

ПОИСК БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРЕДИКЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ СПОНТАННОЙ КРАПИВНИЦЫ



СОРОКИНА Е. В.,

д.м.н., доцент, заведующая

лабораторией механизмов регуляции иммунитета, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии Академии постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», sorokina-cathrine@yandex.ru



ГОЛОВИНОВ А. И.,

заведующий кожно-венерологическим отделением филиала № 8 ФГБУ «Главный

военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Минобороны России, подполковник мед. службы запаса, golovinov78@mail.ru



СТОЛПНИКОВА В. Н.,

к.б.н., ведущий научный со-

трудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», stoipnikova@yandex.ru



СВИТИЧ О. А.,

член-корреспондент РАН,

д.м.н., профессор РАН, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А.А. Воробьева ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), svitchoa@yandex.ru

Длительное и упорное течение хронической спонтанной крапивницы (ХСК), наряду с низкой эффективностью диагностических и лечебных мероприятий, обуславливает социальную значимость исследований, проводимых в направлении уточнения патофизиологических механизмов ХСК, что потенциально позволит выявить новые терапевтические мишени. В патогенезе многих иммунопатологических заболеваний неоспорима роль Toll-подобных рецепторов (TLRs), относящихся к сигнальным PRRs и являющихся важным компонентом врожденной иммунной системы.

Ключевые слова: хроническая спонтанная крапивница, биомаркеры, Toll-подобные рецепторы, врожденный иммунитет.

SEARCH FOR BIOMARKERS FOR DIAGNOSTICS AND PREDICTION OF CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA

Sorokina E., Golovinov A., Stolpnikova V., Svitch O.

Long and persistent course of chronic spontaneous urticaria (CSU) as well as low efficiency of diagnostics and treatment increase social importance of further studies of the pathophysiological mechanisms of CSU which could help to find new therapeutic targets. The Toll-like receptors (TLRs) which belong to the signaling PRRs and are an important element of the innate immune system, have an undeniable role in pathogenesis of many immunopathological diseases.

Key words: chronic spontaneous urticaria, biomarkers, Toll-like receptors, innate immunity.

Введение

В терапии торпидных и тяжелых форм ХСК, не поддающихся традиционному лечению, клиницисты сталкиваются с ограничениями терапевтических возможностей, связанными в том числе с дорогостоящими методами терапии [1]. Более глубокое изучение патофизиологических механиз-

мов ХСК потенциально позволит выявить новые терапевтические мишени. В последние годы было признано, что тучные клетки и их активация с последующей чрезмерной дегрануляцией представляют собой ключевые патофизиологические явления при ХСК. Однако механизмы, запускающие патологические процессы и события, остаются предметом интенсивных дискуссий и противоречивых исследований. Одними из патогенетических механизмов при ХСК являются реакция, опосредованная высокоафинным рецептором IgE (FcεR1), экспрессируемым на тучных клетках, а также аутоиммунный генез, связанный с дисбалансом цитокиново-хемокиновой сети, возникающий в результате изменения врожденного иммунного ответа. Вполне вероятно, что эти различные патологические механизмы более взаимосвязаны и действуют синергически, вызывая развитие заболевания [2]. Открытие новых звеньев и понимание патогенетических механизмов является предпосылкой для разработки безопасных и эффективных иммуномодуляторов и целенаправленного биологического лечения тяжелых, рефрактерных форм ХСК.

Многочисленные экспериментальные исследования, а также накапливающиеся результаты из клинической практики убедительно свидетельствуют о ключевой роли в патогенезе иммунопатологических заболеваний Toll-подобных рецепторов (TLRs), относящихся к сигнальным PRRs и являющихся важным компонентом врожденной иммунной системы. TLRs – это семейство рецепторов, которые в ответ на инфекцию обеспечивают передачу сигналов, необходимых для активации адаптерного белка MyD88 и транскрипционных факторов (NF κB), запускающих транскрипцию генов ключевых эффекторов врожденного иммунитета. Эти сигнальные пути осуществляют первичное распознавание патогена – важное для управления процессом развития неспецифической резистентности и адаптивного иммунитета. Индукция сигналов через TLRs обеспе-

чивает активацию различных эффекторов врожденного иммунитета. Нарушение функции проводимости данных сигналов приводит к развитию целого ряда патологических процессов в организме. Изучению эффекторов врожденного иммунитета при хронической крапивнице посвящены единичные работы [3, 4, 5].

Цель исследования

Изучение особенностей экспрессии TLRs при ХСК.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 182 больных ХСК в возрасте от 16 до 65 лет. Также в исследование были включены 15 здоровых доноров, которые составили группу здоровых лиц для контроля. Экспрессию TLRs на мононуклеарных лейкоцитах периферической крови (МЛПК) изучали с помощью МАТ к TLR2, TLR3, TLR4, TLR9 (Caltag Laboratories, США) на проточном цитометре FC-500 (Beckman Culter, США).

Результаты

У обследованных больных ХСК в целом по группе исходно наблюдался высокий уровень Toll-подобных рецепторов TLR2,3,4,9 на МЛПК, превышающий значения в группе здоровых лиц в 2–3,5 раза (p<0,05) (табл. 1). Наиболее высокие уровни экспрессии отмечены в отношении TLR2. Установлено, что TLR2 играет ключевую роль в реагировании на продукты грамположительных бактерий, микобактерий и дрожжей. TLR4 участвует в распознавании ЛПС. Димеризуясь с TLR1, TLR2 распознает триацилированные липопротенины. Поэтому в исследуемой группе больных ХСК выявленная гиперэкспрессия TLR2,4 МЛПК отражает распознавание PAMPs грамположительных и граммотрицательных бактерий, а также дрожжеподобных грибов и может являться маркером активности инфекционного процесса.

Широкий спектр распознаваемых паттернов TLR2 (пептидогликанов, липопр-

Таблица 1

Уровни экспрессии TLRs на МЛПК у больных ХСК

Группы	n	Количество клеток с экспрессией, %, (M±σ); (Me) (LQ-UQ)			
		TLR2	TLR4	TLR3	TLR9
ХСК	182	16,1±2,3* 16,1 (12,6–19)	9,6±1,2* 9,6 (8,9–10)	25,4±8,8* 25 (22–36,5)	20,6±5,2* 20 (18–22,5)
Группа здоровых лиц	15	4,8±0,6 4,8 (4,4–5,2)*	4,2±0,3* 4,2 (3,8–4,5)	15,4±3,4* 15,7 (14,2–6,2)	11,2±1,3* 11,2 (10,9–11,6)

Примечания: * – достоверность различий между группами больных и здоровых лиц (p<0,05) по тесту Манна-Уитни; n – число больных; M – среднее арифметическое; Me – медиана; σ – стандартное отклонение; LQ-UQ – 25–75 перцентили; ** – достоверность различий между группами (p<0,01).

теинов и липотейхоевых кислот клеточной стенки) связан с возможностью образования данными рецепторами гетеродимеров с другими TLR. TLR2 образуют димеры с TLR6 и участвуют в распознавании пептидогликанов и диацелированных липопептидов грамположительных бактерий и микоплазм.

Повышение экспрессии TLR3,9 происходит под влиянием вирусных лигандов (антигены, ДНК, РНК), что и происходит у больных ХСК, у которых были выявлены клинические и лабораторные признаки активности вирусов [6, 7]. TLR9 (3p21.3) локализуется внутриклеточно, на эндоплазматическом ретикулуме, с последующим перемещением после стимуляции в эндосомы. TLR9 вовлечен в распознавание неметилированных CpG-мотивов бактериальной ДНК, что было доказано в экспериментах на мышах и клеточных линиях, дефектных по TLR9. У них отменялись все CpG-индуцируемые эффекты (продукция цитокинов, костимулирующих молекул, пролиферация лимфоцитов).

С целью выявления динамики экспрессии TLRs в процессе развития заболевания больные ХСК были ранжированы на группы по длительности течения. У больных с длительностью ХСК от 2 до 6 мес. выявлено снижение экспрессии TLR2 и TLR4 (3,7±0,9 и 1,8±0,1)% ниже значений в группе здоровых лиц (4,8±0,6 и 4,2±0,3)% соответственно. При дальнейшем развитии ХСК происходит нарастание уровней экспрессии этих рецепторов. У длительно болеющих TLR2 и TLR4 имеются большие показатели (28,7±4,9 и 17,3±3,4)%, превышающие показатели в группе здоровых лиц в 6 и 4 раза соответственно, что может указывать на нарастание уровней экспрессии этих рецепторов в динамике развития крапивницы. Длительность заболевания не влияла на экспрессию TLR3 и TLR9 (табл. 2).

С целью выявления различий в экспрессии TLRs в зависимости от характера сопутствующей инфекции эти параметры были проанализированы в четырех подгруппах. В обследованной группе у большинства больных ХСК выявлены признаки бактериальной и вирусной патологий. В первую подгруппу вошли 40,66%/74 больных с бактериальной инфекцией, во вторую подгруппу включены 21,43%/39 пациентов с вирусными инфекциями, в третью подгруппу включили 23,08%/42 чел. с сочетанной бактериально-вирусной инфекцией, четвертую группу составили 14,83%/27 больных без клинических и лабораторных признаков инфекций (табл. 3 на с. 65).

Показано, что у большинства больных с сопутствующей бактериальной инфекцией наблюдаются высокие уровни экспрессии TLR2, превышающие нормальные значения в группе здоровых лиц в 5 раз, в то время как отмечалось более значительное повышение экспрессии TLR2 при бактериальной патологии, по сравнению с вирусной, соответственно. Уровни экспрессии TLR4 также выше нормальных значений в 4 раза. Уровни экспрессии TLR3 и 9 превышают норму в 2 раза.

У больных ХСК при наличии сопутствующих рецидивирующих вирусных инфекций наблюдались повышенные, по сравнению с группой здоровых лиц, уровни экспрессии TLR2 и TLR4, превышающие нормальные значения в 3 раза, экспрессия TLR3, TLR9 была повышена в 2–3 раза и отличалась от этих значений при наличии бактериальной патологии.

При наличии сопутствующей смешанной вирусно-бактериальной патологии отмечалось снижение экспрессии TLR4, которое все же превышало показатели в группе здоровых лиц только в 2 раза. Однако у этих больных экспрессия TLR2 была сравнима с таковой при вирусной патоло-

Таблица 2

Особенности экспрессии TLRs у больных ХСК в зависимости от длительности заболевания

Больные ХСК		Количество клеток с экспрессией, %					Достоверность различий между группами (p<0,05)
Группы	n	TLR2	TLR4	TLR3	TLR9		
1.	Длительность ≤6 мес.	42	3,7±0,9	1,8±0,1	21,5±6,7	21,8±7,4	TLR2 (1 и 2), TLR4 (1 и 2, 3), TLR3, TLR9 (1 и 3)
2.	Длительность >6 мес.	140	28,7±4,9	17,3±3,4	30,1±6,9	30,4±11,2	TLR2 (2 и 1, 3), TLR4 (2 и 1, 3), TLR3, TLR9 (2 и 3)
3.	Группа здоровых лиц	15	4,8±0,6	4,2±0,3	15,4±3,4	11,2±1,3	TLR2, TLR4 (3 и 2), TLR3, TLR9 (3 и 1, 2)

Примечания: * – достоверность различий между группами (p<0,05); ** – достоверность различий между группами (p<0,01).

Таблица 3

Различия в экспрессии TLRs на МЛПК у больных ХСК в зависимости от характера сопутствующей патологии

Больные ХСК			Количество клеток с экспрессией, %				Достоверность различий между группами (p<0,05)
Группы	Сопутствующая патология	n	TLR2	TLR4	TLR3	TLR9	
1.	Бактериальные инфекции	74	26,7±4,1**	16,8±2,8*	31,3±5,2***	28,8±3,7*	TLR2 (1 и 2, 4, 5), TLR4, 3, 9 (1 и 3, 4, 5)
2.	Вирусные инфекции	39	11,1±2,2**	10,5±3,8*	45,8±4,6***	27,8±6,6*	TLR2 (2 и 1, 5), TLR4 (2 и 5), TLR3 (2 и 3, 4), TLR9 (2 и 3, 5)
3.	Вирусные и бактериальные инфекции	42	19,7±7,1*	8,4±2,5*	4,1±0,1***	6,8±2,9*	TLR2 (3 и 4, 5), TLR4 (3 и 1), TLR3 (3 и 1, 2, 4, 5), TLR9 (3 и 1, 2, 4)
4.	Отсутствие инфекционной патологии	27	8,2±1,6**	5,2±1,4*	19,2±1,4	16,7±3,6	TLR2 (4 и 1, 3), TLR4 (4 и 1), TLR3,9 (4 и 1, 2, 3)
5.	Группа здоровых лиц	15	4,8±0,6**	4,2±0,3*	15,4±3,4*	11,2±1,3*	TLR2,3 (5 и 1-3), TLR4 (5 и 1, 2), TLR9 (5 и 1, 2)

Примечания: * – достоверность различий между группами (p<0,05); ** – достоверность различий между группами (p<0,01); *** – достоверность различий между группами (p<0,0001).

гии. У больных этой подгруппы выявлены сниженные в 14 раз, по сравнению с здоровыми, уровни экспрессии TLR3. В группе больных без проявлений инфекционной патологии уровни экспрессии TLR2,4,3,9 не отличались от значений в группе здоровых лиц.

Заключение

Таким образом, в группе исследованных больных ХСК выявлены определенные особенности экспрессии Toll-подобных рецепторов. Гиперэкспрессия TLR2,4,3,9 у больных ХСК может являться маркером активности инфекционного процесса, вызванного как грамотрицательными бактериями, так и метаболитическими продуктами эндогенного происхождения. Выявление у

больных ХСК клинических и лабораторных признаков активности вирусов сопровождалось повышением экспрессии TLR3,9.

Иммунологическая характеристика ХСК сложна, имеет множество потенциальных участников и возможных точек исследования. Конечно, многие аспекты остаются не до конца понятными и требуют дальнейших исследований, но изучение каждого звена иммунопатологического механизма может проложить путь к возможным терапевтическим целям. На каждый вопрос в изучении патогенеза ХСК с течением времени требуется найти ответ, и одним из таких важных вопросов является поиск биомаркеров, являющихся оптимальными как для диагностики, так и для мониторинга различных методов лечения при ХСК.

Литература

1. Amelia Licari, Sara Manti, Salvatore Leonardi, Domenico Minasi, Carlo Caffarelli, Fabio Cardinale, Michele Miraglia Del Giudice, Amelia Calvani, Giorgio Ciprandi, Marseglia Gian Luigi. *Biologic drugs in chronic spontaneous urticarial* // Acta Biomed. – 2021; 92 (Suppl 7): e2021527.
2. Carmen-Teodora Dobrican, Ioana Adriana Muntean, Irena Pintea, Carina Petricău, Diana-Mihaela Deleanu, Gabriela Adriana Filip. *Immunological signature of chronic spontaneous urticaria (Review)* // Exp Ther Med. – 2022 Jun; 23(6): 381.
3. Futata E., Azor M., Dos Santos J. et al. *Impaired IFN-α secretion by plasmacytoid dendritic cells induced by TLR9 activation in chronic idiopathic urticarial* // Br J Dermatol. – 2011. – Vol. 164. – № 6. – P. 1271–1279.
4. Сорокина Е.В., Сивакова Н.Г., Ахматова Э.А., Митрофанова Н.Н., Сходова С.А., Ахматова Н.К. *Применение поливалентного бактериального лизата в комплексной терапии хронической крапивницы* // Журн. микробиол. – 2019, № 5, С. 34–39.
5. Сорокина Е.В., Егорова Н.Б., Масюкова С.А., Ахматова Н.К. *Микробные антигены в терапии дерматозов*. – 2018. – 304 с.
6. Сорокина Е.В., Ахматова Н.К., Головинов А.И. *Особенности экспрессии TLRs у больных хронической идиопатической крапивницей в ходе иммунотерапии* // Российский иммунологический журнал. – 2014, том 8(17). – № 2. – С. 203–210.
7. Сорокина Е.В., Сивакова Н.Г., Ахматова Н.К., Сходова С.А. *Эффекторы врожденного иммунитета при хронической спонтанной крапивнице* // Клиническая дерматология и венерология. – 2020; 19(3): 337–342.