

Н.С. Чепурнова¹, О.Н. Бирко^{1,2}, Я.А. Юцковская², Л.В. Герасименко¹, Д.Е. Русанова¹,
А.Г. Петухова¹, Е.В. Маркелова¹

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН РАЗНОГО ВОЗРАСТА

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской
Федерации (г. Владивосток);

²ООО «Профессорская клиника Юцковских» (г. Владивосток)

Резюме. В статье представлены результаты исследования цитокинового профиля сыворотки венозной крови 100 практически здоровых женщин разных возрастных групп (ИЛ-1β, ФНО-α, ИФН-γ, ИЛ-4 и ИЛ-10), проведенного методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Показано относительное превалирование Th 1 типа ответа у практически здоровых женщин в пожилом возрасте, что отражает напряженность иммунных реакций против внутриклеточных патогенов и свидетельствует об усилении процессов гиперчувствительности замедленного типа. Выявленные особенности требуют дальнейшего изучения, в том числе с учетом гормональной регуляции.

Ключевые слова: цитокины, фенотип иммунного ответа, практически здоровые женщины.

Образец цитирования: Чепурнова Н.С., Бирко О.Н., Юцковская Я.А., Герасименко Л.В., Русанова Д.Е., Петухова А.Г., Маркелова Е.В. Состояние системы цитокинов у женщин разного возраста // Цитокины и воспаление. – 2022. – Т. 19, № 1-4. – С. 80-84.

N.S. Chepurnova¹, O.N. Birko^{1,2}, Ya.A. Yutskovskaya², L.V. Gerasimenko¹, D.E. Rusanova¹,
A.G. Petukhova¹, E.V. Markelova¹

THE STATE OF THE CYTOKINE SYSTEM IN WOMEN OF DIFFERENT AGES

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Pacific State Medical University»
of the Ministry of Health of the Russian Federation (Vladivostok);

²LLC «Professor's Clinic of the Yutskovskis» (Vladivostok)

Resume. The article presents the results of a study of the cytokine profile of venous blood serum of 100 practically healthy women of different age groups (IL-1β, TNF-α, IFN-γ, IL-4 and IL-10), conducted by the sandwich variant of solid-phase enzyme immunoassay. The relative prevalence of Th 1 type of response in practically healthy women in old age is shown, which reflects the intensity of immune reactions against intracellular pathogens and indicates an increase in delayed hypersensitivity processes. The identified features require further study, including taking into account hormonal regulation.

Keywords: cytokines, immune response phenotype, practically healthy women.

В настоящее время практически в каждой медицинской специальности обсуждается раннее старение организма и роль возраст-зависимых заболеваний в его основе. В этой связи возрастает значение своевременного выявления и персонализированной коррекции иммунной дисфункции, поскольку ученые убеждены, что именно фенотипам иммунного ответа принадлежит главная роль в патогенезе старения организма.

В настоящее время рассматривают основные четыре типа адаптивного иммунного ответа, которые регулируются разными популяциями Т-лимфоцитов, а именно, Th 1, Th 2, Th 17 и Т-регуляторными клетками [2; 8], в основу классификации положено

два признака – набор транскрипционных факторов и индуцируемых ими цитокинов. Th 1 типа имеют транскрипционный фактор Tbet и продуцируют ИФН-γ, ФНО-α и ИЛ-2, Th 1 иммунный ответ важен для борьбы с внутриклеточными бактериями, вирусами, грибами, в противоопухолевой защите. Th 2 лимфоциты активируются через транскрипционный фактор Gata 3, продуцируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13 и ИЛ-10 и важны в защите от гельминтов и простейших. Характерным для Th 17 типа лимфоцитов транскрипционным фактором является RORγt, передача сигнала через который опосредует продукцию ИЛ-17 и ИЛ-22, необходимых для уничтожения внеклеточных бактерий. При превалировании Th 17 типа иммунного ответа

активируются нейтрофилы и эпителиальные клетки [8]. Th 17 клетки продуцируют ИЛ-17 А, ИЛ-17 F и ИЛ-22, которые привлекают нейтрофилы и активируют синтез антимикробных пептидов в клетках эпителия [3]. Считается, что иммунный ответ, развивающийся по Th 17 типу, наиболее важен на начальных этапах тканевого воспаления и защиты слизистых. Однако при его гиперактивации возможно развитие аутоиммунных реакций [2; 5]. Т-регуляторные клетки контролируют все формы ответа, имеют транскрипционный фактор Foxp 3, продуцируют ИЛ-10 и ТФРβ. Следует отметить, что классификация цитокинов затруднена из-за перекреста и многогранности функций многих из них [8; 6].

Целью исследования явилось изучение сыровоточных уровней провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у женщин разных возрастных групп для определения преобладающего типа иммунного ответа.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужила сыровотка крови 100 практически здоровых женщин, которые были распределены на 3 подгруппы в зависимости от возраста (ВОЗ): 18-44 (молодой возраст) – 30 человек, 45-59 (средний возраст) – 40 человек, 60-74 (пожилой возраст) – 30 человек. Определение уровня ИЛ-1β, ФНО-α, ИФН-γ, ИЛ-4 и ИЛ-10 в сыровотке крови проводили с помощью специфических реактивов фирмы R&D Diagnostics Inc. (USA) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа, согласно прилагаемым инструкциям. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора Multiscan (Финляндия). Расчет количества цитокинов проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10 и R. Данные представляли в виде медианы и двух квартилей (Ме,

Q25, Q75). Внутри- и межгрупповые различия оценивали с помощью критерия Манна-Уитни в рамках прикладной программы. Уровень доверительной вероятности был задан равным 95 %, т.е. нулевые гипотезы отвергались в том случае, когда достигнутый уровень значимости Р используемого статистического критерия принимал значения менее 5 %. Объем выполненных исследований позволял оценить результаты с достоверностью 95-99 % при использовании соответствующих статистических методов.

Результаты и обсуждение

При исследовании уровня провоспалительных цитокинов обнаружено повышение значений ИЛ-1β и ФНО-α у пациенток пожилого возраста по сравнению с группами молодого и среднего возраста ($p < 0,05$, табл. 1). Уровень ИФН-γ во всех возрастных группах женщин статистически значимо не отличался.

Определены разнонаправленные изменения содержания противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови у обследованных женщин. Так, уровень ИЛ-10 был самым высоким у женщин в возрасте от 45 до 59 лет ($p < 0,001$, табл. 2). Самые низкие значения ИЛ-10 обнаружены у пациенток в возрасте от 60 до 74 лет ($p < 0,05$, табл. 2).

Уровень ИЛ-4 также был самым высоким в возрастной группе женщин от 45 до 59 лет ($p < 0,05$), а самые низкие его значения выявлены в третьей возрастной группе (табл. 2). Анализ удельного веса цитокинов в сыворотке крови у обследованных женщин показал повышение доли ИЛ-1β и ФНО-α в профиле в группах женщин в возрасте от 60 до 74 лет. Уровни ИЛ-4 и ИЛ-10 в этих возрастных группах, напротив, снижались: ИЛ-4 – также в 2 раза, а ИЛ-10 – в 8 раз.

При сравнении показателей цитокинового профиля сывороток крови женщин, включенных в исследование, с данными, опубликованными другими авторами, в том числе с исследованиями, проводившимися в Приморском крае, были установлены некоторые отличия, что, по нашему мнению, в опре-

Таблица 1

Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у обследованных женщин в зависимости от возраста

№	Показатели Ме; Q25; Q75 пг/мл	30-44 года n=30	45-59 года n=40	60-74 лет n=30
		1	2	3
1	ИЛ-1β	1,1 (0,7; 3,0) $p_{-3} < 0,05$	1,22 (0,79; 4,38) $p_{2-3} < 0,05$	3,29 (0,77; 7,25)
2	ФНО-α	2,0 (0,95; 4,38) $p_{1-3} < 0,05$	2,84 (1,32; 9,04) $p_{2-3} < 0,05$	7,20 (2,26; 19,89)
5	ИФН-γ	13,36 (4,06; 19,80)	15,24 (5,62; 19,84)	16,20 (1,46; 28,50)

Примечание: $p_{1,2,3}$ – сравниваемые группы (указаны только статистически значимые различия).

деленной мере может быть связано с гендерными и возрастными отличиями практически здоровых людей. Но так как в исследование Сайбель А.В. (2013) [7] были включены только женщины, но в возрасте от 30 до 59 лет, а в ряде источников возраст контрольной группы не указан, в большей мере выявленные различия связываем с возрастными изменениями. Для анализа влияния этого фактора мы распределили женщин на группы молодого, среднего и пожилого возраста и сравнили показатели цитокинового профиля. Данные представлены в табл. 3. Было зафиксировано, что уровень ИЛ-1 β сопоставим с данными, полученными Е.В. Маркеловой с соавт. (2016) [4], Е.П. Турмовой с соавт. (2017) [1] и О.С. Слеповой

с соавт. (2016, в старшей возрастной группе) [9], но ниже значений пациентов О.С. Слеповой с соавт. (2016) в возрасте 26,6 $\pm$ 5 лет (табл. 3). ФНО- α был выше значений, полученных А.В. Сайбель с соавт. (2013) [7] и Е.В. Маркеловой с соавт. (2016, $p<0,05$) [4], за счет выраженной вариативности индивидуальных результатов. Уровни ИФН- γ были сопоставимы с данными, полученными в ходе исследований А.В. Сайбель с соавт. (2013), Е.В. Маркеловой с соавт. (2016) [4], но оказались более высокими по сравнению с результатами Е.П. Турмовой с соавт. (2017) [1]. Не определено существенных различий в уровне ИЛ-4 по сравнению с данными литературы (табл. 3). Значения ИЛ-10 в группах настоящего исследова-

Таблица 2

Содержание противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови у обследованных женщин в зависимости от возраста

№	Показатели Ме; Q ₂₅ ; Q ₇₅ пг/мл	30-44 года n=30	45-59 лет n=40	60-74 года n=30
		1	2	3
1	ИЛ-10	6,3 (1,86; 10,83) $p_{1-3}<0,05$	7,4 (2,02; 19,00) $p_{2-3}<0,001$	2,37 (0,89; 4,01)
2	ИЛ-4	11,00 (3,64; 14,50) $p_{1-2}<0,05$	14,85 (4,00; 18,86) $p_{2-3}<0,05$	9,60 (1,80; 12,00)

Примечание: $p_{1,2,3}$ – сравниваемые группы (указаны только статистически значимые различия).

Таблица 3

Сравнительные результаты показателей цитокинового профиля сыворотки крови обследуемых женщин и данных других авторов

№ п/п	Показатели пг/мл	Контрольная группа					Обследованные женщины n=100 ME (Q ₂₅ ; Q ₇₅)
		Сайбель А.В. с соавт., 2013; ME (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Маркелова Е.В. с соавт., 2017; ME (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Турмова Е.П. с соавт., 2017; ME (Q ₂₅ ; Q ₇₅)	Слепова О.С. с соавт., 2016; M±σ		
					Возраст 26,6±5 лет	Возраст 69,3±3 года	
		1	2	3	4	5	6
1	ИЛ-1β	–	1,09 (1,23; 2,37) p ₂₋₄ <0,05	1,2 (0,5; 9,2) p ₃₋₄ <0,05	17,5±5,5	0,65±0,5 p ₄₋₅ =0,04	1,72 (0,70; 4,18) p ₄₋₆ <0,05
2	ФНО-α	3,83 (2,19;6,67)	3,83 (2,19;6,67) p ₂₋₆ <0,05	4,8 (2,2; 7,9)	–	–	4,94 (1,26; 19,89)↑ p ₁₋₆ <0,05
3	ИФН-γ	12,52 (7,4;27,52)	–	5,5 (3,8; 14,5) p ₃₋₆ <0,05	–	–	14,58 (4,16; 24,80)
4	ИЛ-10	11,77 (4,70;23,19) p ₁₋₃ <0,01 p ₁₋₄ <0,001 p ₁₋₅ <0,01	8,17 (4,61; 11,87) p ₂₋₃ <0,05 p ₂₋₄ <0,05 p ₂₋₅ <0,05	36,7 (20,7; 60,1) p ₃₋₄ <0,001 p ₃₋₅ <0,001	2,6±1,4	3,2±1,5	5,45 (2,66; 13,58) p ₁₋₆ <0,05 p ₃₋₆ <0,05
5	ИЛ-4	9,28 (5,0;10,60)	–	–	–	–	10,2 (3,0; 16,35)

Примечание: $p_{1,2,3,4,5,6}$ – сравниваемые группы (указаны только статистически значимые различия).

**Соотношения регуляторных коэффициентов в сыворотке венозной крови
практически здоровых женщин**

Коэффициент	30-44 года n=30	45-59 лет n=40	60-74 года n=30
	1	2	3
ИФН-γ/ИЛ-4	1,21±0,1	1,06±0,13	1,68±0,32
ФНО-α +ИФН-γ/ИЛ-10+ИЛ-4	0,88±0,2	0,84±0,14	2,12±0,54 p ₁₋₃ <0,01 p ₂₋₃ <0,01

Примечание: p_{1,2,3} – сравниваемые группы (указаны только статистически значимые различия).

ния были в 6 раз ниже данных Турмовой Е.П. с соавт. (2017, p<0,01) [1] и в 1,5 раза ниже представленных А.В. Сайбель с соавт. (2013, p<0,05) [7], но не отличались от результатов О.С. Слеповой с соавт. (2016) (табл. 3) [9]. Таким образом, проведенный анализ позволяет констатировать, что показатели цитокинового профиля у женщин сопряжены с возрастом. У женщин пожилого возраста выявлено повышение сывороточной концентрации ИЛ-1β, ФНО-α на фоне снижения ИЛ-4 и дефицита ИЛ-10. Для определения фенотипа иммунного ответа у обследованных женщин нами были исследованы регуляторные коэффициенты соотношения ИФН-γ/ИЛ-4, а также ФНО-α+ИФН-γ/ИЛ-10+ИЛ-4. Так, уровень регуляторного коэффициента ИФН-γ/ИЛ-10 в сыворотке венозной крови во всех возрастных группах был сопоставим (табл. 4). При исследовании регуляторного коэффициента ФНО-α+ИФН-γ/ИЛ-10 нами зафиксировано повышение его уровня в 2,4 раза у практически здоровых женщин в группе пожилого возраста в сравнении с остальными группами женщин (p<0,01).

Подводя итоги, нами было установлено, что именно в группе женщин пожилого возраста в большей степени превалирует Th 1 тип иммунного ответа, который играет важную роль в развитии реакций клеточного иммунитета, направленных против внутриклеточных патогенов, в то же время участвует в реакциях гиперчувствительности замедленного типа. Это указывает на то, что в разном возрастном периоде интенсивность Th 1 фенотипа разная и зависит от ряда причин, в том числе гормональной регуляции. Показано относительное превалирование Th 1 типа ответа у практически здоровых женщин, однако в пожилом возрасте девиация иммунного ответа с преобладанием Th 1 фенотипа усиливается. Это, с одной стороны, отражает напряженность иммунных реакций против внутриклеточных патогенов, с другой стороны, свидетельствует об усилении процессов гиперчувствительности замедленного типа. Выявленные особенности требуют дальнейшего изучения, в том числе с учетом гормональной регуляции.

Список литературы / References

1. Атеросклероз: иммуногенетические и метаболические аспекты патогенеза: монография / Е.П. Турмова [и др.]. – Владивосток: Медицина ДВ, 2017. – 172 с.
2. Иммунология: Учебник для студентов / А.А. Ярилин. – Москва: ГЕОТАР-Медиа, 2010. – 749 с.
3. Караулов А.В. Микрофлора, колонизационная резистентность слизистых и мукозальный иммунитет / А.В. Караулов, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, Е.А. Воропаева и др. // Иммунология. – 2015. – № 5. – С. 290-294.
4. Клинико-иммунологические аспекты глаукомной оптической нейропатии: Монография / Под ред. Е.В. Маркеловой [и др.]. – Владивосток: Медицина ДВ, 2017. – 204 с.
5. Козлов В.А. Клиническая иммунология. Практическое пособие для инфекционистов / В.А. Козлов, Е.П. Тихонова, А.А. Савченко и др. – Красноярск: Издательство Поликор, 2021. – 576 с.
6. Козлов В.А. Очерки о функциональной настроенности иммунной системы / В.А. Козлов. – Красноярск: Версо, 2022. – 252 с.
7. Сайбель А.В. Клинико-иммунологическая характеристика хронической рецидивирующей и латентной герпетической инфекции и обоснование алгоритма ботулинотерапии на ее фоне: Автор. дис. ... к-та мед. наук / А.В. Сайбель; Тихоокеан. гос. мед. ун-т. – Владивосток: [б. и.], 2013. – 22 с.
8. Симбирцев А.С. Иммунофармакологические аспекты системы цитокинов / А.С. Симбирцев // Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 84-95.
9. Слепова О.С. Цитокины в слезной жидкости и сыворотке крови как ранние биомаркеры возрастной макулярной дегенерации / О.С. Слепова, Е.А. Еремеева, М.В. Рябина, Е.С. Сорожкина // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17, № 3. – С. 245-252.

Сведения об авторах:

Чепурнова Наталья Сергеевна, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2); тел. 8-914-960-60-06; e-mail: dr.cns@yandex.ru.