнение только клинических данных. В группе вакцинированных пациентов отмечено достоверное снижение ночных приступов удушья до $0,02 \pm 0,02$ в неделю по сравнению с исходными данными ($p = 0,016$). Через 1 год после вакцинации у пациентов зарегистрировано достоверное снижение количества ОРВИ до $0,14 \pm 0,02$ /месяц у человека по сравнению с исходными данными ($p = 0,001$) и по сравнению с данными пациентов группы сравнения ($p < 0,025$). Через 1 год после вакцинации ОРВИ отсутствовали или отмечались 1-2 ОРВИ/год у 14 (82,2%) пациентов, в то время как у больных в группе сравнения это наблюдалось только у 4 (26,6%) пациентов ($p=0,0018$). У лиц из группы сравнения 3-4 и более ОРВИ в год отмечено у 11 (73,3%) пациентов, что было статистически значимо выше, чем в группе вакцинированных пациентов. Также через 1 год после вакцинации у пациентов отмечено снижение количества обострений БА до $0,05 \pm 0,01$ /месяц у человека по сравнению с исходными данными ($p=0,0006$) и по сравнению с данными пациентов группы сравнения ($p<0,025$). Через год после вакцинации у 9 (52,9%) пациентов обострения БА отсутствовали, в то время как в контрольной группе это отметили только у 2 (13,3%) пациентов; различия были статистически значимыми ($p = 0,012$).

В целом, следует отметить, что в группе вакцинированных пациентов по сравнению с исходными данными имело место статистически значимое повышение биологической активности $IFN\alpha$, продуцируемого лейкоцитами крови, отмечаемое в течение всего периода наблюдения. В группе сравнения за время наблюдения выявлено кратковременное повышение активности $IFN\gamma$ лейкоцитами крови. Через 6 мес. наблюдения концентрация $IFN\gamma$ в сыворотке крови была выше у вакцинированных пациентов ($p<0,05$), чем в группе сравнения. Таким образом, у вакцинированных больных наблюдалось возрастание эффекторного потенциала клеток врождённого иммунитета, что проявилось увеличением продукции и активности интерферонов. Через 2 мес. у вакцинированных пациентов по сравнению с больными из группы сравнения отмечено снижение количества дневных и ночных приступов

удушья ($p < 0,05$). Снижение заболеваемости ОРВИ и частоты обострений в течение года у вакцинированных пациентов было большим, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). В течение 1 года после вакцинации у 9 (52,9%) пациентов отсутствовали обострения БА.

Заключение

Таким образом, включение в комплексную терапию больных бронхиальной астмой средней и тяжелой степени тяжести бактериальных лигандов способствует повышению клинической эффективности базисной терапии, оказывает корригирующее воздействие на функциональную активность системы IFN и противовирусный потенциал организма, снижая частоту ОРВИ и обострений заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ritchie AI, Jackson DJ, Edwards MR, Johnston SL. _____ Airway Epithelial Orchestration of Innate Immune Function in Response to Virus Infection. A Focus on Asthma. *Ann Am Thorac Soc*. 2016. 13 (1) 55-63. doi: 10.1513/AnnalsATS.201507-421MG.
2. Авдеев С.Н., Ненашева Н.М., Жуденков К.В., Петраковская В.А., Изюмова Г.В. Распространенность, заболеваемость, фенотипы и другие характеристики тяжелой бронхиальной астмы в Российской Федерации. *Пульмонология*. 2018. 28(3): 341-358. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-3-341-358>.
3. Tabyshova A., Emilov B, Postma MJ, Chavannes NH, Sooronbaev T, van Boven JFM. Prevalence and Economic Burden of Respiratory Diseases in Central Asia and Russia: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2020. 17(20): 7483. doi: 10.3390/ijerph17207483.
4. Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol.Immunol*. 2004. 40: 845-859.
5. Maarifi G, Smith N, Nisole S. Interferon response: with great power comes great responsibility. *Med Sci (Paris)*. 2020. 36(3): 206-209. doi: 10.1051/medsci/2020032.
6. Le Souëf P. Viral infections in wheezing disorders. *Eur Respir Rev*. 2018. 27 (147). pii: 170133. doi: 10.1183/16000617.0133-2017.
7. <https://ginasthma.org>
8. Оспельникова Т.П., Левицкая Д.С., Колодяжная Л.В., Шитова А.Д., Осипцов В.Н., Арифиллина Л.Р., Крюкова Н.О., Пахомов Д.В., Хромова Е.А., Баранова И.А., Чучалин А.Г., Костинов М.П., Свитич О.А. Биологическая активность интерферонов при новой коронавирусной инфекции COVID-19. *Вопросы вирусологии*. 2022. 67(2): 142-152. Doi: 10.36233/0507-4088-99

Поступила 01.09.2023 г.

(Контактная информация: Оспельникова Татьяна Петровна – кандидат медицинских наук, зав. лабораторией интерферонов ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова; адрес: 105064 г. Москва, Малый Казённый пер, 5А; тел.: 8 (903) 521-32-60; E-mail: ospelnikovat@mail.ru)

REFERENCES

1. Ritchie AI, Jackson DJ, Edwards MR, Johnston SL. _____ Air-

- way Epithelial Orchestration of Innate Immune Function in Response to Virus Infection. A Focus on Asthma. *Ann Am Thorac Soc.* 2016. 13 (1) 55-63. doi: 10.1513/AnnalsATS.201507-421MG.
2. Avdeev S.N., Nenasheva N.M., Zhudenkov K.V., Petrakovskaya V.A., Izyumova G.V. Rasprostranennost', zaboлеваemost', fenotipy i drugie harakteristiki tyazheloj bronhial'noj astmy v Rossijskoj Federacii. *Pulmonology.* 2018. 28(3): 341-358. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-3-341-358>.
 3. Tabyshova A., Emilov B, Postma MJ, Chavannes NH, Sooronbaev T, van Boven JFM. Prevalence and Economic Burden of Respiratory Diseases in Central Asia and Russia: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2020. 17(20): 74-83. doi: 10.3390/ijerph17207483.
 4. Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol.Immunol.* 2004. 40: 845-859.
 5. Maarifi G, Smith N, Nisole S. Interferon response: with great power comes great responsibility. *Med Sci (Paris).* 2020. 36(3): 206-209. doi: 10.1051/medsci/2020032.
 6. Le Souëf P. Viral infections in wheezing disorders. *Eur Respir Rev.* 2018. 27 (147). 170133. doi: 10.1183/16000617.0133-2017.
 7. <https://ginasthma.org>
 8. Ospelnikova T.P., Levitskaya D.S., Kolodyazhnaya L.V., Shitova A.D., Osiptsov V.N., Arifullina L.R., Kryukova N.O., Pakhomov D.V., Khromova E.A., Baranova I.A., Chuchalin A.G., Kostinov M.P., Svitich O.A. Biologicheskaya aktivnost' interferonov pri novoj koronavirusnoj infekcii COVID-19. *Issues of virology.* 2022. 67(2): 142-152. Doi: 10.36233/0507-4088-99 .

Образец ссылки на статью:

Оспельникова Т.П., Осипова Г.Л., Зарембо Н.В., Колодяжная Л.В., Свитич О.А., Ершов Ф.И. Интерферониндуцирующее действие бактериальных лигандов при бронхиальной астме. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН.* 2023. 3: 9 с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2023-3/Articles/TPO-2023-3.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2023-13002