

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

УДК 577.175.14; 577.175.142; 616-002.658; 616.517.8; 616.832-004.2

Радыгина Т.В.¹, Фисенко А.П.¹, Петричук С.В.¹, Купцова Д.Г.¹, Курбатова О.В.¹, Фрейдлин Е.В.¹,
Потапов А.С.^{1,2}, Мурашкин Н.Н.^{1,2,3}, Бурсагова Б.И.¹, Абдуллаева Л.М.¹, Семикина Е.Л.^{1,2}

Изменения цитокиновых комплексов у детей с аутоиммунными заболеваниями при разной эффективности их биологической терапии

¹ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, 119991, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Москва, Россия;

³ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, 121359, Москва, Россия

Введение. Цитокины (ЦК) имеют патогенетическое значение в формировании аутоиммунных заболеваний. Для их лечения появилось большое число биологических препаратов, направленных против определённых ЦК, однако до 40% больных не реагируют на такую терапию. Значимыми вопросами являются выбор необходимого биологического препарата и предупреждение резистентности к нему.

Цель работы — определить информативные ЦК-комплексы у детей с псориазом (ПС), рассеянным склерозом (РС) и воспалительными заболеваниями кишечника при разной эффективности их биологической терапии.

Материалы и методы. Обследовано 288 детей с аутоиммунными заболеваниями на фоне поддерживающей биологической терапии. Больные были распределены на группы по фазам течения болезней — обострение и ремиссия в зависимости от индекса площади поражения (PASI) для ПС, клиническим индексам активности PUSAI для язвенного колита (ЯК), PCDA для болезни Крона (БК), наличием очагов демиелинизации на магнитно-резонансной томограмме для пациентов с РС. У всех больных было проведено количественное определение 25 ЦК в образцах сыворотки крови с помощью мультиплексного анализа (X-MAP технология).

Результаты. У больных с ПС, РС, ЯК и БК при обострении их течения выявлено повышение патогенетически значимых ЦК-профилей, ассоциированных с клетками и функциями M1 клеток, Th1, Th2, Th17. Установлено значимое снижение уровней ЦК и ЦК-комплексов у больных РС по сравнению с пациентами с ПС, ЯК и БК, за исключением сTh1. Установлены пороговые значения уровней ЦК-комплексов, выше которых можно ожидать развитие обострения течения заболевания: для ПС — 1431,1 пг/мл (fTh22 — IL13 + IL22), для РС — 33,1 пг/мл (сTh1 — IFN γ + IL12p70 + TNF β IL2), ЯК — 20,9 пг/мл (M1 — IL1 + IL6 + TNF α , БК — 1986 пг/мл (fIL12 — IL12 + IL23 + IL27).

Заключение. При оценке эффективности проводимой биологической терапии и прогнозирования состояния пациентов можно использовать специфичные ЦК-комплексы для определённых форм патологии.

Ключевые слова: дети; псориаз; рассеянный склероз; воспалительные заболевания кишечника; цитокиновые комплексы

Для цитирования: Радыгина Т.В., Фисенко А.П., Петричук С.В., Купцова Д.Г., Курбатова О.В., Фрейдлин Е.В., Потапов А.С., Мурашкин Н.Н., Бурсагова Б.И., Абдуллаева Л.М., Семикина Е.Л. Изменения цитокиновых комплексов у детей с аутоиммунными заболеваниями при разной эффективности их биологической терапии. *Российский педиатрический журнал*. 2023; 26(6): 390–398. <https://doi.org/10.46563/1560-9561-2023-26-6-390-398> <https://elibrary.ru/ismvctf>

Для корреспонденции: Радыгина Татьяна Вячеславовна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. экспериментальной иммунологии и вирусологии, врач клинко-диагностической лаб. ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, radigina.tv@nczd.ru

Участие авторов: Радыгина Т.В., Петричук С.В. — концепция и дизайн исследования; Радыгина Т.В., Петричук С.В., Купцова Д.Г., Курбатова О.В., Потапов А.С., Мурашкин Н.Н., Бурсагова Б.И., Абдуллаева Л.М., Фрейдлин Е.В. — сбор и обработка материала; Радыгина Т.В. — написание текста; Радыгина Т.В., Петричук С.В., Купцова Д.Г., Потапов А.С., Курбатова О.В., Абдуллаева Л.М., Семикина Е.Л., Фисенко А.П. — редактирование. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Финансирование. Исследование проведено в рамках государственного задания Минздрава России № АААА-А19-119013090093-2.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.11.2023
Принята к печати 28.11.2023
Опубликована 27.12.2023

Tatiana V. Radygina¹, Andrey P. Fisenko¹, Svetlana V. Petrichuk¹, Darya G. Kuptsova¹, Olga V. Kurbatova¹, Ekaterina V. Freydlin¹, Alexander S. Potapov^{1,2}, Nikolay N. Murashkin^{1,2,3}, Bella I. Bursagova¹, Luizat M. Abdullaeva¹, Elena L. Semikina^{1,2}

Changes in cytokine complexes in children with autoimmune diseases with different effectiveness of their biological therapy

¹National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation;

²Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991, Russian Federation;

³Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs, Moscow, 121359, Russian Federation

Introduction. Cytokines (CC) play an important pathogenetic role in the development of autoimmune diseases. Over the past decade, there has appeared a huge number of biological drugs that target certain cytokines. The main problem remains the choice of a suitable biological drug, as up to 40% of patients do not respond to treatment or become resistant to it. **Aim:** to identify informative cytokine complexes in children with psoriasis, MS, and IBD with different efficacy of biological therapy.

Materials and methods. Two hundred eighty eight children with autoimmune diseases were examined against the background of supportive biological therapy. Patients were divided into groups of exacerbation and remission depending on the lesion area index PASI for psoriasis (PS), clinical activity indices PUCAI for ulcerative colitis (UC), PCDA for Crohn's disease (CD), by the presence of foci of demyelination on MRI for patients with multiple sclerosis (MS). All patients underwent a study of 25 cytokines in serum samples using multiplex analysis (X-MAP technology).

Results. In PS, MS, UC, and CD patients, an increase in pathogenetically significant cytokine profiles associated with cells (c) and functions (f) of M1 cells, Th1, Th2, Th17 was revealed in the exacerbation of diseases relative to the groups in remission. There was a significant decrease in the levels of cytokines and cytokine complexes in patients with MS relative to patients with PS, UC and CD, with the exception of cTh1. Threshold values of the level of cytokine complexes above which the development of an exacerbation of the disease can be expected were obtained: for PS — 1431.1 pg/ml (fTh2 — IL13 + IL22), for PC — 33.1 pg/ml (cTh1 — IFN- γ + IL12p70 + TNF- β + IL2), UC — 20.9 pg/ml (M1 — IL-1 + IL-6 + TNF- α), CD — 1986 pg/ml (fIL12 — IL12 + IL23 + IL27).

Conclusion. To assess the effectiveness of biological therapy and to predict the condition of patients, it is possible to evaluate specific cytokine complexes for a specific pathology.

Keywords: children; psoriasis; multiple sclerosis; inflammatory bowel diseases; cytokines

For citation: Radygina T.V., Fisenko A.P., Petrichuk S.V., Kuptsova D.G., Kurbatova O.V., Freydlin E.V., Potapov A.S., Murashkin N.N., Bursagova B.I., Abdullaeva L.M., Semikina E.L. Changes in cytokine complexes in children with autoimmune diseases with different effectiveness of their biological therapy. *Rossiyskiy Pediatricheskiy Zhurnal (Russian Pediatric Journal)*. 2023; 26(6): 390–398. (In Russian). <https://doi.org/10.46563/1560-9561-2023-26-6-390-398> <https://elibrary.ru/isvcvf>

For correspondence: Tatiana V. Radygina, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of experimental immunology and virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, 119991, Russian Federation, radigina.tv@nczd.ru

Contribution: Radygina T.V., Petrichuk S.V. — research concept and design of the study; Radygina T.V., Petrichuk S.V., Kuptsova D.G., Kurbatova O.V., Potapov A.S., Murashkin N.N., Bursagova B.I., Abdullaeva L.M., Freydlin E.V. — collection and processing of material; Radygina T.V. — text writing; Radygina T.V., Petrichuk S.V., Kuptsova D.G., Potapov A.S., Kurbatova O.V., Abdullaeva L.M., Semikina E.L., Fisenko A.P. — editing. All co-authors — approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Information about the authors:

Radygina T.V., <https://orcid.org/0000-0003-4704-6885>
Fisenko A.P., <https://orcid.org/0000-0001-8586-7946>
Petrichuk S.V., <https://orcid.org/0000-0003-0896-6996>
Kuptsova D.G., <https://orcid.org/0000-0001-7771-3314>
Kurbatova O.V., <https://orcid.org/0000-0002-9213-5281>
Freydlin E.V., <https://orcid.org/0000-0002-5645-5181>
Potapov A.S., <https://orcid.org/0000-0003-4905-2373>
Murashkin N.N., <https://orcid.org/0000-0003-2252-8570>
Bursagova B.I., <https://orcid.org/0000-0001-8506-2064>
Abdullaeva L.M., <https://orcid.org/0000-0003-1574-2050>
Semikina E.L., <https://orcid.org/0000-0001-8923-4652>

Acknowledgment. The study was conducted within the framework of the state assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation, No. AAAA-A19-119013090093-2.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: November 14, 2023

Accepted: November 28, 2023

Published: December 27, 2023

Введение

За последние несколько десятилетий биологические препараты и низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на воспалительные цитокины (ЦК), иммунные клетки и внутриклеточные киназы, стали стандартом лечения аутоиммунных заболеваний (АИЗ) [1]. ЦК представляют собой пептиды, ответственные за межклеточные коммуникации. Некоторые ЦК (например, интерлейкин (IL)-6) циркулируют в крови в

пикомолярных (10^{-12} М) концентрациях, которые могут увеличиваться до 1000 раз во время травмы или инфекции. Широкое распространение клеточных источников ЦК может быть признаком, отличающим их от гормонов. Практически все ядерные клетки, особенно эндо/эпителиальные клетки и резидентные макрофаги, которые находятся на границе с внешней средой, являются мощными продуцентами IL1, IL6 и семейства факторов некроза опухоли (TNF), действующих в фемтомолярных

Клинико-anamnestические данные обследованных пациентов
 Clinical and anamnestic data of patient examinations

Группа Group	Заболевание Disease	Возраст, лет Age, years Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	Активность заболевания Disease activity		Терапия Therapy
			обострение exacerbation	ремиссия remission	
Группа 1 Group 1	ПС PS	12,6 (9,4-14,4)	PASI > 10 30	PASI ≤ 10 59	Анти-TNF TNF inhibitors
Группа 2 Group 2	РС MS	16,8 (15-17,6)	Активные очаги (MPT) Active foci (MRI) 34	Без активных очагов (MPT) No active foci (MRI) 32	IFNβ1α
Группа 3 Group 3	ЯК UC	11,2 (8,6-14,8)	PUCAI > 10 33	PUCAI ≤ 10 20	Анти-TNF TNF inhibitors
Группа 4 Group 4	БК CD	15,8 (12,3-16,9)	PCDIA > 10 48	PCDIA ≤ 10 32	Анти-TNF TNF inhibitors

концентрациях и регулирующих различные биологические процессы, в том числе воспаление, пролиферацию и дифференцировку различных клеток организма. В 1957 г. А. Isaacs и соавт. был открыт первый ЦК, получивший название интерферон (IFN) [2]. На сегодняшний день известно более 200 цитокинов, которые объединены в различные группы и семейства. [3].

ЦК действуют плейотропно, синергетически, регулируются эндогенными антагонистами и в зависимости от микроокружения могут проявлять как про-, так и противовоспалительные свойства [4]. Эффекты на клетки ЦК осуществляют через специфические рецепторы, которые активируют внутриклеточные сигнальные пути. Избыточность и плеоморфизм ЦК фактически являются следствием их гомологичных рецепторов. Таким образом, терапевтическими мишенями могут выступать сами ЦК и их комплексы (ЦКК), рецепторы ЦК или общие рецепторные единицы и внутриклеточные сигнальные пути [5]. В недавнем масштабном исследовании с участием 22 млн человек в Великобритании было показано, что каждый 10-й человек болеет АИЗ, и число заболевших продолжает увеличиваться [6]. Ряд АИЗ, например, псориаз (ПС), псориатический артрит и ревматоидный артрит, имеют относительно общий патогенез, обусловленный клетками Th1, Th17 и их ЦК [8]. Схожие специфические ЦКК наблюдаются при воспалительных заболеваниях кишечника и рассеянном склерозе (РС) [7, 9]. Кроме того, в формировании воспалительных заболеваний кишечника важную роль играют сочетание экологических и энтеробактериальных факторов, вызывающих дисфункцию эпителиального барьера кишечника и нарушения иммунной регуляции [10]. Величина влияния каждого фактора на отдельных больных неодинакова, что может приводить к экспрессии разных уровней ЦК. Концентрации IL1β и IL8 в слизистой оболочке кишечника выше у пациентов с язвенным колитом (ЯК), чем с болезнью Крона (БК). Однако эти уровни экспрессии ЦК широко варьируют среди больных и отличаются интенсивностью процессов воспаления [11, 12].

Растущее число биологических препаратов, ингибирующих различные ЦК, используемые для лечения, подтверждает их патогенетическую роль в развитии АИЗ. Однако основной проблемой остаётся выбор подходящего биологического препарата для отдельных пациентов или их комплексов. Несмотря на доказанную эффективность препаратов, ингибирующих определенные ЦК, до 40% пациентов не реагируют на лечение или становятся резистентными к нему [13, 14]. При различных формах АИЗ показано, что уровни ЦКК коррелируют со стадиями течения АИЗ. Установлено, что при псориазе сывороточные уровни IFNγ, TNFα, IL1β, IL6, IL17A, IL18 и IL23 у пациентов в активной стадии значительно выше, чем у больных в ремиссии и у здоровых людей [15]. При ЯК у взрослых пациентов в начале болезни (ранняя фаза) доминируют ЦКК, продуцируемые клетками врождённого иммунитета, такие как TNFα, IL1β и IL6. В поздней фазе ЯК преобладают ЦКК, ассоциированные с Th1- и Th2-лимфоцитами. Th17-ассоциированные цитокины, вероятно, участвуют в обеих фазах ЯК [14]. Считается, что опосредованная ЦКК (GM-CSF, IFNβ, IFNγ, TNFα, IL2, IL6, IL10, IL12, IL17, IL21, IL22, IL23) воспалительная реакция является ключевым процессом при аутоиммунной атаке РС [17]. В связи с этим ясно, что определение уровней ЦК и ЦКК может помочь не только в диагностике, но и в определении стратегии терапии.

Цель работы: определить информативные ЦКК у детей с ПС, РС и воспалительными заболеваниями кишечника при разной эффективности их биологической терапии.

Материалы и методы

Обследовано 288 детей с АИЗ на фоне поддерживающей биологической терапии. Первую группу составили 89 больных ПС, 2 группу — 66 пациентов с РС, 3 группу — 53 больных ЯК, 4 группу — 80 детей с БК. Клинико-anamnestические данные обследованных детей представлены в **табл. 1**. Больные с указанными формами патологии были распределены на группы по фазам тече-

Таблица 2 / Table 2

Цитокиновые комплексы
Cytokine complexes

	Состав ЦКК Composition of the cytokine complex	Обозначение Designation
1	Макрофагальные — IL1 + IL6 + TNF α	M1
	ЦК, ассоциированные с клетками Cytokines associated with cells	
1	IFN γ + IL12p70 + TNF β + IL2	cTh1
2	IL4 + IL5 + IL10 + IL13 + IL17E/IL25 + IL33	cTh2
3	IL1 β + IL6 + IL17A + IL17F + IL21 + IL22 + IL23	cTh17
	ЦК, ассоциированные с функциями клеток Cytokines associated with cell functions	
1	IL4 + IL5 + IL31 + IL13	fTh2+mast
2	IL12 + IL23 + IL27	fIL12
3	IL17A + IL17F	fTh17
4	IL4 + IL5 + IL10 + IL13 + IL33	fReg
5	IL4 + IL5 + IL13	fTh2
6	IL13 + IL22	fTh22

ния (обострение и ремиссия) в зависимости от индекса площади поражения PASI¹ для ПС, клинических индексов активности PUCAI² для ЯК, PCDAI³ для БК, по наличию очагов демиелинизации на МРТ для пациентов с РС.

Образцы крови больных получали путём забора из локтевой вены натощак в пробирки «BDVacutainer» с активатором свертывания. После центрифугирования (1500 об/мин, 10 мин) полученную сыворотку хранили при –80°C до проведения анализа.

Исследование ЦК в образцах крови проводили с помощью мультиплексного анализа (xMAP-технология) панелью «MILLIPLEX MAP Human Th17 Magnetic Bead Panel» («EMD Millipore Corporation»). Сбор образцов и анализ проводили на проточном флуориметре «Bio-Plex™-200 Assay System» («Bio-Rad») с использованием программного обеспечения «xPONENT 4.2» и «Milliplex Analyst 5.1». Панель исследованных ЦК включала: IL-17F, GM-CSF, IFN γ , IL10, CCL20/MIP3 α , IL12p70, IL13, IL15, IL17A, IL22, IL9, IL1 β , IL33, IL2, IL21, IL4, IL23, IL5, IL6, IL17E/IL25, IL27, IL31, TNF α , TNF β , IL28A. Данные количественного анализа ЦК в крови представлены в пг/мл.

Проведён анализ концентраций каждого ЦК и ЦКК, ассоциированных с определёнными клетками (с) и функциями (f) [18–21] (табл. 2).

Для нормализации данных была проведена стандартизация по Z-score для всех исследованных ЦК и профилей ЦК [22]. Z рассчитывали следующим образом:

$$Z = (x_i - \mu) / \sigma,$$

где Z — стандартизованная оценка; x_i — исходный элемент выборки; μ — среднее арифметическое; σ — стандартное отклонение.

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы «Statistica v. 10.0» («StatSoft»). Описательная статистика количественных признаков представлена в формате: медиана (нижние и верхние квартили) — Me (Q_{25} – Q_{75}), среднее \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Для разделения состояний обострения и ремиссии и получения пороговых значений концентраций ЦКК был проведён ROC-анализ («SPSS v. 25») с определением площади под кривой (AUC), коэффициентов чувствительности (Sn) и специфичности (Sp).

Дизайн и методы исследования одобрены независимым локальным этическим комитетом. Родители больных детей дали добровольное письменное информированное согласие на участие в работе.

Результаты

Анализ ЦК при обострении и ремиссии на фоне биологической терапии показал, что при ПС, ЯК и БК наблюдались значимые различия по большинству измеренных аналитов. У больных ПС 22 из 25 исследованных ЦК были достоверно повышены при обострении заболевания, чем при ремиссии (не было различий для CCL20/MIP3 α , IL15, IL1 β). При ЯК у пациентов при обострении и ремиссии не было существенной разницы только для двух ЦК — IL12p70 и IL1 β . У детей с БК для всех ЦК выявлены значимые различия между группами. У больных РС существенные различия между пациентами в обострении и ремиссии были установлены для 9 ЦК: GM-CSF, IL12p70, IL17E/IL25, IL21, IL28A, IL5, IL6, IL9, TNF β . При всех указанных заболеваниях концентрации ЦК в крови были увеличены у больных при обострении по сравнению с их уровнями при ремиссии.

Проанализированы патогенетически значимые ЦКК, ассоциированные с клетками, у больных ПС, РС, БК и

¹Индекс тяжести поражения псориазом — Psoriasis Area and Severity Index (PASI).

²Педиатрический индекс активности при язвенном колите — Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index (PUCAI).

³Педиатрический индекс активности болезни Крона — Pediatric Crohn's Disease Activity Index (PCDAI).

ЯК и различия между пациентами с разными заболеваниями (табл. 3).

Выявлены значимые различия между ЦКК у пациентов с ПС, РС, ЯК и БК. У больных с РС при обострении выявлено существенное уменьшение показателей по сравнению с больными ПС и с воспалительными заболеваниями кишечника по ЦК-профилям, ассоциированным с Th2, Th17-клетками. Различий по ЦК-профилю, ассоциированному с Th1, между изученными болезнями у пациентов при обострении заболеваний не выявлено. Однако при ремиссии заболеваний значимые различия наблюдались по ЦКК с Th1 у больных ПС, РС, ЯК и БК. Причём у пациентов с БК были выявлены наибольшие значения ЦКК с Th1. При обострении заболевания по уровням ЦКК не выявлено значимых различий между больными ЯК и БК, в то время как у больных в ремиссии этих болезней наблюдались существенные различия по сM1, сTh1, сTh2: у пациентов с БК показатели были

выше, чем у больных ЯК. При обострении заболевания, как и в ремиссии, пациенты с РС имели значимые различия по сTh17 от ПС, ЯК и БК. При этом у больных с РС как при обострении, так и в ремиссии, уровни ЦКК были значительно ниже, чем у пациентов с другими болезнями.

Концентрации указанных ЦК в крови больных варьировали от значений менее 10 пг/мл и до тысяч пг/мл, поэтому для нормализации значений была применена Z-стандартизация. На рис. 1 представлены ЦКК, патогенетически значимые для больных ПС, РС, ЯК, БК при обострении и ремиссии этих заболеваний.

У пациентов с ПС, ЯК, БК представленные значения ЦКК существенно различались при обострении и ремиссии (рис. 1). У больных РС значимые различия по фазам были выявлены для ЦКК профилей M1 и сTh1. Анализ ЦКК, ассоциированных с функциями клеток, показал, что у пациентов с ПС, ЯК, БК уровень всех

Таблица 3 / Table 3

Содержание ЦКК, ассоциированных с клетками, у пациентов при обострении и ремиссии ПС, РС, ЯК, БК, Me (Q₂₅–Q₇₅)
 The content of cytokine complexes associated with cells in patients in exacerbation and remission of PS, MS, UC, CD, Me (Q₂₅–Q₇₅)

ЦК Cytokines	Группа 1 — ПС Group 1 — PS (n = 30)	Группа 2 — РС Group 2 — MS (n = 34)	Группа 3 — ЯК Group 3 — UC (n = 33)	Группа 4 — БК Group 4 — CD (n = 48)
ЦКК у пациентов в обострении Cytokine complexes in patients with exacerbation				
M1	58,8 30,8–78,7	37,48 21,9–58,2 <i>p</i> ₂₋₄ = 0,037	50,7 27,4–128,5	51,9 29,3–100,0
сTh1	61,3 34,6–197,3	80,0 23,6–165,0	47,1 30,3–293,6	88,0 34,1–270,3
сTh2	602,2 424,0–1160,6 <i>p</i> ₁₋₂ < 0,001 <i>p</i> ₁₋₃ = 0,013	359,2 225,8–489,9 <i>p</i> ₂₋₄ < 0,001	465,9 277,9–848,4	588,0 444,8–984,7
сTh17	4247,6 2313,3–7021,7 <i>p</i> ₁₋₂ < 0,001	1708,0 167,8–2848,3 <i>p</i> ₂₋₃ < 0,001 <i>p</i> ₂₋₄ < 0,001	2694,8 2225,4–5513,2	4596,9 2550,1–10293,7
ЦКК у пациентов в ремиссии Cytokine complexes in patients in patients with remission				
M1	23,4* 19,2–25,2 <i>p</i> ₁₋₃ < 0,001	15,4* 12,04–36,94	15,8* 11,5–20,5 <i>p</i> ₃₋₄ < 0,001	25,2* 18,3–34,2
сTh1	21,2* 19,500–27,150 <i>p</i> ₁₋₄ < 0,001	15,8* 11,0–33,4 <i>p</i> ₂₋₄ = 0,002	17,5* 15,7–23,0 <i>p</i> ₃₋₄ < 0,001	36,2* 22,6–45,6
сTh2	306,0* 276,3–440,3 <i>p</i> ₁₋₃ = 0,001	269,2 191,6–373,5	252,3* 190,8–282,3 <i>p</i> ₃₋₄ = 0,008	345,9* 243,4–502,9
сTh17	1894,5* 1390,3–2057,4 <i>p</i> ₁₋₂ < 0,001	179,8 65,3–2116,5 <i>p</i> ₂₋₃ = 0,021 <i>p</i> ₂₋₄ = 0,036	1540,9* 1238,1–1961,2	1506,4* 685,8–2212,5

Примечание. *Значения имеют значимые различия между группами больных с обострением и ремиссией.

Note. *Values with significant differences between the groups of patients with exacerbation and remission were noted.

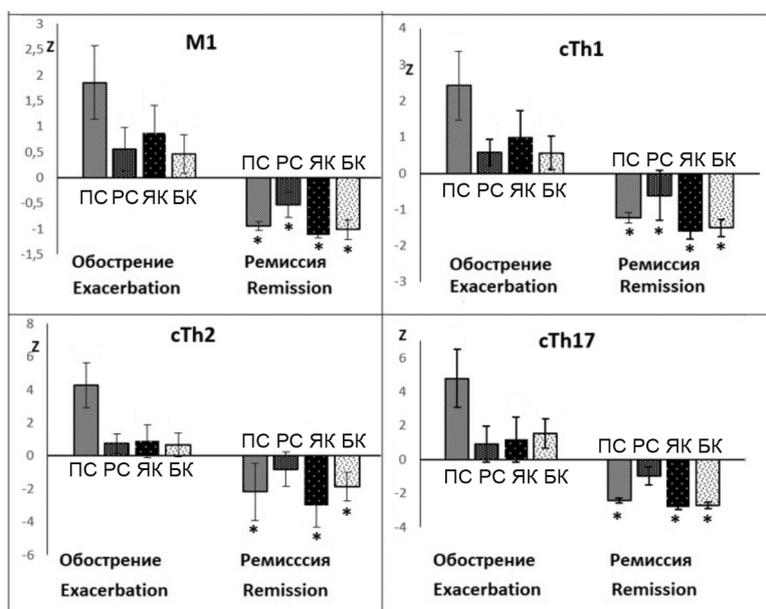


Рис. 1. Z-оценка профилей ЦК, ассоциированных с различными типами клеток, у больных при обострении и ремиссии.
 * $p < 0,05$ по сравнению с обострением.

Fig. 1. Z-evaluation of cytokine profiles associated with various cell types in patients with exacerbation and remission.
 * $p < 0.05$ compared with exacerbation.

ЦКК был значительно увеличен при обострении течения заболевания (табл. 4). У пациентов с РС существенные различия между пациентами при обострении и ремиссии наблюдались для fTh17, fTh22, fTh2. Уровни ЦКК были значительно снижены у больных РС по сравнению с пациентами с ПС как при обострении, так и в ремиссии. Уровни ЦКК fTh17 у больных РС были существенно уменьшены по сравнению с пациентами с БК как при обострении, так и в ремиссии. Уровни ЦКК были значительно снижены у больных РС при обострении, чем у пациентов с ЯК, для fIL12 и fTh22. У больных ЯК отмечались существенно уменьшенные уровни ЦК fTh17-профиля как при обострении, так и при ремиссии по сравнению с пациентами с БК. Между пациентами с БК и ЯК значимая разница отмечалась для fTh17 как при обострении, так и при ремиссии заболевания.

Для больных с ПС, РС, ЯК и БК был проведён ROC-анализ и выявлены пороговые значения ЦК, которые позволяют дифференцировать состояния обострения и ремиссии. ROC-кривые для существенно различающихся ЦКК при разных болезнях у детей представлены на рис. 2.

Кроме представленных профилей ЦКК для каждой из изученных болезней нами получены ROC-кривые с отличным и очень хорошим качеством разделительной модели, за исключением больных РС (только для cTh1). Для пациентов с ПС отличное качество разделительной модели получено для fIL12 (AUC = 0,932; cut-off — 1431,4 пг/мл; Sn — 80%; Sp — 80%) и очень хорошее качество для M1 профиля (AUC = 0,816; cut-off — 27 пг/мл; Sn — 80%; Sp — 80%). Для ЯК, помимо представленного профиля M1, получено очень

хорошее качество разделительной модели для fTh22 (AUC = 0,830; cut-off — 1131,8 пг/мл; Sn — 81%; Sp — 80%). Для fTh22 получено очень хорошее качество разделительной модели для БК (AUC = 0,859; cut-off — 1340,2 пг/мл; Sn — 82%; Sp — 83%). Проведённые расчеты показали, что для пациентов с БК получены наибольшие пороговые значения по сравнению с другими болезнями.

Обсуждение

Установлено, что при ПС, РС, ЯК и БК патогенетически значимые ЦКК, ассоциированные с клетками и функциями макрофагальных (M1) клеток, а также Th1, Th2, Th17 клеток, существенно повышены у больных при обострении течения болезни, чем при ремиссии. В нашей работе был использован подход, который ранее был описан у взрослых пациентов с ПС [22].

Нами показано, что у больных детей с ПС, РС, ЯК, БК уровни ЦКК, продуцируемых значимыми в патогенезе заболевания клетками M1 (отвечающие за врождённый иммунитет), Th1, Th2, Th17, значительно увеличены в крови при обострении течения этих заболеваний, чем при ремиссии. При этом уровни ЦКК cTh1 при обострении течения этих болезней существенно не различались. Уровни ЦКК как при обострении, так и при ремиссии были наибольшими у пациентов с БК, а наименьшими — у больных РС, что может быть связано с большей площадью поражения тканей.

Проведённый ROC-анализ выявил пороговые значения для прогноза обострения заболевания на фоне проводимой терапии у пациентов с ПС, РС, ЯК и БК. При этом максимальные пороговые уровни были у пациентов с БК, а наименьшие — у больных РС.

Таблица 4 / Table 4

Изменения содержания ЦКК, ассоциированных с функциями клеток, у пациентов при обострении и ремиссии ПС, РС, ЯК, БК, Ме
($Q_{25}-Q_{75}$)
Changes in the content of cytokine complexes associated with cell functions in patients with exacerbation and remission of PS, MS, UC, CD, Me ($Q_{25}-Q_{75}$)

ЦКК Cytokine complex	Группа 1 — ПС Group 1 — PS n = 30/59	Группа 2 — РС Group 2 — MS n = 34/32	Группа 3 — ЯК Group 3 — UC n = 33/20	Группа 4 — БК Group 4 — CD n = 48/32	Достоверность
fTh17					
Обострение Exacerbation	74,3* (37,3–104,6)	46,3* (11,9–56,3)	42,7* (28,9–93,3)	88,6* (56,8–166,5)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,008$
Ремиссия Remission	25,2* (22,6–40,20)	18,7* (4,7–41,6)	19,3* (12,2–28,4)	35,7* (18,0–59,6)	$p_{1-2} < 0,021$ $p_{1-3} = 0,013$ $p_{2-4} = 0,041$ $p_{3-4} = 0,035$
fIL12					
Обострение Exacerbation	3112,5* (1967,5–5623,5)	1326,0 (803,9–1863,6)	1975,5* (1559,2–4331,3)	3607,3* (2144,9–8968,3)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,007$
Ремиссия Remission	1489,2* (1137,8–1860,8)	991,3 (567,4–1497,0)	1177,1* (937,4–1537,5)	1291,1* (972,0–1702,6)	$p_{1-2} < 0,003$ $p_{1-3} = 0,019$
fReg					
Обострение Exacerbation	505,6* (372,9–1125,1)	349,6 (215,4–472,4)	454,3* (239,3–793,2)	491,3* (367,1–814,1)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,014$ $p_{2-4} < 0,001$
Ремиссия Remission	295,0* (251,9–424,8)	245,5 (159,4–354,7)	219,2* (176,2–258,4)	303,3* (222,7–483,1)	$p_{1-2} < 0,019$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{3-4} = 0,005$
fTh22					
Обострение Exacerbation	2230,7* (1615,0–3022,0)	972,5* (502,1–1512,9)	1589,2* (1172,8–2297,2)	2295,6* (1474,1–3823,5)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$
Ремиссия Remission	1034,5* (848,2–1231,0)	616,3* (213,8–1029,0)	811,4* (698,9–1045,2)	840,3* (401,8–1163,5)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,018$ $p_{1-4} = 0,040$ $p_{2-3} = 0,042$
fTh2_mast					
Обострение Exacerbation	620,9* (437,2–1156,7)	344,4 (224,9–480,5)	467,3* (261,1–979,2)	587,2* (441,5–987,1)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,014$ $p_{2-4} < 0,001$
Ремиссия Remission	304,570* (266,0–434,1)	264,7 (189,1–370,1)	247,2* (187,9–289,9)	324,8* (251,9–492,8)	$p_{1-3} = 0,003$ $p_{3-4} = 0,008$
fTh2					
Обострение Exacerbation	392,4* (315,9–1095,9)	334,8* (200,6–457,9)	259,4* (200,7–758,0)	390,7* (277,9–680,6)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} = 0,004$ $p_{2-4} = 0,018$
Ремиссия Remission	276,6* (214,5–406,1)	229,8* (144,3–329,8)	202,9* (138,6–236,6)	275,4* (204,4–440,4)	$p_{1-2} = 0,034$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{3-4} = 0,004$

Примечание, * $p < 0,05$,Note, * $p < 0,05$,

Заключение

Установлены значимые различия уровней ЦКК при обострении и ремиссии ПС, РС, ЯК и БК у больных. Выявлено существенное уменьшение уровней ЦКК у больных РС по сравнению с ПС, ЯК и БК как при обо-

стрении заболевания, так и при ремиссии. Определены пороговые значения концентраций ЦКК, выше которых можно прогнозировать снижение эффективности биологической терапии у пациентов с ПС, РС, ЯК и БК. Для оценки эффективности проводимой терапии можно рекомендовать оценивать не полный спектр от-

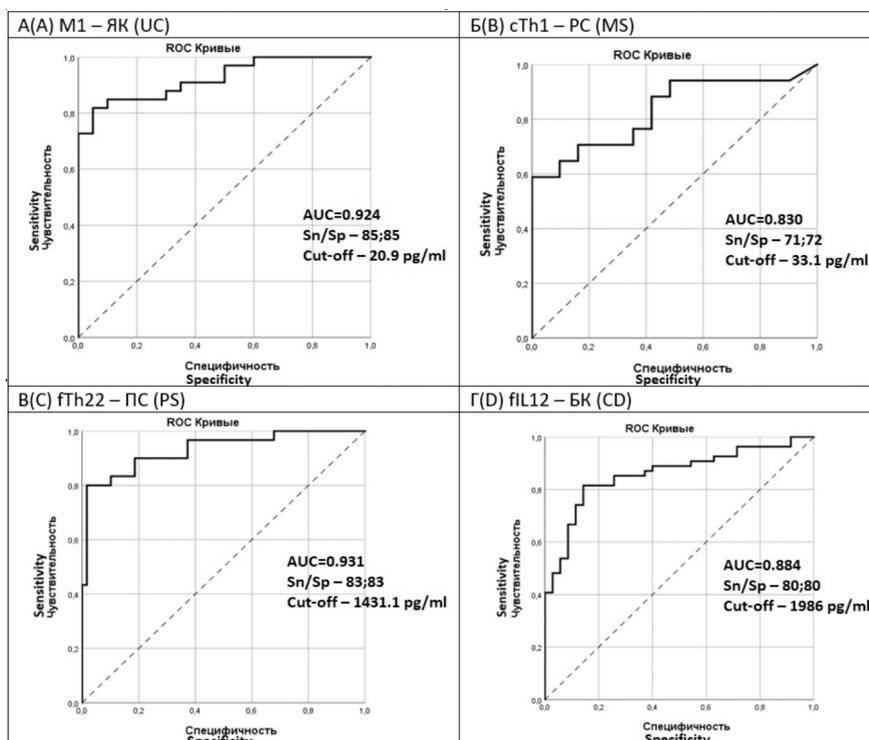


Рис. 2. ROC-кривые для ЦКК у детей с ПС, РС, ЯК и БК.

Fig. 2. ROC curves for cytokine complexes M1, cTh1, fTh22, fIL12 in PS, MS, UC, and CD children.

дельных провоспалительных ЦК, а определённые ЦКК: для ПС — fTh22 (IL12 + IL22), для РС — cTh1 (IFN γ + IL12p70 + TNF β + IL2), для ЯК — M1 (IL1 + IL6 + TNF α), для БК — fIL12 (IL12 + IL23 + IL27).

Литература

(п.п. 1–7; 10–22 см. References)

8. Купцова Д.Г., Петричук С.В., Мурашкин Н.Н., Радыгина Т.В., Курбатова О.В. Содержание субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺ клеток памяти и уровень циркулирующих цитокинов при псориазе у детей. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2022; 19(3): 163–72. <https://doi.org/10.22138/2500-0918-2022-19-3-163-172> <https://elibrary.ru/rlzjak>
9. Мирошкина Л.В., Петричук С.В., Цимбалова Е.Г., Потапов А.С., Венедиктова М.М., Топтыгина А.П. и др. Цитокиновый профиль у детей с воспалительными заболеваниями кишечника как предиктор эффективности терапии инфликсимабом. *Вопросы диагностики в педиатрии*. 2013; 5(4): 33–8. <https://elibrary.ru/reiglX>

References

1. Jung S.M., Kim W.U. Targeted immunotherapy for autoimmune disease. *Immune Netw.* 2022; 22(1): e9. <https://doi.org/10.4110/in.2022.22.e9>
2. Isaacs A., Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1957; 147(927): 258–67. <https://doi.org/10.1098/rspb.1957.0048>
3. van de Veerdonk F.L., Stoekman A.K., Wu G., Boeckermann A.N., Azam T., Netea M.G., et al. IL-38 binds to the IL-36 receptor and has biological effects on immune cells similar to IL-36 receptor antagonist. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012; 109(8): 3001–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1121534109>
4. Turner M.D., Nedjai B., Hurst T., Pennington D.J. Cytokines and chemokines: at the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim. Biophys. Acta.* 2014; 1843(11): 2563–82. <https://doi.org/10.1016/j.bbamer.2014.05.014>
5. Chetaille Nézondet A.L., Poubelle P.E., Pelletier M. The evaluation of cytokines to help establish diagnosis and guide treatment of au-

- toinflammatory and autoimmune diseases. *J. Leukoc. Biol.* 2020; 108(2): 647–57. <https://doi.org/10.1002/JLB.5MR0120-218RRR>
6. Conrad N., Misra S., Verbakel J.Y., Verbeke G., Molenberghs G., Taylor P.N., et al. Incidence, prevalence, and co-occurrence of autoimmune disorders over time and by age, sex, and socioeconomic status: a population-based cohort study of 22 million individuals in the UK. *Lancet.* 2023; 401(10391): 1878–90. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)00457-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)00457-9)
7. Ott A., Tutdibi E., Goedicke-Fritz S., Schöpe J., Zemlin M., Nourkani-Tutdibi N. Serum cytokines MCP-1 and GCSF as potential biomarkers in pediatric inflammatory bowel disease. *PLoS One.* 2023; 18(11): e0288147. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0288147>
8. Kuptsova D.G., Petrichuk S.V., Murashkin N.N., Radygina T.V., Kurbatova O.V. Contents of CD4⁺ and CD8⁺ memory cell subpopulations and circulating cytokine levels in psoriasis in children. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki.* 2022; 19(3): 163–72. <https://doi.org/10.22138/2500-0918-2022-19-3-163-172> <https://elibrary.ru/rlzjak> (in Russian)
9. Miroshkina L.V., Petrichuk S.V., Tsimbalova E.G., Potapov A.S., Venediktova M.M., Topotygina A.P., et al. Cytokine profile as predictor of infliximab therapy effectiveness in children with inflammatory bowel diseases. *Voprosy diagnostiki v pediatrii.* 2013; 5(4): 33–8. <https://elibrary.ru/reiglX> (in Russian)
10. Magro F., Gionchetti P., Eliakim R., Ardizzone S., Armuzzi A., Barreiro-de Acosta M., et al. Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. Part 1: definitions, diagnosis, extra-intestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders. *J. Crohns Colitis.* 2017; 11(6): 649–70. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjx008>
11. Kaser A., Adolph T.E., Blumberg R.S. The unfolded protein response and gastrointestinal disease. *Semin. Immunopathol.* 2013; 35(3): 307–19. <https://doi.org/10.1007/s00281-013-0377-5>
12. Pavlidis S., Monast C., Loza M.J., Branigan P., Chung K.F., Adcock I.M., et al. I_MDS: an inflammatory bowel disease molecular activity score to classify patients with differing disease-driving pathways and therapeutic response to anti-TNF treatment. *PLoS Comput. Biol.* 2019; 15(4): e1006951. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006951>
13. Menegatti S., Bianchi E., Rogge L. Anti-TNF therapy in spondyloarthritis and related diseases, impact on the immune system and

- prediction of treatment responses. *Front. Immunol.* 2019; 19(10): 382. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00382>
14. Privitera G., Pugliese D., Rapaccini G., Gasbarrini A., Armuzzi A., Guidi L. Predictors and early markers of response to biological therapies in inflammatory bowel diseases. *J. Clin. Med.* 2021; 10(4): 853. <https://doi.org/10.3390/jcm10040853>
 15. Wang Q., Yan D., Zheng S., Li M., Li J., Fu X., et al. Cytokine profiles and the relationship of disease severity in patients with psoriasis. *Indian J. Dermatol.* 2022; 67(2): 204. https://doi.org/10.4103/ijd.ijd_79_22
 16. Kobayashi T., Siegmund B., Le B.C., Wei S.C., Ferrante M., Shen B., et al. Ulcerative colitis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2020; 6: 74. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0205-x>
 17. Bai Z., Chen D., Wang L., Zhao Y., Liu T., Yu Y., et al. Cerebrospinal fluid and blood cytokines as biomarkers for multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis of 226 studies with 13,526 multiple sclerosis patients. *Front. Neurosci.* 2019; 13: 1026. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01026>
 18. Maes M., Carvalho A.F. The compensatory immune-regulatory reflex system (CIRS) in depression and bipolar disorder. *Mol. Neurobiol.* 2018; 55(12): 8885–903. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1016-x>
 19. Cala C.M., Moseley C.E., Steele C., Dowdy S.M. T cell cytokine signatures: Biomarkers in pediatric multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 2016; 297: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.04.015>
 20. Zhang J.M., An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int. Anesthesiol. Clin.* 2007; 45(2): 27–37. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>
 21. Chen Z., Bozec A., Ramming A., Schett G. Anti-inflammatory and immune-regulatory cytokines in rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2019; 15(1): 9–17. <https://doi.org/10.1038/s41584-018-0109-2>
 22. Cataldi C., Mari N.L., Lozovoy M.A.B., Martins L.M.M., Reiche E.M.V., Maes M., et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine profiles in psoriasis: use as laboratory biomarkers and disease predictors. *Inflamm. Res.* 2019; 68(7): 557–67. <https://doi.org/10.1007/s00011-019-01238-8>
- Сведения об авторах:**
Фисенко Андрей Петрович, доктор мед. наук, проф., директор ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, director@nczd.ru;
Петричук Светлана Валентиновна, доктор биол. наук, проф., гл. науч. сотр., лаб. экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, cito@list.ru;
Купцова Дарья Геннадьевна, врач клинико-диагностической лаб., мл. науч. сотр., лаб. экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, dg.kuptsova@gmail.com;
Курбатова Ольга Владимировна, канд. мед. наук., ст. науч. сотр., и.о. зав. лаб. экспериментальной иммунологии и вирусологии, врач клинико-диагностической лаб., ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, putintseva@mail.ru;
Фрейдлин Екатерина Валерьевна, лаборант-исследователь, лаб. экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, frdl-cito@mail.ru;
Потапов Александр Сергеевич, доктор мед. наук, проф., гл. науч. сотр., лаб. научных основ детской гастроэнтерологии и гепатологии, зав. гастроэнтерологическим отделением с гепатологической группой ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России; проф. каф. педиатрии и детской ревматологии ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), potapov@nczd.ru;
Мурашкин Николай Николаевич, доктор мед. наук, проф., руководитель НИИ детской дерматологии, зав. отд-нием дерматологии с группой лазерной хирургии, зав. лаб. патологии кожи у детей отдела научных исследований в педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России; проф. каф. дерматовенерологии и косметологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ; проф. каф. педиатрии и детской ревматологии ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), m_nn2001@mail.ru;
Бурсагова Бэлла Ибрагимовна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. редких наследственных болезней у детей Медико-генетического центра, заместитель по лечебной работе отд-ния психоневрологии и нейрореабилитации Центра детской психоневрологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, bursagova@nczd.ru;
Абдуллаева Луизат Муслимовна, мл. науч. сотр. лаб. редких наследственных болезней у детей Медико-генетического центра, врач-невролог отд-ния психоневрологии и нейрореабилитации Центра детской психоневрологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, abdullaeva.lm@nczd.ru;
Семикина Елена Леонидовна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр. лаб. экспериментальной иммунологии и вирусологии, руководитель лабораторного отдела ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России; проф. каф. педиатрии и детской ревматологии ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), semikinaelena@yandex.ru