

УДК 616-002.2

**И.А. Лопатина,**

аспирант кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

**С.В. Моисеев,**

д-р мед. наук, профессор кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

**П.И. Новиков,**

канд. мед. наук, заведующий отделением ревматологии Клиники нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

**Л.И. Руссу,**

научный сотрудник лаборатории культур тканей ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

**Е.И. Исаева,**

канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

**М.В. Мезенцева,**

д-р биол. наук, заведующая лабораторией культур тканей ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России

**I.A. Lopatina,**

Postgraduate student, the Department of Internal, Occupational Diseases and Pulmonology, Sechenov University

**S.V. Moiseev,**

Doctor of Medical Science, Professor, the Department of Internal, Occupational Diseases and Pulmonology, Sechenov University

**P.I. Novikov,**

Candidate of Medical Science, the Head of Rheumatology Department, Tareev Clinic of Nephrology, Internal and Occupational Diseases, Sechenov University

**L.I. Russu,**

Researcher, the Tissue Culture Laboratory, Ivanovsky Institute of Virology, Gamaleya Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology

**E.I. Isaeva,**

Candidate of Medical Science, Leading Researcher, the Immunology Laboratory, Ivanovsky Institute of Virology, Gamaleya Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology

**M.V. Mezentseva,**

Doctor of Biological Sciences, Head of the Tissue Culture Laboratory, Ivanovsky Institute of Virology, Gamaleya Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology

## **КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ КЛИНИЧЕСКИМИ ДАННЫМИ И ДАННЫМИ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ ГРАНУЛЕМАТОЗОМ С ПОЛИАНГИИТОМ (ВЕГЕНЕРА) CORRELATION BETWEEN CLINICAL DATA AND CYTOKINES PARAMETERS IN PATIENTS WITH GRANULOMATOSIS WITH POILYANGIITIS (WEGENER GRANULOMATOSIS)**

### **КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:**

Лопатина Ирина Александровна, аспирант кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)  
Адрес: 119021, г. Москва, ул. Россолимо, д. 11, стр. 5  
Тел.: +7 (962) 932-52-77  
e-mail: ira.lopatina@mail.ru  
Статья поступила в редакцию: 10.05.2017  
Статья принята к печати: 30.06.2017

### **CONTACT INFORMATION:**

Irina Lopatina, Postgraduate student, the Department of Internal, Occupational Diseases and Pulmonology, Sechenov University  
Address: 11/5, Rossolimo str., Moscow, 119021, Russia  
Tel.: +7 (962) 932-52-77  
e-mail: ira.lopatina@mail.ru  
The article received: May 10, 2017  
The article approved for publication: June 30, 2017

**Аннотация.** *Цель исследования.* Изучить корреляционные взаимосвязи между изменением синтеза цитокинов и поражением различных органов и тканей у больных ГПА. *Материалы и методы.* Клинически обследовано 60 больных с диагнозом ГПА, установленным в соответствии с классификационными критериями АСР и определением конференции в Чапел-Хилле в 2012 г. Экспрессию мРНК 11 цитокинов: интерферонов (ИФН)- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , интерлейкинов (ИЛ)-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-18, фактора некроза опухоли (ФНО)- $\alpha$  в мононуклеарах периферической крови (МПК) определяли методом ОТ-ПЦР у 57 больных ГПА. У 40 больных определяли содержание ИФН- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ИЛ-18, ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови методом ИФА. *Результаты.* Критерии васкулита установлены у 23 (38,3%) больных ГПА, критерии гранулематозного воспаления – у 45 (75,0%) пациентов. У 57 (95,0%) пациентов выявлено поражение носа и придаточных пазух носа, у 29 (48,3%) – органа слуха, у 33 (55,0%) – поражение органа зрения. Поражение легких определялось у 35 (58,3%) обследованных больных, поражение почек – у 28 (46,7%) человек. Полные прямые корреляционные взаимосвязи выявлены между поражением органа зрения и экспрессией мРНК ИЛ-4, ИЛ-12 в МПК ( $r=1,00$ ). Обратное полное корреляционное взаимодействие установлено между поражением органа слуха и экспрессией мРНК ИЛ-12; между наличием снижения скорости клубочковой фильтрации более чем на 50% и сывороточным уровнем ИФН- $\alpha$  ( $r=-1,00$ ). *Заключение.* Цитокины могут регулировать определенный тип иммунного ответа при поражении различных органов у больных ГПА. При наличии признаков гранулематозного воспаления выявляется корреляционная зависимость с цитокинами, указывающими на подавление Th2-типа типа иммунного ответа, и преобладание Th1-типа иммунного ответа у больных ГПА. Исследование корреляционных взаимосвязей при наличии признаков васкулита продемонстрировало, что ИФН- $\alpha$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 принимают участие в повреждении стенки сосудов у больных ГПА.

**Abstract.** *Study Objective.* To evaluate the correlation between cytokine synthesis and organ involvement in patients with granulomatosis with polyangiitis (GPA). *Methods.* The study involved 60 patients with GPA diagnosed following the ACR criteria and the CHCC-2012 definition. Cytokines genes expression was studied in blood samples from 57 patients with reverse transcription polymerase chain reaction. We evaluated mRNA for the following cytokines: interferon (IFN)- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  production. Also, we investigated the serum concentration of IFN- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 IL-18 and TNF- $\alpha$  by ELISA in 40 patients with GPA. *Results.* Markers for granulomatous disease were detected in 45 (75,0%) GPA patients, markers for vasculitis – in 23 (38,3%) patients. GPA affected eyes in 33 patients (55,0%), ears in 29 (48,3%), nose and sinuses in 57 (95,0%), lungs in 35 (58,3%) and kidneys in 28 (46,7%). There was total positive correlation between eye disease and IL4 and IL12 genes expression ( $r=1,00$ ). Total negative correlations were between ear disease and IL-12 gene expression; glomerular filtration rate reduction more than 50% and serum IFN- $\alpha$  ( $r=-1,00$ ). *Conclusion.* Cytokines may upregulate the direct immune response in organ damage in GPA patients. Markers for granulomatous disease correlated with cytokines, that suppressed Th2 type immune response and promoted Th1 type immune response. Correlation between vasculitis markers and cytokines showed that IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 participated in vascular damage in GPA patients.

**Ключевые слова.** Гранулематоз с полиангиитом, Вегенер, цитокины, корреляция.

**Keywords.** Granulomatosis with polyangiitis, Wegener, cytokine, correlation.

## ВВЕДЕНИЕ

Гранулематоз с полиангиитом (Вегенера) представляет собой некротизирующее гранулематозное воспаление, обычно с поражением верхних и нижних дыхательных путей, и некротизирующий васкулит, с поражением мелких и средних сосудов [1].

Клиническими эквивалентами гранулематозного воспаления являются: стойкие (более 1 месяца) инфильтраты и узлы в легких с участками деструкции и образованием полостей, стенозирующий эндобронхит; подскладочная гранулема гортани и трахеи, язвенно-некротический ринит с формированием перфорации носовой перегородки, деструктивный синусит или пансинусит с полиповидным утолщением слизистой оболочки придаточных пазух носа, длительно текущий мастоидит (длительностью не менее 3 месяцев), псевдотумор орбиты.

В свою очередь, с развитием некротизирующего васкулита связывают кожные геморрагические или язвенно-геморрагические высыпания, эписклерит, множественный мононеврит, гломерулонефрит, протека-

ющий с гематурией, чаще в сочетании с умеренной протеинурией и нередко с нарушением азотовыделительной функции почек, вплоть до развития быстро прогрессирующего гломерулонефрита (БПГН) [2].

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Гранулематоз с полиангиитом (ГПА) остается одним из самых тяжелых и прогностически неблагоприятных системных васкулитов [3]. Патогенез ГПА включает в себя различные механизмы, ведущие к адгезии лейкоцитов к эндотелиальным клеткам, пенетрации сосудистой стенки и высвобождению цитокинов и хемокинов.

## ОБОСНОВАНИЕ

Исследование участия цитокинов в развитии иммунопатологического процесса у больных гранулематозом с полиангиитом представляет особый интерес в связи с возможностью применения биологических препаратов у данной группы больных [4].

**Цель исследования** – изучить корреляционные взаимосвязи между изменением синтеза цитокинов и поражением различных органов и тканей у больных ГПА.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 60 пациентов с подтвержденным диагнозом гранулематоза с полиангиитом (Вегенера), которые наблюдались в клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней имени Е.М. Тареева. Диагноз ставился на основании уточненных критериев, принятых в 2012 г. в Чапел-Хилл. Для оценки органных поражений у больных ГПА применялась шкала VDI.

У 57 из 60 больных после забора крови было выполнено исследование профиля экспрессии мРНК следующих цитокинов: ИФН- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО- $\alpha$ . Экспрессия мРНК указанных цитокинов также проводилась у 40 здоровых добровольцев.

Определение активности мРНК 11 цитокинов в мононуклеарах периферической крови (МПК) проводили с использованием методов обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Выделение РНК проводили по методике Р. Chomczynsky, N. Sacchi, методом кислой гуанидин тиоцианат-фенол-хлороформ экстракции. Обратная транскрипция и ПЦР-амплификация были выполнены в соответствии с методикой, предложенной Gelder. В качестве положительного контроля использовали  $\beta$ -актин. Регистрацию результатов ПЦР осуществляли электрофоретически в 1%-ном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. Для идентификации нуклеотидных последовательностей использовали маркер для электрофореза фирмы Promega (G 1758) [5].

У 40 из 60 больных ГПА проводилось исследование содержания 5 цитокинов (ИФН- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ИЛ-18 и ФНО- $\alpha$ ) в сыворотке крови с использованием метода иммуноферментного анализа (ИФА). Количественное определение цитокинов проводилось с использованием тест-систем ООО «Вектор-Бест Европа» (Москва, согласно производственному протоколу).

## СТАТИСТИКА

Статистический анализ проводили с использованием статистической программы Statistica версии 10.0. Оценку значимости различий в группах проводили с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни. Исследование корреляционной связи проводили с использованием непараметрического метода статистического анализа – гамма-корреляции. Результат считался статистически значимым при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование были включены 60 больных, в том числе 21 мужчина и 39 женщин в возрасте от 18 до 80 лет (медиана – 50,5 лет) с диагнозом ГПА. Гистологически диагноз подтвержден у 40 (66,7%) из 60 обследованных больных. Индекс VDI составил  $11,35 \pm 5,06$ . У 57 пациентов было выявлено поражение носа и придаточных пазух носа (ППН), у 29 диагностировано поражение органа слуха, у 33 – поражение органа зрения. Поражение легких определялось у 35 обследованных больных, поражение почек – у 28 человек, при этом у 25 пациентов скорость клубочковой фильтрации была снижена более чем на 50%. Из 28 больных с поражением почек у 23 из них была выявлена протеинурия, при этом протеинурия более 0,5 г/сут определялась у 10 пациентов, гематурия – у 14. Биопсия почки обследованным больным не проводилась. У всех пациентов определялось наличие клинических эквивалентов васкулита и гранулематозного воспаления. Признаки васкулита были выявлены у 23 пациентов, признаки гранулематозного воспаления – у 45 больных.

Экспрессию мРНК цитокинов в мононуклеарных клетках периферической крови определяли методом ОТ-ПЦР у 57 больных ГПА и 40 здоровых доноров. У больных ГПА выявили статистически значимую ( $p < 0,05$ ) активацию синтеза мРНК ИФН- $\alpha$ , ИЛ-8 и подавление синтеза на уровне транскрипции ИЛ-12 и ФНО- $\alpha$ . Частота выявления мРНК цитокинов у больных ГПА и здоровых добровольцев представлена в таблице 1.

Проводилось исследование корреляционной зависимости экспрессии мРНК ИФН- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ ,

Таблица 1

Частота выявления мРНК цитокинов у больных ГПА ( $n=57$ ) и здоровых добровольцев ( $n=40$ )

	ИФН- $\alpha$	ИФН- $\gamma$	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-8	ИЛ-10	ИЛ-12	ИЛ-18	ФНО- $\alpha$
Больные ГПА, $N$ (%)	23 (40,4)*	10 (17,5)	27 (47,4)	8 (14,0)	3 (5,3)	17 (29,8)	25 (43,9)*	14 (24,6)	3 (5,3)*	30 (52,6)	17 (29,8)*
Здоровые добровольцы, $N$ (%)	1 (2,5)	12 (30,0)	14 (35,0)	0	0	8 (20,0)	4 (10,0)	8 (20,0)	28 (70,0)	12 (30,0)	30 (75,0)

Примечание: \*  $p < 0,05$  (критерии Манна – Уитни).

Таблица 2

Коэффициенты корреляции ( $R$ ) между клинико-лабораторными данными с одной стороны и уровнем экспрессии мРНК цитокинов в МПК и содержанием цитокинов в сыворотке с другой стороны у больных ГПА

	Клинико-лабораторные проявления у больных ГПА, $n$ (%)							Скорость клубочковой фильтрации менее 50 25 (41,7)
	Клинические признаки васкулита 23 (38,3)	Клинические признаки гранулематозного воспаления 45 (75,0)	Поражение носа и придаточных пазух носа 57 (95,0)	Поражение органа слуха 29 (48,3)	Поражение глаз 33 (55,0)	Поражение легких 35 (58,3)	Поражение почки 28 (46,7)	
Транскрипция цитокинов								
ИФН- $\alpha$	0,17	0,01	0,16	-0,33	-0,08	0,30	-0,36*	0,33
ИФН- $\gamma$	0,28	-0,37	1,00	0,02	0,38	0,57*	0,11	0,41
ИЛ-1 $\beta$	0,23	0,02	-0,40	0,24	0,05	0,12	0,10	-0,33
ИЛ-2	0,27	0,04	-0,54	0,31	-0,10	0,45	0,38	0,45
ИЛ-4	0,55	-0,73*	-0,86*	-0,33	1,00*	0,23	0,43	0,49
ИЛ-6	0,40*	-0,11	-0,09	0,11	0,13	0,41*	0,36	0,12
ИЛ-8	0,20	-0,08	0,23	-0,32	0,20	-0,01	-0,20	0,35
ИЛ-10	-0,08	-0,48*	1,00	0,39	-0,30	-0,16	-0,07	-0,18
ИЛ-12	-0,12	-0,17	-0,86*	-1,00*	1,00*	-0,46	-0,27	0,49
ИЛ-18	0,35	0,63*	0,40	0,17	-0,19	0,16	0,05	0,33
ФНО- $\alpha$	0,25	-0,31	1,00	-0,06	-0,04	0,41*	0,04	0,45*
Продукция цитокинов								
ИФН- $\alpha$	0,67*	1,00	-0,68*	-0,05	0,13	0,11	0,10	-1,00*
ИЛ-1 $\beta$	0,33*	0,02	-0,11	-0,07	0,05	-0,01	0,05	-0,01
ИЛ-8	0,23	-0,11	0,01	-0,14	0,19	0,07	0,24	0,38*
ИЛ-18	0,25	-0,29	-0,03	-0,34*	0,40*	0,32*	0,17	0,41*
ФНО- $\alpha$	0,81*	1,00	1,00	0,00	0,11	0,43	0,29	0,08

Примечание: \*  $p < 0,05$  (метод гамма-корреляции).

ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-18, ФНО- $\alpha$ , определяемых методом ПЦР, и ИФН- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ИЛ-18 и ФНО- $\alpha$ , определяемых методом ИФА с наличием критериев васкулита, наличием критериев гранулематозного воспаления, клиническими проявлениями болезни: поражением органа зрения, органа слуха, носа и придаточных пазух носа, легких и почек. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Проведенное обследование показало, что наличие критериев васкулита достоверно коррелирует с уровнем экспрессии мРНК ИЛ-6, продукцией ИФН- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ ; наличие критериев гранулематозного воспаления имеет достоверную обратную корреляционную зависимость с уровнем экспрессии мРНК ИЛ-4, ИЛ-10 и прямую корреляционную связь с экспрессией мРНК ИЛ-18. Достоверная обратная корреляция определялась между экспрессией мРНК ИЛ-4, ИЛ-12, продукцией ИФН- $\alpha$  и поражением носа и ППН; экспрессией мРНК ИЛ-12, продукцией ИЛ-18 и поражением органа слуха; экспрессией мРНК ИФН- $\alpha$  и поражением почки; продукцией ИФН- $\alpha$  и снижением скорости клубочковой фильтрации менее 50%. Прямая корреляционная связь выявлена между экспрессией мРНК ИЛ-4, ИЛ-12, продукцией ИЛ-18 и поражением органа зрения; экспрессией мРНК ИФН- $\gamma$ ,

ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , продукцией ИЛ-18 и поражением легких; экспрессией мРНК ФНО- $\alpha$ , продукцией ИЛ-8, ИЛ-18 и снижением скорости клубочковой фильтрации менее 50%.

Анализ результатов исследования определил наличие полных корреляционных взаимосвязей ( $r=1,00$ ). Поражение органа зрения и экспрессия мРНК ИЛ-4, ИЛ-12 в периферических мононуклеарах имели полную прямую корреляционную связь ( $r=1,00$ ). Обратное полное корреляционное взаимодействие выявлено между поражением органа слуха и экспрессией мРНК ИЛ-12, а также между наличием снижения скорости клубочковой фильтрации более чем на 50% и сывороточным уровнем ИФН- $\alpha$  ( $r=-1,00$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Хорошо известно, что ключевое значение в некротизирующем повреждении сосудистой стенки у больных ГПА имеют АНЦА, напрямую воздействующие на нейтрофилы и моноциты посредством связывания с антигенами (ПРЗ, МПО), экспрессированными на поверхности клеточной мембраны. АНЦА вызывают активацию нейтрофилов в пределах сосудистого эндотелия с высвобождением кислородных радикалов, протеолитических ферментов,

хемокинов, увеличивают цитотоксичность нейтрофилов в отношении эндотелиальных клеток и повышают экспрессию молекул адгезии, способствуя трансэндотелиальной миграции активированных нейтрофилов [2]. Кроме того, стимуляция АТ к протеиназе 3 приводит к значительному выбросу ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  моноцитами у больных ГПА [6].

В результате проведенного исследования выявлено, что у больных ГПА, имеющих признаки васкулита, определяется достоверная прямая корреляционная зависимость с сывороточными уровнями ФНО- $\alpha$  (0,82), ИЛ-1 $\beta$  (0,33), ИФН- $\alpha$  (0,67), наличием экспрессии гена ИЛ-6 (0,4) в МПК.

ФНО- $\alpha$  способен индуцировать экспрессию протеиназы 3 на поверхности полиморфноядерных лейкоцитов у больных ГПА [6], что приводит к взаимодействию АНЦА с протеиназой 3 и стимуляции нейтрофилов к выбросу активированных радикалов кислорода, перекиси водорода и ферментов, разрушающих стенки сосудов [8]. ИЛ-1 $\beta$  способствует развитию местной воспалительной реакции: он активирует клетки, участвующие в формировании локального воспаления, регулирует функцию эндотелия и системы свертывания крови, индуцирует прокоагулянтную активность [7], усиливает функцию нейтрофилов и НК [8]. ИФН- $\alpha$  в сочетании с АТ к протеиназе 3 способны приводить к нарушению функционирования Т-регуляторных лимфоцитов у данной группы больных [9]. ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  принимают участие в инициации экспериментального легочного васкулита, сходного как при ГПА [10].

Таким образом, обнаружение достоверных корреляционных связей между уровнями цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\alpha$ , ИЛ-6) и наличием критериев васкулита может указывать на участие данных цитокинов в повреждении сосудистой стенки у больных ГПА.

Гранулематозное воспаление при ГПА содержит в себе клетки, которые дифференцируются из моноцитарно-макрофагальной клеточной линии, а именно макрофаги, дендритные клетки, эпителиоидные клетки и многоядерные гигантские клетки (моноцитарного ряда дифференцировки). Гранулема является источником провоспалительных цитокинов и аутоантител. Т-клетки, обнаруженные в гранулемах, в основном демонстрируют развитие Th1-тип продукции цитокинов, с секрецией ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ . Последние сообщения показывают, что протеиназа 3 вызывает сильный Th1-тип иммунный ответ. Гранулемы создают необходимое микроокружение, которое поддерживает воспаление, способствует изменению иммунологической толерантности и постоянной выработки антител, а заодно и Т-клеточно обусловленное воспаление [11].

У больных с признаками гранулематозного воспаления выявлена достоверная обратная корреляционная зависимость с уровнем экспрессии мРНК

ИЛ-4 (-0,73) и ИЛ-10 (-0,48), а также достоверная прямая корреляционная зависимость с уровнем экспрессии мРНК ИЛ-18 (0,63) в МПК больных ГПА. Данная корреляционная взаимосвязь указывает на изменение соотношения Th1/Th2 с подавлением Th2-типа иммунного ответа (наличие обратной корреляционной зависимости с экспрессией мРНК ИЛ-4, преобладание Th1-типа иммунного ответа при формировании гранулематозного воспаления (наличие прямой корреляционной зависимости с экспрессией мРНК ИЛ-18, который является мощным индуктором ИФН- $\gamma$  [12]). Наличие обратной корреляционной зависимости с ИЛ-10 говорит о том, что создаются условия для подавления противовоспалительного эффекта ИЛ-10 при обнаружении критериев гранулематозного воспаления у больных ГПА.

Поражение носа у больных ГПА характеризуется язвенно-некротическим ринитом, который может приводить к перфорации носовой перегородки вследствие разрушения носового хряща. Гистологическое исследование биопсии носа выявляет наличие васкулита мелких сосудов, гранулемы и экстравазальный некроз [3].

В результате проведенного исследования выявлено, что у больных ГПА, имеющих поражение носа и придаточных пазух, отмечается достоверная обратная корреляционная зависимость с наличием экспрессии мРНК ИЛ-4 (-0,86) и ИЛ-12 (-0,86) в МПК, уровнем сывороточного ИФН- $\alpha$  (-0,68). ИЛ-4 обеспечивает развитие Th2-типа иммунного ответа и выработку антител, обеспечивающих развитие васкулита [7]. ИЛ-12 является своеобразным антагонистом ИЛ-4, так как обеспечивает развитие Th1-типа иммунного ответа [8], участвующего в формировании гранулемы [10]. Обнаружение достоверной обратной корреляционной зависимости между экспрессией ИЛ-4, ИЛ-12 в МПК и поражением носа и придаточных пазух дает основание предполагать, что МПК не участвуют в развитии Th1- и Th2-типа иммунного ответа при поражении носа и придаточных пазух у больных ГПА. Таким образом, при поражении носа и придаточных пазух у больных ГПА оправдано изучение экспрессии цитокинов в тканевом микроокружении, т.е. локально.

ИФН- $\alpha$ , циркулирующий в системном кровотоке, является фактором неспецифической противовирусной защиты, индуктором выработки ИФН- $\gamma$  [5]. Однако при поражении носа и придаточных пазух носа у больных ГПА отмечается достоверная обратная корреляционная зависимость с продукцией ИФН- $\alpha$ , что говорит об изменении противовирусной защиты у больных ГПА.

Поражение орбиты — наиболее частое офтальмологическое проявление при различных клинических формах гранулематоза Вегенера. Поражение глазницы характеризуется развитием гранулем,

дакриoadенита с выраженной воспалительной инфильтрацией окружающих тканей, в том числе глазодвигательных мышц, деструкцией костных стенок глазницы. Нередко встречаются неспецифические конъюнктивиты, эписклериты, наблюдается вторичное повреждение зрительного нерва вследствие васкулитов сосудов сетчатки в 10–18% случаев больных с вовлечением органа зрения [13].

Исследование демонстрирует, что мононуклеары периферической крови больных ГПА с поражением органа зрения экспрессируют цитокины, которые способствуют развитию как васкулита (ИЛ-4 стимулирует синтез АТ В-лимфоцитами) [8], так и гранулематозного воспаления (ИЛ-12 стимулирует рост и дифференцировку Th0 в Th1) [7]. ИЛ-18, циркулирующий в системном кровотоке, способен поддерживать как Th1-, так и Th2-тип иммунного ответа (с преобладанием Th1-типа иммунного ответа). ИЛ-18 участвует в макрофагальном иммунитете [12]. Плейотропность действия ИЛ-18 способствует развитию как васкулита, так и гранулематозного воспаления у больных ГПА с поражением зрения.

Поражение органа слуха встречается приблизительно у 40% больных. У большинства пациентов с ГПА с поражением органа слуха диагностируется экссудативный средний отит, который развивается вследствие непосредственного поражения среднего уха и полости сосцевидного отростка некротизирующей гранулемой, которая сочетается с экссудативным процессом, мастоидитом и параличом лицевого нерва [14]. Выявление достоверной обратной корреляционной зависимости между экспрессией ИЛ-12 в МПК и поражением органа слуха позволяет предположить, что мононуклеары периферической крови не способствуют развитию Th1-типа иммунного при поражении органа слуха у больных ГПА. Наличие обратной корреляционной зависимости с продукцией ИЛ-18, который является мощным индуктором ИФН- $\gamma$  в системном кровотоке, дает основание заподозрить наличие нарушения механизмов развития клеточного иммунитета при поражении органа слуха у больных ГПА.

При изучении патоморфологии поражения легких у больных с васкулитами описаны основные гистологические особенности, характеризующие поражение легких у больных ГПА: наличие некроза, гранулематозного воспаления и васкулита. Гранулемы могут быть нескольких видов, включая наличие рассеянных или в виде «рыхлых гроздей» гигантских клеток, окруженных гистиоцитами, или гигантских клеток, выстилающих географический некроз или микроабсцессы, и окружающих микрогранулемы [15].

Обнаружение достоверной прямой корреляционной зависимости между поражением легких

и экспрессией генов ИФН- $\gamma$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  в МПК у больных ГПА дает основание предполагать, что МПК являются активными участниками развития легочного поражения у данной группы больных. Экспрессия ИФН- $\gamma$  обеспечивает развитие Th1-типа иммунного ответа и формирование гранулемы [7], ФНО- $\alpha$  обеспечивает презентацию протеиназы 3 на поверхности нейтрофила и, как следствие, развитие васкулита сосудов легких [6]. ИЛ-6 обладает свойствами как про-, так и противовоспалительного цитокина, который способен обеспечить развитие как острого, так и хронического воспаления [7] в легких у больных ГПА. Наличие прямой достоверной корреляционной зависимости между продукцией ИЛ-18 и поражением легких у больных ГПА указывает, что данный цитокин является участником развития поражения легких у данной группы больных, способствуя формированию гранулемы (Th1-тип иммунный ответ), васкулита (Th2-тип иммунный ответ), а также активации макрофагального звена иммунитета.

Поражение почек представляет собой некротизирующий процесс мелких и средних артерий с быстроразвивающимся фибриноидным некрозом, деструкцией и массивными полиморфно-клеточными инфильтратами. Слабоиммунный некротизирующий гломерулонефрит с полулуниями является морфологическим отличительным критерием АНЦА-ассоциированных васкулитов. Тяжесть и распространенность повреждения может значительно варьироваться: от некроза почечного клубочка до массивных (циркулярных, круговых, периферических) полулуний и частых перигломерулярных гранулематозных реакций. Диффузная или выраженная интерстициальная инфильтрация Т- и В-лимфоцитами, моноцитами и макрофагами представляет собой другую частую морфологическую особенность тубулита [3].

В результате проведенного исследования выявлена достоверная обратная корреляционная зависимость между поражением почек у больных ГПА и уровнем экспрессии гена ИФН- $\alpha$  ( $-0,36$ ), что может указывать на изменение функционирования ЦТЛ, НК-клеток и Т-клеток у больных ГПА с поражением почек. Данное предположение подтверждается работой Tognarelli S. и соавт., в которой было показано, что помимо воспалительных процессов при ГПА, почечные микрососудистые эндотелиальные клетки могут способствовать накоплению и активации НК-клеток в стенках сосудов почек, которое может привести к формированию некротизирующего васкулита в почках при ГПА [16].

Выполненное исследование корреляционных взаимосвязей определило наличие достоверной прямой корреляционной зависимости между экспрессией мРНК ФНО- $\alpha$  в МПК; сывороточными ИЛ-8 (0,37) и ИЛ-18 (0,41) и наличием скорости

клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> у больных ГПА. Кроме того, достоверная обратная корреляционная зависимость была обнаружена между наличием скорости клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> у больных ГПА и уровнем сывороточного ИФН- $\alpha$  (-1,0).

Снижение СКФ до уровня менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> даже при полном отсутствии признаков почечного повреждения и независимо от возраста свидетельствует о наличии продвинутых стадий (3–5) ХБП [17].

ФНО- $\alpha$  обеспечивает презентацию протеиназы 3 на поверхности нейтрофила [6] и, как следствие, может способствовать развитию васкулита сосудов почек. ИЛ-8 способен повышать адгезивность нейтрофилов, вызвать повышение экспрессии молекулы адгезии-1, а также стимулирует транслокацию протеиназы 3 на поверхность нейтрофилов, тем самым обеспечивая большую вероятность связывания протеиназы 3 с АНЦА [2]. Таким образом, ФНО- $\alpha$  в МПК, уровень сывороточного ИЛ-8 у больных ГПА могут способствовать презентации протеиназы 3 на поверхности нейтрофилов и последующему повреждению сосудов почки.

Наличие прямой достоверной корреляционной зависимости между уровнем сывороточного ИЛ-18 и снижением скорости клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> у больных ГПА указывает, что данный цитокин является участником развития ХБП 3 и более продвинутой стадии у данной группы больных, способствуя формированию гранулематозного воспаления (Th1-тип иммунный ответ), развитию васкулита (Th2-тип иммунный ответ), а также активации макрофагального звена иммунитета.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основе патогенеза ГПА лежат разнообразные нарушения клеточного и гуморального иммунитета [3], которые опосредованы развитием определенного типа иммунного ответа. Изучение цитокинового профиля позволяет приблизиться к пониманию механизмов развития иммуновоспалительного процесса данного заболевания, а также влияния цитокинов на формирование органных поражений при гранулематозе с полиангиитом. Исследование корреляционных взаимосвязей между изменением экспрессии мРНК цитокинов в периферических мононуклеарах, продукции цитокинов и поражением различных органов и тканей у больных ГПА дает возможность определения участия отдельных цитокинов в развитии органных поражений, а также дальнейшего применения антицитокиновых препаратов.

## Список литературы

1. Новиков П.И., Семенкова Е.Н., Моисеев С.В. Современная номенклатура системных васкулитов. *Клиническая фармакология и терапия*. 2013; 22(1): 70–74. [Novikov P.I., Semenкова E.N., Moiseev S.V. Modern nomenclature of systemic vasculitides. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2013; 22(1): 70–74 (in Russian).]
2. Бекетова Т.В. Гранулематоз с полиангиитом, патогенетически связанный с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами: особенности клинического течения. *Научно-практическая ревматология*. 2012; 50(6): 19–28. [Beketova T.V. Granulomatosis with polyangiitis, which is pathogenetically associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies: clinical features. *Rheumatology Science and Practice*. 2012; 50(6): 19–28 (in Russian).]
3. Семенкова Е.Н. Системные некротизирующие васкулиты. М.: Русский врач; 2001: 48. [Semenkova E.N. Systemic necrotizing vasculitis. Moscow: Russian doctor; 2001: 48 (in Russian).]
4. Мухин Н.А., Новиков П.И., Моисеев С.В. и др. Эффективность и безопасность генно-инженерных биологических препаратов у пациентов с ревматоидным артритом и другими ревматическими заболеваниями (проспективное неконтролируемое исследование). *Клиническая фармакология и терапия*. 2012; 21(5): 25–32. [Mukhin N.A., Novikov P.I., Moiseev S.V. et al. Efficacy and safety of biologic agents in patients with rheumatoid arthritis and other rheumatic diseases. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2012; 21(5): 25–32 (in Russian).]
5. Ершов Ф.И., Мезенцева М.В., Васильев А.Н. и др. Методические указания по проведению доклинических исследований цитокин-индуцирующей активности антивирусных препаратов. *Ведомости научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств*. 2002; 1(9): 26–29. [Ershov F.I., Mezentseva M.V., Vasiliev A.N. et al. Methodical guidelines for preclinical studies applying of cytokine-induced activity of antiviral drugs. *Scientific Center for expert evaluation of medicine products bulletin*. 2002; 1(9): 26–29 (in Russian).]
6. Hattar K., Bickenbach A., Csernok E. et al. Wegener's granulomatosis: antiproteinase 3 antibodies induce monocyte cytokine and prostanoid release-role of autocrine cell activation. *J. Leukoc. Biol.* 2002; Jun; 71(6): 996–1004.
7. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Издательство Фолиант; 2008: 552. [Kettlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines. Saint Petersburg: Publishing house Foliant; 2008: 552 (in Russian).]
8. Воробьев А.А., Быков А.С., Караулов А.В. Иммунология и аллергология. Цветной атлас. М.: Практическая медицина; 2006: 287. [Vorobiev A.A., Bikov A.S., Karaulov A.V. Immunology and allergology. Colored atlas. Moscow: Practice medicine; 2006: 287 (in Russian).]

9. *Klapa S., Mueller A., Csernok E. et al.* Lower numbers of FoxP3 and CCR4 co-expressing cells in an elevated subpopulation of CD4+CD25 high regulatory T cells from Wegener's granulomatosis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2010; 28(1): 72–80.
10. *Tomer Y., Barak V., Gilburd B., Shoenfeld Y.* Cytokines in experimental autoimmune vasculitis: evidence for a Th2 type response. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1999; 17(5): 521–526.
11. *Lamprecht P., Wieczorek S., Epplen J.T. et al.* Granuloma formation in ANCA-associated vasculitides. *Suppl. APMIS.* 117(127): 32–36.
12. Якушенко Е.В., Лопатникова Ю.А., Сенников С.В. Интерлейкин 18 и его роль в иммунном ответе. *Медицинская иммунология.* 2005; 7(4): 355–364. [*Yakushenko E.V., Lopatnikova J.A., Sennikov S.V.* IL-18 and immunity. *Medical Immunology.* 2005; 7(4): 355–364 (in Russian).]
13. Груша Я.О., Исмаилова Д.С., Новиков П.И., Абрамова Ю.В. Офтальмологические проявления гранулематоза с полиангиитом (гранулематоз Вегенера). *Терапевтический архив.* 2015; 87(12): 111–116. [*Grusha Ya.O., Ismailova D.S., Novikov P.I., Abramova Yu.V.* Ophthalmologic manifestations of granulomatosis with polyangiitis (Wegener's granulomatosis). *Therapeutic archive.* 2015; 87(12): 111–116 (in Russian).]
14. *Maniu AA., Harabagiu O., Damian L.O. et al.* Mastoiditis and facial paralysis as initial manifestations of temporal bone systemic diseases – the significance of the histopathological examination. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2016; 57(1): 243–248.
15. *Travis W.D.* Pathology of pulmonary vasculitis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 25(5): 475–82.
16. *Tognarelli S., Gayet J., Lambert M. et al.* Tissue-specific microvascular endothelial cells show distinct capacity to activate NK cells: implications for the pathophysiology of granulomatosis with polyangiitis. *J. Immunol.* 2014; 192(7): 3399–3408.
17. Шилов Е.М. Хроническая болезнь почек и нефропротективная терапия. Методическое руководство для врачей. М.; 2012: 83. [*Shilov E.M.* Chronic renal disease and nephroprotective therapy. *Methodological guidelines for doctors.* Moscow; 2012: 83 (in Russian).]