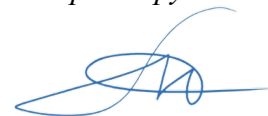


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК
ИМ. И.И.МЕЧНИКОВА»

На правах рукописи



Оспельникова Татьяна Петровна

**Система интерферонов при респираторно-вирусной,
аллергической и аутоиммунной патологии
и пути коррекции нарушений**

3.2.7. Иммунология

1.5.10. Вирусология

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор РАН,
академик РАН

Свитич Оксана Анатольевна,
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Ершов Феликс Иванович

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	18
1.1 Цитокины – факторы регуляции защитных систем организма	18
1.1.1 Структура и функции интерферонов.....	21
1.1.2 Молекулярные механизмы действия интерферонов	26
1.2 Система интерферонов при инфекционных и неинфекционных заболеваниях	32
1.2.1 Интерфероны при острых респираторных вирусных инфекциях человека	32
1.2.1.1 Иммунологические нарушения при гриппе.....	36
1.2.1.2 Иммунологические нарушения при новой коронавирусной инфекции COVID-19	39
1.2.2 Роль интерферонов при аллергических заболеваниях	42
1.3 Интерфероны при аутоиммунных заболеваниях	59
1.3 Иммуноактивные препараты.....	76
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	80
2.1 Материалы	80
2.1.1 Клинический материал	80
2.1.2 Культуры клеток.....	92
2.1.3 Вирусы.....	92
2.1.4 Используемые в работе иммуноактивные препараты.....	93
2.2 Методы	94
2.2.1 Культивирование клеток	95
2.2.2 Метод обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени	95
2.2.3 Метод иммуоферментного анализа	96
2.2.4 Иммуофлуоресцентный анализ	97
2.2.5 Метод агрегатгемагглютинации	97
2.2.6 Микробиологическое исследование.....	98
2.2.7 Определение биологической активности интерферонов	98
2.2.8 Определение нейтрализующих антител к интерферону-бета.....	99
2.2.9 Статистический анализ результатов.....	99
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	101
3.1 Комплексное исследование системы интерферонов человека в норме и при патологии.....	101
3.1.1 Оптимизация детекции РНК IFN α , IFN β , IFN γ и IFN λ человека с помощью обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени	101

3.1.2 Оптимизация количественного определения активности интерферонов.....	106
3.1.3 Разработка количественного метода определения нейтрализующих антител к препаратам интерферона	110
3.1.4 Определение показателей экспрессии генов IFN трех типов и активности IFN I и II типов у практически здоровых людей.....	113
3.2 Исследование интерферонов при респираторных вирусных инфекциях на локальном и системном уровнях.....	115
3.2.1 Анализ экспрессии генов интерферонов, синтеза белков интерферона и оценка биологической активности интерферона при гриппе.....	116
3.2.2 Анализ экспрессии генов интерферона, синтеза белков интерферона и оценка биологической активности интерферона при новой коронавирусной инфекции	122
3.2.3 Иммунокоррекция нарушений системы интерферонов при гриппе и COVID-19	128
3.3 Индукция и развитие осложнений аллергических заболеваний при респираторных вирусных инфекциях.....	136
3.4 Исследование системы интерферонов при аллергических заболеваниях	141
3.4.1 Особенности системы интерферонов при аллергических заболеваниях дыхательной системы (бронхиальная астма).....	141
3.4.1.1 Изменения цитокинов при сочетанной аллергопатологии бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких.....	144
3.4.1.2 Особенности врожденного иммунитета сочетанной аллергопатологии бронхиальная астма и аллергический ринит	148
3.4.2 Аллергические заболевания поражений кожи (атопический дерматит, хроническая крапивница)	149
3.4.2.1 Исследование системы интерферонов при атопическом дерматите.....	149
3.4.2.2 Исследование системы интерферонов при хронической крапивнице	151
3.4.3 Применение иммуноактивных препаратов при аллергических заболеваниях	154
3.4.3.1 Применение перорального препарата IFN α -2b при аллергическом рините	154
3.4.3.2 Применение иммуноактивных препаратов при бронхиальной астме.....	156
3.4.3.3 Применение индуктора интерферонов при атопическом дерматите	164
3.5 Особенности системы интерферонов при аутоиммунных заболеваниях.....	167
3.5.1 Исследование системы интерферонов у пациентов с диагнозом рассеянный склероз.....	167
3.5.1.1 Влияние иммуноактивных препаратов на систему интерферонов при рассеянном склерозе	171
3.5.1.2 Количественное определение связывающих и нейтрализующих антител, направленных к интерферону	176

3.5.2 Ревматические заболевания (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, болезнь Шегрена, болезнь Бехчета)	181
3.5.2.1 Терапия ревматических заболеваний препаратами интерферонов и другими иммуномодулирующими препаратами	185
3.5.3 Исследование интерферонового статуса при псориазе	187
3.5.3.1 Применение индуктора интерферона при псориазе	187
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	189
ВЫВОДЫ	195
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	197
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	198
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	200
ПРИЛОЖЕНИЯ	253
ПРИЛОЖЕНИЕ А	253
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	256
ПРИЛОЖЕНИЕ В	258

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В настоящее время растет число иммунозависимых заболеваний (ИЗЗ) инфекционной, аллергической и аутоиммунной природы, в патогенезе которых ведущую роль играют нарушения иммунной системы [24, 59, 155]. Так, согласно базе исследований GBD (Global Burden of Disease - глобальное бремя болезней), проведенных в период с 1990 по 2019 гг., в мире показан рост таких заболеваний, как астма, воспалительные заболевания кишечника, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, псориаз, атопический дерматит и др. [331]. Среди этиологических факторов ИЗЗ отмечаются не только нарушения врожденного иммунитета, но и вирусные инфекции, которые могут служить триггерами аллергических и аутоиммунных заболеваний и, несомненно, представляют медицинский, экономический, научный, фармацевтический интересы [420, 598, 622, 669]. Респираторные вирусные инфекции, среди которых выделяют грипп, новую коронавирусную инфекцию COVID-19, аденовирусную инфекцию и другие, могут вызывать хроническое воспаление, нарушения врожденного иммунитета и обострения хронических заболеваний [160, 213, 432, 525, 547]. По данным ВОЗ за 2019 г. выявлено число респираторных инфекций верхних (0.02%) и нижних дыхательных путей (4.41%), отмечено, что респираторные вирусные заболевания прямо и опосредованно являются причиной 23% всех смертей на планете [358]. Ежегодно в течение сезона заболеваемость гриппом составляет примерно 1 миллиард случаев заражения, из которых у 3–5 миллионов развивается тяжелая форма заболевания [668]. По оценкам Global Seasonal Influenza-associated Mortality Collaborator Network, ежегодно в мире регистрируется от 290 000 до 650 000 случаев смерти от респираторных заболеваний, связанных с гриппом [342]. По данным Института Джонса Хопкинса, на март 2023 г. зарегистрировано более 676 млн заболевших COVID-19, среди них летальность составила 6,8 млн человек [612]. Респираторные вирусные заболевания составляют 1,7% от всех смертей в Российской Федерации по данным Роспотребнадзора [57]. Среди населения, обслуживаемого ФМБА России, за 2021 год зарегистрирован 475 851 случай инфекционных заболеваний (учитывая ОРВИ, грипп и COVID-19) с показателем общей заболеваемости 24 086,6 на 100 тысяч населения, что на 15,6 % больше, чем в 2020 году (411 506 случаев с показателем общей заболеваемости 20 829,63 на 100 тысяч населения). На детское население приходится 52 % случаев заболеваний (247 845 случаев) [105, 106]. По данным Росстата только за 2022 г. по COVID-19 процент умерших составил 7,3% [57].

В число наиболее часто встречающихся, по данным ВОЗ, входят аллергические заболевания. Аллергические заболевания (АЗ) по своей распространенности идут после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, всех респираторных инфекций вместе взятых, а в некоторых экологически неблагоприятных регионах выходят на первое место. АЗ диагностируют среди 20% населения мира [340, 667]. Среди основных АЗ следует отметить бронхиальную астму, аллергический ринит, атопический дерматит [670]. В России АЗ распространены от 15 до 35% в зависимости от климато-географической зоны и антропогенного фактора; причем, рост АЗ продолжается [6, 572].

Помимо аллергизации может быть и нарушение иммунологической толерантности, которое присутствует в ряде заболеваний [80, 632]. Аутоиммунные заболевания (АИЗ) определены у 5-10% мирового населения, в Российской Федерации - у 20-25% [240, 583]. В настоящее время рост заболеваемости АИЗ рассматривают как свидетельство нарушений иммунной системы [356, 473]. Описано более 150 АИЗ человека, как системных, так и органоспецифических [99, 172, 583, 615]. Отсутствие этиотропной терапии АИЗ обуславливает поиск молекулярных маркеров аутоиммунных заболеваний и способов их специфической коррекции.

При ИЗЗ ключевую роль играют нарушения цитокинового баланса [58, 365, 395]. Изменения интерферонов, как быстро реагирующей системы, вызывает научный интерес. Следует отметить, что интерфероны (interferon, IFN) были открыты одними из первых цитокинов [418]. IFN видоспецифичны, обладают противовирусными, иммунорегуляторными и другими свойствами посредством регуляции экспрессии IFN-стимулируемых генов (interferon-stimulating genes (ISG)) [299, 437]. Разнообразие функций и взаимное влияние IFN трех типов определяют существование системы IFN, состоящей из IFN, белков, кодируемых ISG, и факторов регуляции [485]. ИЗЗ связаны с нарушениями в иммунной системе, в частности, IFN всех типов, что даёт предпосылки для изучения дисбаланса в системе IFN и возможной дальнейшей коррекции IFN. Одними из подходов к иммунокорректирующей терапии рассматривается применение иммуноактивных препаратов, таких как интерфероны, индукторы интерферонов, иммуномодуляторы, бактериальные лиганды/лизаты [48, 50, 62, 85, 133, 135, 153]. Среди примеров: использование для коррекции препаратов IFN α в терапии и профилактике респираторных вирусных инфекций [48, 66, 104, 194]. В качестве средства профилактики вирусных инфекций, в том числе и COVID-19, у взрослых рассматривают назальный IFN γ [140]. Для коррекции вторичного иммунодефицита при аллергии показан препарат липосомального IFN - Реаферон-ЕС-Липинт, при применении которого снижалась заболеваемость ОРВИ и гриппом [166]. Препараты IFN β применяют как базисные в терапии рассеянного склероза (РС), они снижает частоту клинических обострений заболевания

примерно на 35% и задерживает прогрессирование расстройств [177, 562]. Однако, как любая терапия, длительная интерферонотерапия может иметь свои недостатки. Известно, что часть больных РС (30-50%) не отвечает на IFN β терапию [42, 279, 290]. Это можно связать или с нарушением в сигнальном механизме IFN [324, 362, 406], или с появлением нейтрализующих антител (НАТ) к IFN β в ходе лечения [279, 361]. При длительной терапии РС препаратами IFN β развивается резистентность к лечению, возможно, связанная с образованием нейтрализующих антител (НАТ) против IFN β [212, 279, 301, 456, 492, 585], своевременное количественное определение которых может способствовать переходу на альтернативное лечение.

Комплексное междисциплинарное изучение системы IFN в патогенезе острых респираторных вирусных инфекций, аллергических и аутоиммунных заболеваний является актуальным направлением современных иммунологических исследований. Несомненно, актуальным является комплексное исследование интерферонов на уровнях экспрессии генов, продукции белков, противовирусной активности и изучение роли IFN при заболеваниях, связанных с нарушением иммунитета, и конечно же, поиски путей коррекции этих нарушений в виде иммунокорригирующей терапии.

Степень разработанности темы исследования

Значимость системы IFN в противовирусной защите организма была установлена в середине XX века и доказана с использованием инсерционной инактивации генов IFN *in vitro* и *in vivo*. При инактивации генов рецепторов к IFN α/β и IFN γ значительно возрастала восприимчивость мышей к вирусной инфекции [204, 215, 384, 655]. Респираторные вирусы (респираторно-синтициальный вирус, риновирус, вирус гриппа, аденовирус, SARS-CoV-2 и др.) способствуют развитию бронхиальной астмы (БА) и аллергических заболеваний верхних дыхательных путей с развитием хронического воспаления [313, 499, 544]. Так, респираторные вирусные инфекции вызывают обострения БА и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [423, 499, 546, 550, 656]. При возникающей резистентности к лечению IFN β при рассеянном склерозе возникает необходимость создания тест-системы на количественное выявление нейтрализующих антител (НАТ) против IFN β [119, 212, 279, 456, 585].

Таким образом, необходимость анализа нарушений экспрессии генов, белков и противовирусной активности IFN у человека при исследовании пациентов с воспалительными заболеваниями бронхо-легочной системы (грипп, новая коронавирусная инфекция COVID-19, астма, БА ассоциированная с ХОБЛ, а также аутоиммунного воспалительного дегенеративного заболевания – рассеянный склероз (РС) и других, может служить основой персонализации оптимальных схем лечения и иммунореабилитации.

Цель и задачи исследования

Изучить особенности системы интерферонов на (IFN) уровне экспрессии генов, продукции белков и противовирусной активности в норме, при острых респираторных вирусных инфекциях, аллергических, аутоиммунных заболеваниях людей и при использовании иммуноактивных препаратов.

Для реализации поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Разработать методы определения экспрессии генов IFN, количественного анализа индукции антител против IFN и оптимизировать метод определения активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови;
2. Оценить референтные интервалы с определением экспрессии генов IFN α , β , γ и λ , белков и противовирусной активности IFN у здоровых взрослых людей;
3. Исследовать систему IFN при респираторных инфекциях, вызванных вирусами гриппа A и B; и в результате клинического применения индукторов IFN, иммуномодуляторов;
4. Оценить систему IFN при респираторной инфекции COVID-19, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2; и при использовании вакцины ВП-4;
5. Изучить особенности системы IFN при аллергических заболеваниях (бронхиальная астма, аллергический ринит, атопический дерматит); оценить целесообразность применения сублингвального препарата IFN α -2b, индуктора IFN циклоферона и вакцины ВП-4;
6. Провести сравнительный анализ экспрессии генов, продукции и активности IFN при аутоиммунных заболеваниях (рассеянный склероз, ревматоидный артрит, системная красная волчанка и псориаз) в динамике лечения;
7. Предложить разработанный комплексный подход исследования системы IFN при иммунозависимых заболеваниях.

Научная новизна

Впервые при COVID-19 был выявлен дефицит ($p < 0,05$) биологической активности интерферонов I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, в фазе ремиссии постковидного периода и особенно при обострении заболевания.

При аллергопатологии дыхательной системы (бронхиальная астма, аллергический ринит) и поражений кожи (атопический дерматит, хроническая крапивница) проведен сравнительный анализ противовирусной активности интерферонов I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, и показана достоверно сниженная в среднем в 5 раз активность интерферонов I и II типов по сравнению с показателями физиологической нормы.

Впервые проведенный сравнительный анализ активности интерферонов I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при аутоиммунной патологии (рассеянный склероз, ревматические заболевания, псориаз) показал достоверно сниженную в среднем в 3 раза активность интерферонов I и II типов по сравнению с показателями физиологической нормы.

Впервые проведен комплексный подход исследования в динамике экспрессии генов, продукции белков и определения активности IFN у больных рассеянным склерозом на фоне терапии препаратом IFN β -1a и выявления его корригирующей роли. В ходе лечения показано снижение повышенной в лейкоцитах крови экспрессии IFN α и IFN β до значений показателей у здоровых добровольцев, а также увеличение активности IFN.

Благодаря разработанной биологической методике определения нейтрализующих антител, появилась возможность количественного определения антител к препарату IFN β с возможностью оптимизации эффективности лечения пациентов с рассеянным склерозом. Вероятность образования НАТ определена выше у пациентов с IFN β -1b терапией.

Впервые получены данные по клинической эффективности применения препаратов IFN, индукторов IFN, иммуномодуляторов при аллергических заболеваниях. Клиническая эффективность у пациентов, принимающих сублингвально препарат IFN α -2b, составила 95%; из них в 25% случаев наблюдалось полное устранение симптомов поллиноза. Выявлена эффективность применения препарата индуктора IFN Циклоферон при астме в ремиссии и в фазе обострения заболевания на фоне респираторных инфекций, подтвержденная лабораторными исследованиями. При БА в фазе ремиссии выявлена клиническая эффективность иммуномодулирующего препарата бактериальных лигандов Иммуновак-ВП-4. Снижение заболеваемости ОРВИ и частоты обострений в течение года у пациентов, получавших Циклоферон и Иммуновак-ВП-4, было большим, чем в группе сравнения ($p < 0,05$).

Впервые показана клиническая эффективность применения иммуноактивных препаратов при ОРВИ, в частности, препаратов индукторов IFN (Кагоцел, Циклоферон) и иммуномодулятора (Ингавирин) при гриппе и иммуностимулирующего препарата Иммуновак-ВП-4 при COVID-19 в фазе обострения и ремиссии ($p < 0,05$).

Теоретическая и практическая значимость работы

Научно-практическое значение работы вытекает из результатов исследований. В результате проведенных исследований решена научная проблема, имеющая существенное социально-экономическое значение – разработаны, оптимизированы и апробированы методики, показатели которых могут считаться характеристиками биомаркеров иммунопатологии человека. Разработана мультиплексная система для определения экспрессии генов IFN α , β , γ и λ

при помощи метода обратной транскрипции с последующей ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в реальном времени. Разработан и апробирован метод количественного определения нейтрализующих антител к препаратам IFN, который позволяет предложить практикующим неврологам способ перевода пациентов рассеянным склерозом, резистентных к терапии препаратом IFN β -1b или IFN β -1a, на альтернативное лечение моноклональными антителами. Усовершенствован и апробирован метод определения биологической активности IFN «IFN статус» с возможностью культивирования клеточной культуры Vero в бессывороточной среде Гибрис-1-П, и снижения себестоимости метода. Метод определения биологической активности IFN является важным критерием состояния организма в норме и при различных иммунозависимых заболеваниях инфекционной (вирусной, бактериальной, грибковой) и неинфекционной (аллергической, аутоиммунной, онкологической) этиологии; дает возможность использования в оказании медико-лабораторных услуг населению, сокращает сроки исследования. Открыты общие закономерности снижения активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при иммунозависимых заболеваниях и применение иммуноактивных препаратов приводит к коррекции дефицита биологической активности интерферонов I и II типов, Усовершенствованный метод исследования биологической активности IFN в комплексе с другими лабораторными и клинико-анамнестическими данными поможет оценить правильность тактики лечения и прогнозировать исход иммунозависимого заболевания. К тому же, основа метода может быть использована для контроля биологической активности и качества выпускаемых лекарственных препаратов IFN, а также при скрининговых исследованиях индукторов образования IFN различной химической природы.

Получены новые данные участия системы IFN в мукозальном и системном иммунитете при респираторных инфекциях (грипп, коронавирус, аденовирус), аллергических (атопический дерматит, аллергический ринит, бронхиальная астма, крапивница); системном иммунитете при аутоиммунных (рассеянный склероз, ревматические заболевания, псориаз) заболеваниях, а также у практически здоровых людей. Показатели удельной активности свидетельствуют о дефиците противовирусной защиты при астме и особенно ОРВИ, однако при рассеянном склерозе отмечено компенсаторное перераспределение с преобладанием IFN α . Отличия системы IFN при аллергических заболеваниях от острых вирусных инфекций включают: отсутствие экспрессии гена IFN β , выявление РНК IFN α в 58,3% образцах и РНК IFN λ - в 42,9% образцах и низкий уровень РНК IFN-стимулированного противовирусного белка MxA в индуцированной мокроте пациентов с астмой. Концентрации IFN γ ($p < 0,001$) в сыворотке крови при БА значительно превышали значения у здоровых добровольцев. Выявлено, что

бронхолегочные и кожные аллергические заболевания сопровождаются однонаправленным снижением активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови.

При респираторных вирусных инфекциях показаны отличия системы IFN в мазках носоглотки и в крови. У всех пациентов при гриппе показана экспрессия генов IFN β и IFN λ , РНК IFN γ присутствовала в 50% мазков при отсутствии РНК IFN α . При инфекции коронавирусом SARS-CoV-2 обнаружена сниженная экспрессия IFN λ в мазках по сравнению со здоровыми добровольцами. При острой инфекции ДНК-содержащим аденовирусом выявлено присутствие в 80% случаев экспрессии IFN β и IFN λ в мазках, при отсутствии экспрессии IFN α и IFN γ во всех образцах мазков.

В лейкоцитах крови при инфекциях РНК-содержащими вирусами гриппа А и В показана экспрессия IFN α в лейкоцитах крови при повышенных концентрациях белка IFN α в сыворотке крови ($p < 0,05$) и повышенных значений активности суммарного IFN в сыворотке крови. Экспрессия IFN γ и IFN β отсутствовали в крови. Экспрессия IFN λ при гриппе обнаружена в лейкоцитах крови всех пациентов. При инфекции, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2, обнаружено угнетение активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, наряду с увеличением концентраций белков IFN α , IFN γ и IFN λ в сыворотке крови. При острой инфекции ДНК-содержащим аденовирусом выявлена экспрессия IFN α с присутствием РНК IFN β и IFN λ в крови при отсутствии РНК IFN γ во всех образцах крови, что обуславливало возможное снижение противовирусной активности IFN.

Выявлена сниженная активность IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, повышенная экспрессия генов IFN (IFN α ($p < 0,001$), IFN β ($p < 0,01$), IFN λ ($p < 0,001$) и IFN γ) в лейкоцитах крови пациентов с рассеянным склерозом, по сравнению со здоровыми добровольцами, которая может усугублять текущую аутоиммунную патологию. Применение препаратов IFN β с многофакторным механизмом действия способствует коррекции системы IFN.

В данной работе показана клиническая эффективность препаратов IFN I типа при АЗ (аллергический ринит), АИЗ (рассеянный склероз), индукторов IFN при гриппе и АЗ (бронхиальная астма, атопический дерматит), иммуномодуляторов при гриппе, COVID-19 и АЗ (бронхиальная астма) ($p < 0,05$).

В процессе выполнения работы были предложены и запатентованы 3 изобретения Российской Федерации в области клинической лабораторной диагностики, иммунологии. Следует отметить, что проблема нарушений системы IFN при иммунозависимых заболеваниях и их коррекция входит в Приоритетные направления Стратегии НТР РФ (п.20): *Персонализированная медицина, нанотехнологичное здравоохранение и технологии здоровьесбережения.

Методология и методы исследования

Разработан дизайн комплексного подхода изучения, включающий исследования на основе молекулярно-генетических, культуральных, вирусологических, иммунологических методов и статистического анализа данных [110]. Собраны клинические образцы от больных с респираторными вирусными инфекциями (грипп, аденовирусная и коронавирусная инфекция), аллергическими заболеваниями дыхательной системы (бронхиальная астма (БА), аллергический ринит (АР), сочетанные БА с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), и БА с АР), аллергическими заболеваниями кожи (атопический дерматит (АтД), хроническая крапивница (ХК)), аутоиммунной патологией (рассеянный склероз (РС), ревматические заболевания (ревматоидный артрит (РА), системная красная волчанка (СКВ), болезнь Шегрена (БШ), болезнь Бехчета (ББ)), псориаз, а также группы контроля (условно здоровые лица). Предложены пути коррекции нарушений интерферогенеза иммуноактивными препаратами, которые нормализуют исходный дефицит биологической активности интерферонов I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Общая концепция диссертационного исследования обсуждалась совместно с научными консультантами – д.м.н., профессором РАН, академиком РАН Оксаной Анатольевной Свитич и д.м.н., профессором, академиком РАН Феликсом Ивановичем Ершовым. Клинический материал (подбор пациентов для включения в исследование в соответствии с критериями, их анамнез, биопробы) любезно предоставлен от медицинских сотрудников соответствующих клиник, анализ полученных результатов которых отражен в совместных публикациях [111]. Соискатель внес определяющий вклад в проведение исследований *in vitro*: разработке тест-системы ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) для одновременной детекции мРНК генов IFN I, II, III типов, оценке экспрессии IFN I, II, III типов, оценке концентрации белков интерферонов, оптимизации метода по оценке биологической активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, разработке метода количественного определения нейтрализующих антител против препарата IFN β . Анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой теме диссертации, статистическая обработка, интерпретация и обобщение полученного фактического материала, оформление рукописи диссертации, представление

результатов работы в научных публикациях и докладах на конференциях осуществлялись лично автором.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработан комплексный подход для анализа системы IFN, который включает количественное определение РНК и белков IFN α , β , γ и λ , а также определение противовирусной активности и количественное определение индукции нейтрализующих антител против препаратов IFN [111]. Определены референтные интервалы IFN у практически здоровых людей.

2. Показаны качественные и количественные особенности IFN на локальном и системном уровнях при острых респираторных вирусных инфекциях. С применением иммуноактивных препаратов при респираторных вирусных заболеваниях отмечена нормализация показателей интерферонового статуса.

3. При аллергопатологиях дыхательной системы и кожи выявлены повышенные концентрации белков IFN α и IFN γ в сыворотке крови, сниженная биологическая активность IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, с нормализацией показателей системы IFN после коррекции иммуноактивными препаратами (препараты IFN, индукторы IFN, иммуномодуляторы).

4. Комплексный анализ системы IFN при аутоиммунных заболеваниях показал значительно повышенные уровни экспрессии генов IFN I типа (α/β) и III (λ) типа у больных рассеянным склерозом в лейкоцитах крови по сравнению с контрольной группой практически здоровых людей, высокие концентрации белков IFN β и IFN γ в сыворотке крови больных на фоне сниженной активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови. Выявлена сниженная активность IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при ревматических заболеваниях, псориазе и показана иммунокоррекция нарушений активности IFN.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспортам научных специальностей: 3.2.7. Иммунология (медицинские науки) и 1.5.10. Вирусология (медицинские науки). Соответствие диссертации паспорту научной специальности 3.2.7. Иммунология (медицинские науки): п.5. изучение патогенеза иммуноопосредованных (аллергии, первичные и вторичные иммунодефициты, аутоиммунные болезни) и других заболеваний; п.6. разработка и усовершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, аллергических и других

иммунопатологических процессов; 1.5.10. Вирусология (медицинские науки): п.9. возбудители вирусных инфекций человека; п.10. разработка мер предупреждения, диагностики и лечения вирусных заболеваний, совершенствование лабораторной диагностики, терапии, и иммунопрофилактики вирусных инфекций; п.11. противовирусные препараты. Интерфероны и индукторы интерферона: изучение механизма действия, получение и применение.

Степень достоверности и апробация результатов

Изложенные в диссертации результаты опубликованы в открытой печати. Достоверность представленных в диссертации данных обусловлена объемом экспериментального материала и подтверждается использованием современных методов исследования, соответствующим цели работы и поставленным задачам. Научные положения, выводы и практические рекомендации основаны на фактических данных, показанных в таблицах и рисунках. Интерпретация полученных результатов проведена с использованием методов обработки информации и статистического анализа.

Материалы диссертационной работы были представлены на российских и международных конференциях и конгрессах: II конгрессе РОКИРС с международным участием в Ярославле (10-12 сентября, 2015); Научно-практической школе-конференции «Аллергология и клиническая иммунология» (иммунодиагностика, иммунопрофилактика и иммунотерапия), Крым (27 сентября - 3 октября, 2015); I Калининградском научном иммунологическом форуме (27 - 30 июня, 2016); IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика» в Москве (18-20 апреля, 2017); Всероссийской научно-практической конференции «Демиелинизирующие заболевания центральной и периферической нервной системы. Редкие и атипичные формы» в Ярославле (24-25 мая, 2017); XXVII Национальном конгрессе по болезням органов дыхания в СПб (17-20 октября, 2017); IV Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием в Сочи (1-4 ноября, 2017); Всероссийских научных Форумах «Дни иммунологии» в СПб (2017, 2023); IX Сибирской межрегиональной научно-практической конференции «Аутоиммунные заболевания нервной системы – от диагноза к терапии» в Новосибирске (14-16 февраля, 2019); 15-м Международном междисциплинарном конгрессе по аллергологии и иммунологии в Москве (22-24 мая, 2019); Конференциях Европейского респираторного общества в Эшторил, Португалия (7-10 марта, 2020; 10-13 марта, 2022); 10-й Юбилейной международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика 2020» в Москве (14-16 апреля, 2020); Всероссийском конгрессе лабораторной медицины в Москве (19-21 октября, 2021); III Междисциплинарной онлайн-конференции по инфектологии

Приволжского района в Казани (30 ноября 2022); Конгрессе с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность-2023» в Москве (27-28 апреля, 2023); Юбилейной конференции по медицинской микологии и микробиологии в Москве (17-18 мая, 2023); IX Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням в СПб (23-25 мая, 2023); X Российской научной конференции с международным участием, посвященной 300-летию Российской академии наук, Десятилетию науки и технологий в Оренбурге (20-22 сентября, 2023); Российском диагностическом саммите - 9 Российском конгрессе лабораторной медицины в Москве (04-06 октября, 2023); Всероссийской конференции «COVID-19 – экспертный опыт работы в условиях пандемии и межковидный период. Все о диагностике, лечении, реабилитации пациентов. Коморбидный пациент — междисциплинарный подход». 10 октября 2023, онлайн; Научно-практической конференции «Современная иммунопрофилактика 2023» в Москве (12-13 октября, 2023) и других (Приложение А).

Апробация работы проведена на заседании Ученого совета ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова (протокол № 3 от 10.07.2024).

Публикации по теме диссертации

По результатам диссертационного исследования автором опубликовано 36 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора наук, 10 статей в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, Chemical Abstracts, Springer, 12 иных публикаций по результатам исследования, 1 монография, 3 патента РФ, а также 8 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференциях.

Внедрение результатов работы в практику

Разработан ряд методических рекомендаций: «Определение нейтрализующей активности антител к препаратам интерферонов в сыворотке крови человека» [110]. ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова. Москва, 2017, 19 с.; «Интерфероновый статус - показатель неспецифической резистентности организма человека». ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова. Москва, 2017, 16 с.; «Методические рекомендации по доклиническому изучению специфической противовирусной активности лекарственных веществ» в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Глава 32: 527-551. Москва. 2012.

Результаты проведенной работы нашли отражение в Методических рекомендациях, утвержденных Департаментом здравоохранения города Москвы: №5 «Применение циклоферона (меглумина акридоацетат) в комплексной терапии больных бронхиальной астмой при острых респираторных инфекциях»; №38 «Применение препарата Кагоцел для лечения и профилактики острых респираторных вирусных инфекций у взрослых и детей».

*Практические рекомендации. «Определение интерферонового статуса как показателя неспецифической резистентности организма человека». М., 2018. 26 с.

В настоящей работе при указанных заболеваниях доказана важно-ключевая роль нарушений в системе IFN и научно-обоснованное применение корригирующей терапии с иммуноактивными препаратами. Препарат Кагоцел был разрешён МЗ РФ для медицинского применения в качестве лечебного средства при гриппе, других ОРВИ на основании полученных при проведении клинических исследований результатов (Регистрационное удостоверение Р № 002027/01-2003 от 09.01.03). Препараты Кагоцел и Ингавирин применяют в клинической практике при гриппе, осложнённом и неосложнённом бактериальной инфекцией (Акт о внедрении ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ»). Материалы исследования включены в курс лекций врачам-инфекционистам. Препарат Циклоферон рекомендован больным БА для профилактики обострений астмы; вакцина Иммуновак-ВП-4 зарекомендовала себя как препарат, способствующий более длительной ремиссии при БА; показан стойкий профилактический эффект сублингвального применения препарата IFN α -2b при поллинозе с увеличением периода ремиссии. Материалы исследования включены в курс лекций врачам-аллергологам. Имеется Акт о внедрении возможности применения иммуноактивных препаратов в ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России. На базе неврологического отделения МОНИКИ больным с РС внедрена практика выявления и количественного определения НАТ для коррекции лечения препаратами IFN β . Имеется Акт о внедрении методики определения НАТ в МОНИКИ им.М.Ф.Владимирского. Описано поддерживающее лечение индуктором IFN Циклоферон пациентов в дебюте заболевания с низким индексом инвалидизации. Результаты диссертационной работы включены в курс лекций врачам-вирусологам, повышающим квалификацию, на базе кафедры «Инфектология и вирусология» Первого МГМУ им.И.М.Сеченова МЗ России.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 259 страницах компьютерного текста и состоит из введения и 3 глав, включающих обзор литературы (глава 1), методы исследования (глава 2), и основная часть работы, которая состоит из главы результатов собственных исследований и обсуждения

(глава 3), а также заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. В текст диссертации включены 40 рисунков, 38 таблиц, 3 приложения. Список литературы содержит 676 источников, в том числе 198 отечественных публикаций и 478 – зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Цитокины – факторы регуляции защитных систем организма

Цитокины - группа медиаторов межклеточного взаимодействия, участвующих в регуляции нормальных физиологических функций и в защитных реакциях организма при встрече патогенов и нарушении целостности тканей [257, 425]. Кроме этого, цитокины играют роль в регуляции эмбриогенеза, формирования органов и иммунной системы; а также в процессах регенерации тканей [73]. Известно более 300 цитокинов [421].

После связывания внеклеточных цитокинов со специфическими рецепторами на поверхности клеток, сигнал передается в ядро посредством каскада реакций внутриклеточной трансдукции, в результате активации экспрессии индуцируемых генов их белковые продукты обеспечивают как нормальные физиологические функции, так и защитные реакции. Они обеспечивают взаимодействие всех защитных систем организма, включая иммунную, эндокринную и нервную [322, 421].

Существует несколько классификаций цитокинов в соответствии с биохимическими свойствами, биологической активностью, в зависимости от типа секретирующих их клеток иммунной системы и специфических рецепторов [74, 156, 548]. К цитокинам относят интерфероны (interferon (IFN)); семейство фактора некроза опухолей (Tumor Necrosis Factor (TNF)); колониестимулирующие факторы (colony-stimulating factor (CSF)); трансформирующие ростовые факторы (transforming growth factor (TGF)); хемокины; лимфокины; монокины; интерлейкины (interleukins (IL) 1-40) с исторически сложившимися номерами и другие медиаторы [257, 425, 446, 643]. IL, имеющие порядковые номера, начиная с 1, не относятся к одной подгруппе цитокинов, а делятся на провоспалительные, отдельные регуляторные цитокины, ростовые и дифференцировочные факторы лимфоцитов [73, 74, 154]. Структурно-функциональный анализ новых цитокинов продолжается.

Классификация цитокинов по функциям, которая предполагает учет их биологической активности, отражена в Таблице 1.1 [156], данные в которой непрерывно пополняются [548].

Таблица 1.1 – Функциональная классификация цитокинов

№	Семейства цитокинов	Подгруппы и лиганды	Основные биологические функции
1	IFN I и III типов	IFN- α , - β , - ω , - ϵ , - κ , IL28, IL29 (IFN λ)	Противовирусная активность, антипролиферативное, иммуно-модулирующее действие
2	Факторы роста гемопоэтических клеток	Фактор стволовых клеток (kit-ligand, steel factor), Flt-3 ligand, Г-КСФ, М-КСФ, IL-7, IL-11	Стимуляция пролиферации и дифференцировки различных типов клеток предшественников в костном мозге, активация кроветворения
		Лиганды gp140: IL-3, IL-5, ГМ-КСФ	
		Эритропоэтин, Тромбопоэтин	
3	Суперсемейство IL-1 и ФРФ	Семейство ФРФ: Кислый ФРФ, основной ФРФ, ФРФ3 – ФРФ23	Активация пролиферации фибробластов и эпителиальных клеток
		Семейство IL1 (F1-11): IL1 α , IL1 β , Рецепторный антагонист IL1, IL18, IL33 и др.	Провоспалительное действие, активация специфического иммунитета
4	Семейство фактора некроза опухолей	TNF, лимфотоксины α и β , Fas-лиганд, APRIL/TNFSF13, BAFF/TNFSF13B, TWEAK/TNFSF12 и др.	Провоспалительное действие, регуляция апоптоза и межклеточного взаимодействия иммуно-компетентных клеток
5	Семейство IL6	Лиганды gp130: gp130/s IL-6R β и gp130/s IL-6R α , IL6, IL11, IL31, Онкостатин-М, Кардиотропин-1, Leukemia inhibitory factor, Ciliary neurotrophic factor	Провоспалительное и иммунорегуляторное действие
6	Хемокины	CC, CXC (IL8), CX3C, C	Регуляция хемотаксиса различных типов лейкоцитов
7	Семейство IL10	IL-10, 19, 20, 22, 24, 26	Иммуносупрессивное действие
8	Семейство IL12	IL-12, 23, 27	Регуляция дифференцировки Т-лимфоцитов хелперов
9	Цитокины Т-хелперных клонов и регулирующие функции лимфоцитов	Т-хелперы 1 типа: IL2, IL15, IL21, IFN γ	Активация клеточного иммунитета
		Т-хелперы 2 типа: IL4, IL5, IL10, IL13	Активация гуморального иммунитета, иммуно-модулирующее действие
		Лиганды γ -цепи рецептора IL-2: IL2 IL4 IL13 IL7 ТСЛП IL9 IL15 IL21	Стимуляция дифференцировки, пролиферации и функциональных свойств различных типов лимфоцитов, DC, NK клеток, макрофагов и др.

Продолжение Таблицы 1.1

10	Семейство IL17	IL-17A, B, C, D, E, F	Активация синтеза провоспалительных цитокинов
11	Суперсемейство фактора роста нервов, тромбоцитарного ростового фактора и трансформирующих ростовых факторов	Семейство фактора роста нервов: ФРН, мозговой нейротрофический фактор	Регуляция воспаления, ангиогенеза, функционирования нейронов, эмбрионального развития и регенерации тканей
		Факторы роста из тромбоцитов (PDGF), ангиогенные ростовые факторы (VEGF)	
		Семейство ТРФ: ТРФб, активины, ингибины, Nodal, Bone morphogenic proteins, Mullerian inhibitory substance	
12	Семейство эпидермального ростового фактора	ЭРФ, ТРФ α и др. TSLP	Стимуляция пролиферации различных типов клеток
13	Семейство инсулиноподобных ростовых факторов	ИРФ-I, ИРФ-II	Стимуляция пролиферации различных типов клеток
Примечание: ФРФ – фактор роста фибробластов; ЭРФ - эпидермальный ростовой фактор; ИРФ - инсулиноподобный ростовой фактор			

В клинической и лабораторной практике выделяют цитокины Т-хелперного пути 1 типа (Th1) (TNF α , IFN γ и др.), обеспечивающие преимущественно клеточный иммунный ответ, 2 типа (Th2) (IL4, IL10, IL13 и др.), опосредующие гуморальный иммунитет, Th9 (IL9), возможно, ответственные за воспаление дыхательных путей, развитие аллергии, в частности, при БА [181], Th17 (IL17, IL21, IL22 и др.), ответственные за элиминацию внеклеточных патогенов, аутоиммунные нарушения толерантности и воспаление тканей (Рисунок 1.1).



Рисунок 1.1 – Схема дифференцировки Т-хелперов

1.1.1 Структура и функции интерферонов

Интерфероны (IFN) — это белки, которые вырабатываются клетками организма при вторжении вирусов и других чужеродных агентов. IFN были открыты первыми из цитокинов, как белки с противовирусной активностью [54, 163, 418]. В настоящее время известны три типа IFN (Таблица 1.2):

- 1) IFN I типа включают 13 гомологичных подтипов IFN α (альфа), один подтип IFN β (бета), а также менее изученные подтипы IFN ω (омега), IFN κ (каппа), IFN ϵ (эпсилон) [448].
- 2) IFN II типа включает один IFN γ (гамма) [389].
- 3) К IFN III типа относятся IFN λ (лямбда) 1-4 [643].

Таблица 1.2 – Биологическая характеристика интерферонов человека

Типы интерферонов	Название	Подтипы	Функции
I	IFN α	- α 1, - α 2, - α 4, - α 5, - α 6, - α 7, - α 8, - α 10, - α 13, - α 14, - α 16, - α 17, и - α 21	Противовирусная активность, антипролиферативное, противоопухолевое и иммуномодулирующее действие
	IFN β	IFN β	
	IFN κ	IFN κ	
	IFN ϵ	IFN ϵ	
	IFN ω	IFN ω	
II	IFN γ	IFN γ	Иммуномодулирующее действие, противовирусная активность
III	IFN λ	IL29/IFN λ 1, IL28A/IFN λ 2, IL28B/IFN λ 3, IFN λ 4	Противовирусная активность для защиты кожи, легких и желудочно-кишечного тракта, элиминация грибковых патогенов, антипролиферативное и иммуномодулирующее действие

Три типа IFN отличаются специфическими рецепторами. У IFN типа I один общий рецептор IFNAR, состоящий из двух альфа-субъединиц (IFNAR1, IFNAR2). Рецептор IFN I типа образует комплекс из двух субъединиц IFNAR1 и IFNAR2 и лиганда IFN I типа, связывание которого с любой субъединицей необходимо для димеризации и активации рецептора [389, 463]. Для IFN типа II характерен рецептор, состоящий из гамма-субъединиц (IFNGR1, IFNGR2). Ген IFNGR1 кодирует лиганд-связывающую цепь (альфа) гетеродимерного рецептора IFN γ . IFN λ типа III соответствуют рецепторы IFNLR1 и IL10R2. IFN обнаружены не только в крови, но и на слизистых оболочках (Таблица 1.2, 1.3) [464, 548]. Для клеток крови, слизистых оболочек [464, 548] и центральной нервной системы (ЦНС) [260, 584] характерна

индуцибельная транзистентная экспрессия генов IFN с секрецией, а для клеток волосяных фолликулов – конститутивный высокий уровень транскрипции мРНК IFN [9].

IFN видоспецифичны и обладают противовирусными, иммунорегуляторными и другими свойствами посредством регуляции экспрессии более 300 клеточных IFN-стимулируемых генов (IFN-stimulated genes (ISG)), многие из которых влияют на функции иммунокомпетентных клеток [299, 327, 389, 437]. IFN влияют на созревание и эффекторные функции Т- и В- клеток, натуральных киллеров (natural killers (NK)), дендритных клеток (dendritic cells (DC)) и макрофагов. IFN усиливают гибель инфицированных клеток, индуцируя проапоптотические факторы. Разнообразие функций и взаимное влияние IFN 3-х типов определяют существование системы IFN, состоящей из IFN, белков, кодируемых ISG, и факторов регуляции [485].

Таблица 1.3 – Сравнительная характеристика IFN I, II и III типов

Показатели	IFN I типа (основные α/β и др.)	IFN II типа (γ)	IFN III типа (λ)
Клетки-продуценты	Лейкоциты (моноциты/макрофаги, В- и Т-лимфоциты, гранулоциты, NK-клетки), дендритные клетки, фибробласты, эпителиальные клетки	Активированные Т-лимфоциты (Th1-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты (CTL)), NK-клетки, макрофаги	Эпителиальные клетки дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, кожи, миелоидные и плазмоцитоидные дендритные клетки
Индукторы	Вирусы, дцРНК, инфицированные вирусами и трансформированные клетки, гетерологичные клетки, В-митогены, аллерго- и аутоантигены	Иммунологические стимуляторы, антигены, Т-митогены	Вирусы Естественные индукторы IFN: двухцепочечные РНК (dsRNA, выделяемые из дрожжей и бактериофагов); полифенолы, выделяемые из растений. Искусственные индукторы IFN: ароматические углеводороды и полинуклеотиды.
Хромосомная локализация генов IFN	9 хромосома	12 хромосома	19 хромосома
Рецепторы	IFNAR1 IFNAR2	IFNGR1 IFNGR2	IFNLR1 IL10R2

При вирусных инфекциях первоначальная продукция IFN типа I, за которой следует секреция IFN типа III, важна для элиминации вирионов и инфицированных клеток [655]. IFN I и III типов защищают соседние клетки от инфекции и таким образом ограничивают распространение вируса в организме. Помимо этого, IFN участвуют в восстановлении и

регенерации тканей, усиливают апоптоз и ингибируют пролиферацию эпителиальных клеток (Таблица 1.2).

IFN I типа – это семейство белков с высокой гомологией аминокислотных последовательностей и сходными функциями. Гены IFN I типа локализованы в едином кластере 9p22 на коротком плече 9-й хромосомы человека. Эти гены экспрессируются в большинстве клеток преимущественно при индукции антигенами. Однако в клетках эпителия респираторного тракта здоровых детей и в волосяных фолликулах обнаружены постоянно конститутивные высокие уровни экспрессии генов IFN α и β [9]. Молекулярные массы IFN α варьируют от 19 до 26 кДа, а IFN β - 20–26 кДа. Ранее предполагали, что IFN α продуцируются преимущественно лейкоцитами, а IFN β - фибробластами. Позднее доказано, что IFN α/β продуцируются многими клетками организма. Незначительная секреция IFN α/β выявлена в неактивированных макрофагах. При инфицировании вирусами, бактериями *Chlamydia trachomatis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, а также при стимуляции липополисахаридами бактерий продукция IFN α/β макрофагами повышается [652]. Кроме того, источниками IFN α и β могут быть фибробласты, NK-клетки, Т-лимфоциты, DC-клетки [220]. Плазмацитоидные моноциты, известные также как предшественники DC 2-го типа, при вирусных или бактериальных инфекциях продуцируют в 200–1000 раз больше IFN α/β , чем другие клетки крови [77, 259]. IFN ω , IFN ϵ , IFN κ (каппа) и IFN δ (дельта), подобно другим представителям IFN I типа, участвуют в противовирусных реакциях. Трофобластные IFN δ и IFN τ (тау) защищают эмбрион, имплантирующийся в матку [77].

IFN II типа (IFN γ) был открыт в 1965 г. в культуре лейкоцитов, стимулированных фитогемагглютинином [422]. Противовирусная активность IFN γ аналогична IFN I типа. Однако IFN γ менее устойчив к экстремальным значениям pH и высоким температурам $\geq 56^\circ\text{C}$ по сравнению с IFN I типа [422]. В отличие от IFN типа I, продуцируемых любыми клетками при вирусной инфекции, только определенные клетки иммунной системы могут продуцировать IFN γ при инфицировании или стимуляции антигеном, или митогеном. IFN II типа (с единственным представителем IFN γ) продуцируется Т-хелперами (T-helpers (Th)) (CD4+), клетками иммунологической памяти (CD45RO), цитотоксическими Т-клетками (CD8+), NK (CD16+, CD56+), цитотоксическими лимфоцитами (cytotoxic lymphocytes (CTL)), DC (CD83+, CD80+, CCR7), В-лимфоцитами (CD19+, CD22+) и профессиональными антиген-презентирующими клетками (antigen-presenting cells (APC)), которые его секретируют в норме при отсутствии вирусной инфекции. Продукция IFN γ антиген-продуцирующими (APC) клетками (моноциты/макрофаги, DC) важна для их самоактивации и активации соседних клеток [368]. Секреция IFN γ NK-клетками и профессиональными APC важна в ранней неспецифической защите организма от вирусных инфекций, тогда как в адаптивном иммунном

ответе главным источником $IFN\gamma$ становятся Т-лимфоциты [574]. $CD4+$ и $CD8+$ Т-лимфоциты продуцируют $IFN\gamma$. Противовирусное действие $IFN\gamma$ заключается в блокировке репликации вирусных ДНК и РНК, трансляции вирусных белков и сборки зрелых вирионов. $IFN\gamma$ влияет на клеточный иммунный ответ, активируя Th1-клетки, NK-клетки, макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты. $IFN\gamma$ активирует в макрофагах продукцию окиси азота (NO), который играет ключевую роль как в антибактериальной, так и в противовирусной защите [77, 422, 428]. $IFN\gamma$ вызывает M1-дифференцировку макрофагов и одновременно подавляет альтернативный (M2) путь активации [412].

Хотя $IFN\gamma$ был открыт благодаря противовирусным свойствам, в настоящее время известно, что это плеiotропный лимфокин, обладающий множественными функциями, влияющими на рост и дифференцировку разных типов клеток, участвующих в иммунитете: индуцирует дифференцировку миелоидных клеток, в результате образуются зрелые моноциты; стимулирует экспрессию генов главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex (MHC)) классов I и II, является активатором макрофагов [411]. $IFN\gamma$ реализует три типичные для IFN функции преимущественно через иммунные механизмы, поэтому его считают «иммунным». $IFN\gamma$ является основным цитокином, который обеспечивает формирование цитотоксического иммунитета, играющего ключевую роль в защите от вирусных инфекций и в элиминации злокачественных трансформированных клеток [75, 411]. Все клетки организма могут реагировать на IFN I и II типов [428].

$IFN\lambda$ III типа были открыты в 2003 г. Первые 3 члена семейства $IFN\lambda$ были обнаружены одновременно при анализе нуклеотидных последовательностей полноразмерных геномов человека. В 2003 г. 2 независимые исследовательские группы, используя разные подходы, сообщили об открытии этих белков [370, 382]. Изначально они были определены как IL29 (теперь $IFN\lambda 1$), IL28A (теперь $IFN\lambda 2$) и IL28B (теперь $IFN\lambda 3$). $IFN\lambda 1$, $IFN\lambda 2$ и $IFN\lambda 3$ классифицируются как IFN III типа, поскольку они передают сигналы через рецепторный комплекс, отличный от рецепторов, используемых IFN I и II типов [289]. Позднее была открыта четвертая форма – $IFN\lambda 4$, которая продуцируется в небольших количествах и является результатом сдвига рамки считывания в гене $IFN\lambda 3$ [315, 502]. Вследствие особенностей первичной структуры и наличия собственного рецептора, $IFN\lambda$ выделены в самостоятельный третий тип IFN. Аналогично IFN I типа $IFN\lambda$ (1-4) индуцируются при вирусной инфекции и проявляют противовирусную активность [643]. Следует отметить, что тип $IFN\lambda$ в организме не является «избыточным» по отношению к $IFN\alpha$, поскольку они имеют разную тканеспецифичность и отношение к различным видам вирусов [671]. Вирусные инфекции могут индуцировать экспрессию генов IFN III типа в различных типах клеток [299, 370, 382]. $IFN\lambda$

проявляют противовирусные свойства только в клетках со специфическими рецепторами на поверхности. Экспонирование рецепторов IFNLR1 и IL10R2 ограничивается клетками эпителиального происхождения [369, 443]. Эти типы клеток включают эпидермальные, бронхиальные и желудочно-кишечные эпителиальные клетки, а также гепатоциты. IFN III типа обеспечивают защиту кожи, слизистых оболочек респираторного и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) от действия вирусов. При вирусных инфекциях ЖКТ IFN λ является основным медиатором эпителиального противовирусного ответа, а также способствует элиминации грибковых патогенов и подавлению медиаторов врожденного иммунитета, которые могут повредить целостность слизистой оболочки [643]. Большинство типов лейкоцитов не экспонируют гены рецепторов IFN λ и, следовательно, не взаимодействуют с IFN λ [271, 408]. Следовательно, IFN III типа имеют менее функциональный диапазон по сравнению с IFN I типа.

Выделяют 3 основные функции IFN: противовирусную, противоопухолевую и иммуномодулирующую. Также отмечают более 100 эффектов, которые определяют медицинскую значимость препаратов IFN [75].

На Рисунке 1.2 показана схема функционирования системы IFN из 4-х последовательных этапов, представляющих цепную реакцию в ответ на внедрение антигенов.

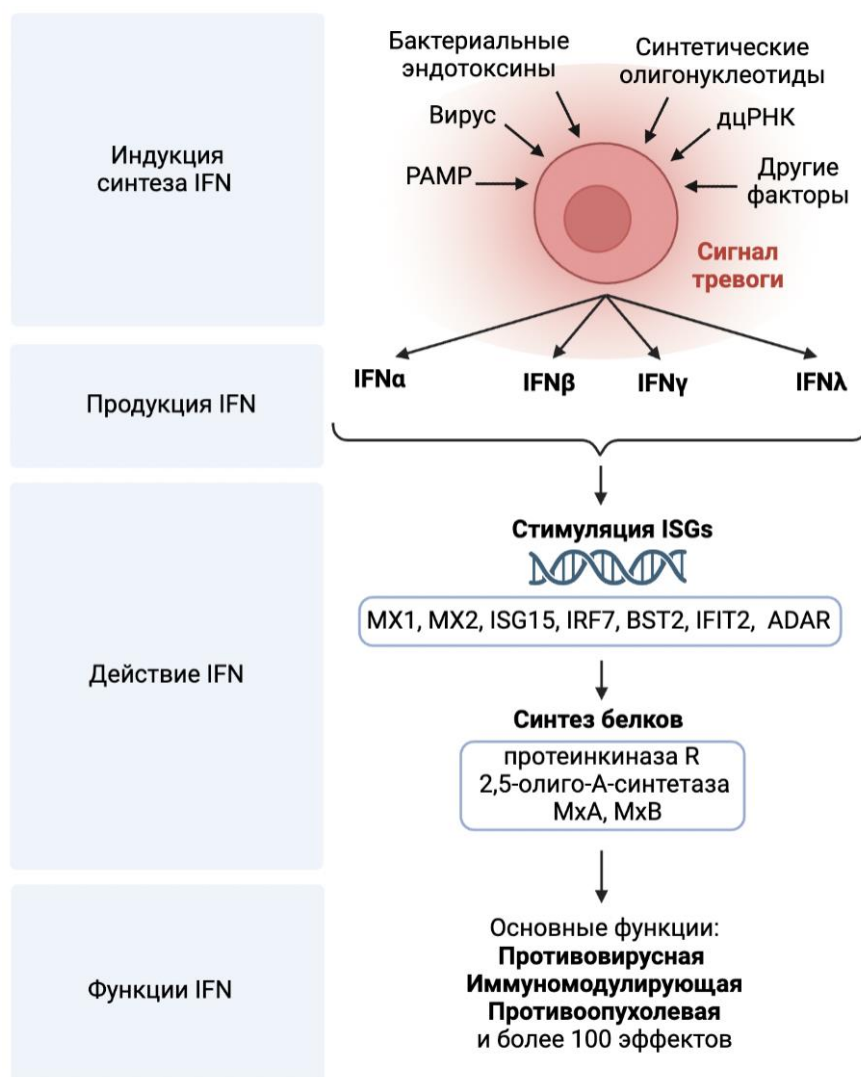


Рисунок 1.2 – Функционирование системы интерферонов

1.1.2 Молекулярные механизмы действия интерферонов

Регуляция активности IFN опосредуется рецепторами (pattern recognition receptors (PRR)), узнающими характерные структуры патогенов (pathogen-associated molecular patterns (PAMP)).

PRR разделяют на 5 семейств рецепторов:

1) семейство Toll-like рецепторов (TLR), которые локализируются либо на клеточной поверхности, либо в эндосомах и узнают различные вирусные структуры; TLR ответственны за индукцию специфического иммунитета к инфекционному агенту, системное воспаление и шок [148, 263, 334].

В клетках имеется множество рецепторов врожденного иммунитета, узнающих двухцепочечные (дц) РНК. TLR 3, 7, 8 и 9 локализованы в эндосомах и распознают вирусные нуклеиновые кислоты, включая вирусные частично двухцепочечные репликативные интермедиаты и двухцепочечные репликативные формы [277, 597].

2) семейство RIG-I-подобных рецепторов (RLR) локализовано в цитоплазме и состоит из RIG-I (retinoic acid-inducible gene-I), MDA-5 (melanoma differentiation-associated gene 5), и LGP-2 (laboratory of genetics and physiology 2) внутриклеточных сенсоров, которые узнают дц РНК. Большое значение имеет RLR рецептор для внутриклеточных дц РНК, который действует независимо от TLR в цитозоле клеток и является ответственным за индукцию IFN I типа [576, 597].

3) семейство NOD (nucleotide-binding oligomerization domain)-подобных рецепторов (NLRs);

4) семейство рецепторов внутриклеточных ДНК, которое состоит из рецептора DAI (DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors).

5) семейство рецепторов «мусорщиков» (scavenger receptors (SR)) представляют собой рецепторы клеточной поверхности, которые способствуют удалению деградированных антигенов. Эти рецепторы были идентифицированы на поверхности макрофагов [624]. Изначально SR были идентифицированы на основе их биохимической способности распознавать и связывать различные модифицированные формы липопротеинов. Такое взаимодействие может способствовать дифференциации макрофагов, приводящей к хроническому атеросклерозу [319, 479]. Функции SR включают фагоцитоз, адгезию и сигнальные механизмы, приводящие к деградации антигенов и продуктов их метаболизма. SR вовлечены в ряд физиологических и патологических процессов, включая взаимодействие с другими рецепторами врожденного иммунитета, доставку лигандов в различные клеточные компартменты и презентацию антигенов. Большинство рецепторов-мусорщиков имеют мембран-ассоциированные и растворимые формы. У рецептора ангиотензин-превращающего фермента-2 (angiotensin-converting enzyme (ACE-2)) только растворимая форма может участвовать в предотвращении проникновения и репликации коронавируса. Связанный с мембраной рецептор ACE-2 связывается с поверхностным белком коронавируса SARS-CoV-2. Однако растворимая форма этого рецептора (sACE-2) конкурентно ингибирует связывание мембранного рецептора с вирионами. Структурно-функциональный анализ SR показал, что эти белки представляют собой большое семейство и сгруппированы в 10 классов A-J. SR имеются на миелоидных клетках (макрофаги и DC) и на некоторых эндотелиальных клетках. Они играют важную роль в захвате и выведении из организма остатков клеток после апоптоза. SR участвуют в метаболизме липидов и связывают модифицированные липопротеины низкой плотности [431, 512, 587].

PRR находятся в эндосомах (TLR) или в цитоплазме (RIG-I-подобные рецепторы (RIG-I-like receptors (RLR)), NOD-подобные рецепторы (Nod-like-receptor, NLR) являются местами накопления патогенов и не содержат клеточных нуклеиновых кислот [258]. Особенностью

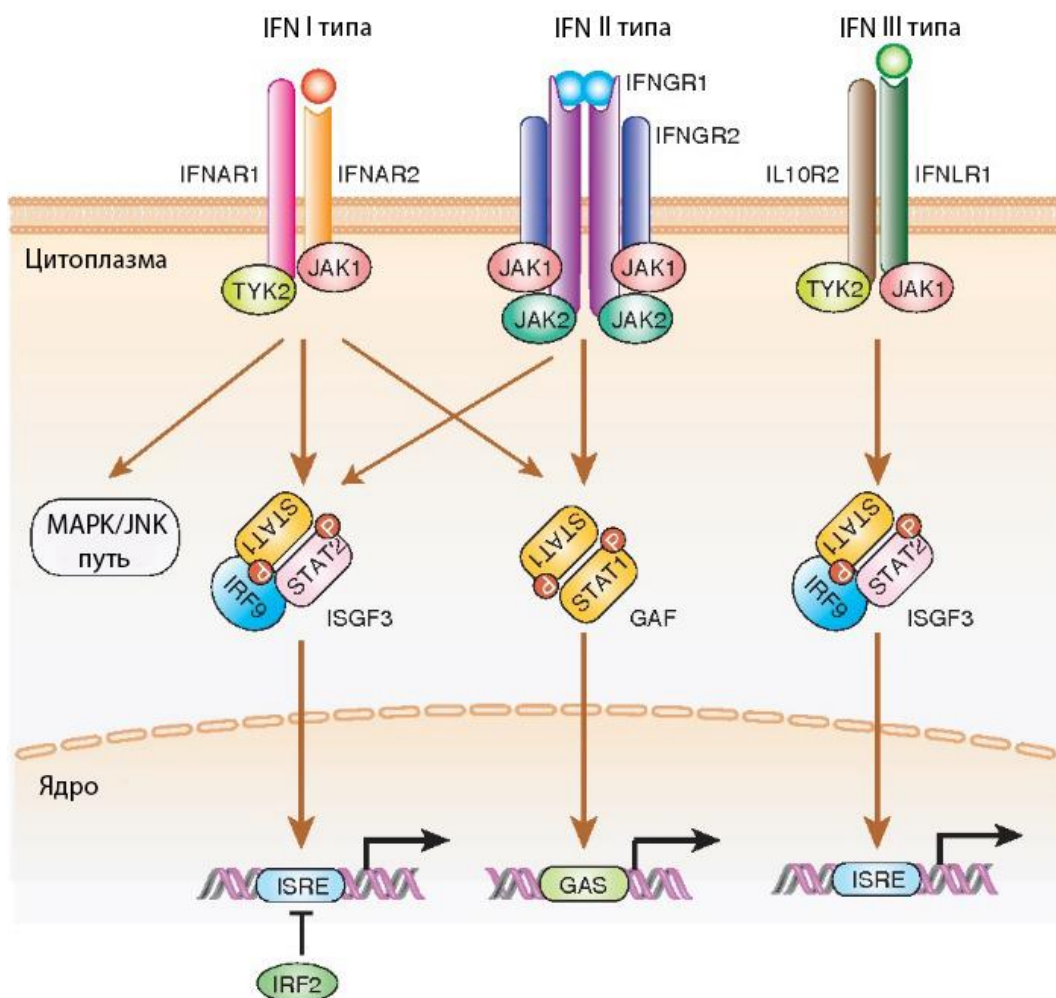
бактериальных и вирусных ДНК является высокая частота встречаемости динуклеотидов CpG [592], с которыми специфично связывается клеточный TLR9 - один из представителей «первой линии» защиты организма. В результате распознавания PAMP рецепторами PRR происходит индукция экспрессии генов, специфичных для PRR [244]. Большинство клеток организма в ответ на стимуляцию PRR продуцирует IFN I типа.

TLR - семейство молекул, состоящее из 11 трансмембранных одноцепочечных белков-рецепторов со сходным строением и молекулярными массами 90-115 кДа. Они имеют внеклеточную, трансмембранную и внутриклеточную части. Внеклеточная часть TLR, богатая лейцином (leucine-rich repeat domain (LRR)), связывается с лигандами PAMP, характерными для вирусов или бактерий. Внутриклеточная часть TLR, гомологичная внутриклеточному домену интерлейкина IL-1 (TIR-Toll interleukin-1 receptor), отвечает за взаимодействие с адаптерными молекулами внутриклеточных сигнальных путей, что приводит к индукции экспрессии генов IFN I типа и синтезу провоспалительных цитокинов, а также к апоптозу. Передача сигналов внутри клетки, экспонирующей на поверхности TLR, происходит посредством последовательной активации цитоплазматических адапторных молекул, таких как миелоидный дифференцированный фактор 88 (MyD88), внутриклеточный адаптерный белок группы TIR домен-содержащих белков, участвующих в передаче сигнала от TLR, особенно важен в функционировании антибактериального TLR4 (toll-interleukin 1 receptor (TIR) domain containing adaptor protein, TIRAP; MyD88 adapter-like, Mal) (MAL/TIRAP), адаптерная молекула 1 (TICAM-1), содержащая домен гомологии рецептора Toll-IL-1 (TIR) (Toll-IL-1 receptor homology domain (TIR)-containing adapter molecule 1 (TICAM-1 (TRIF)) и TICAM (TRAM), митоген-активируемая протеинкиназа (mitogen-activated protein kinase) (MAPK)) и ядерный фактор транскрипции (nuclear factor (NF)-kB). Помимо основных адаптерных молекул в трансдукции активационного сигнала, индуцированного TLR, принимают участие вспомогательные молекулы - клеточные детерминанты (cellular determinants (CD)) CD11/CD18, CD14, MD2. Трансмембранный участок TLR обеспечивает внутриклеточную сортировку молекул TLR: в эндоплазматический ретикулум – TLR 7, 8, 9 и на поверхность клетки – TLR 2, 4, 6, 5, 10. TLR1, расположенный в цитоплазматической мембране, распознаёт пептидогликаны и липопротеины грамположительных бактерий. Мембранный белок TLR3, находящийся на внешней плазматической мембране клетки и в мембранах эндосом, связывает двухцепочечные (дц) РНК вирусов и обеспечивает противовирусную защиту организма. Неконтролируемая активация PRR, в том числе TLR, опасна для организма, поскольку приводит к воспалению, представленному реакциями гиперчувствительности немедленного и замедленного типов. Сигнальные пути IFN III соответствуют сигнальным путям IFN I. При

общем сходстве, IFN α индуцирует повышенную экспрессию ISG с последующим ростом, в то время как IFN λ вызывает слабый, но устойчивый ответ ISG.

После взаимодействия PRR с PAMP вирусов [199], аллергенов [611, 628] и аутоантигенов [629] происходит каскад внутриклеточных сигналов, приводящий к транскрипции генов IFN I типа (α/β) [204, 205, 234, 235, 452, 553, 573, 606]. Последующая цепная активация лейкоцитов, DC-клеток, NK клеток, Т- и В-лимфоцитов, эпителиальных и эндотелиальных клеток, фибробластов и др. приводит к регулируемому воспалению, дифференцировке Th1-хелперов с последующей индукцией адаптивного иммунитета.

IFN инициируют каскад экспрессии IFN-стимулируемых генов (IFN-stimulated genes (ISG)), которые участвуют в ингибировании проникновения вирусов (белки MxA, IFN-индуцируемый белок с тетрапептидными повторами (interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats (IFIT)), IFN-индуцируемый трансмембранный белок (IFN-induced transmembrane protein (IFITM)) и белки с консервативной архитектурой из 3 частей (Tripartite motif (TRIM)) [364], предотвращении высвобождения вируса (Viperin), апоптозе инфицированных клеток (например, протеинкиназа R (protein kinase R (PKR)) и регуляции транскрипции РНК в ядре и посттрансляционной модификации белков (Viperin и ISG15). Некоторые ISG также участвуют во врожденном и адаптивном иммунитете, запуская экспрессию генов хемокинов, презентацию антигенов и секрецию других цитокинов [574, 655].



Примечание: IFNAR1 (interferon- α/β receptor) - α субъединица рецептора IFN I типа; IFNAR2 (interferon- α/β receptor) - β субъединица рецептора IFN I типа; IFNGR1 (interferon-gamma receptor) - α субъединица рецептора IFN γ ; IFNGR2 (interferon-gamma receptor) - β субъединица рецептора IFN γ ; IL10R2 (interleukin 10 receptor) - β субъединица рецептора IL10; IFNLR1 (interferon lambda receptor 1) - рецептор IFN λ ; TYK2 (non-receptor tyrosine-protein kinase) - нерецепторная тирозин-киназа; JAK1 (janus kinase 1) - Янус киназа 1; JAK2 (janus kinase 2) - Янус киназа 2; MAPK (mitogen-activated protein kinase) - митоген-активируемая протеинкиназа; JNK (c-Jun N-terminal kinase pathway) - c-Jun N-терминальный киназный путь; STAT1 (signal transducer and activator of transcription 1) - транскрипционный фактор преобразователь сигналов и активатор транскрипции 1; STAT2 (signal transducer and activator of transcription 2) - транскрипционный фактор преобразователь сигналов и активатор транскрипции 2; IRF9 (interferon regulatory factor 9) - интерферон регуляторный фактор 9; ISGF3 (Interferon stimulated gene factor 3) - интерферон-стимулированный эффекторный фактор 3; GAF (gamma-interferon activation factor) - активационный фактор IFN γ ; ISRE (interferon-sensitive response element) - чувствительный к IFN элемент отклика; GAS (gamma interferon activation site) - активационный сайт IFN γ ; IRF2 (interferon regulatory factor 2) - интерферон регуляторный фактор 2.

Рисунок 1.3 – Схема трансдукции сигналов IFN

При вирусных и бактериальных инфекциях происходит индукция IFN I типа (IFN α и IFN β) путем связывания с гетеродимерным рецептором IFNAR (Рисунок 1.3), который находится на поверхности эукариотических клеток [389] с активацией Янус-киназы JAK1 и TYK2 с дальнейшим фосфорилированием факторов транскрипции STAT1 и STAT2 ((signal transducer and activator of transcription (STAT) - сигнальный белок и активатор транскрипции из семейства белков STAT)). К их гетеродимеру присоединяется IRF9 с образованием комплекса ISGF3, который транслоцируется в ядро, где вызывает экспрессию ISG посредством связывания

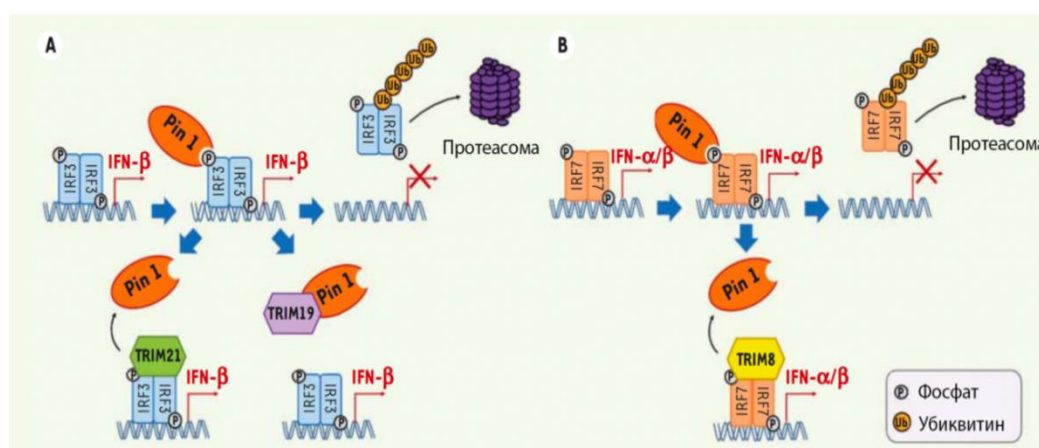
с промоторами (Interferon-sensitive response element (ISRE)). Таким образом активируется экспрессия множества ISG, имеющих данный элемент в промоторах, что объясняет наличие разнообразных свойств IFN [455]. Димеризованный STAT1 перемещается в ядро, где связывается с участком активации (Gamma interferon activation site (GAS)) в ISG и активирует их транскрипцию [75].

Для IFN типа II противовирусное действие заключается в блокировке репликации вирусных ДНК и РНК, трансляции вирусных белков и сборки вирионов (Рисунок 1.3).

Для IFN типа III экспонирование рецепторного комплекса ограничено поверхностями эпителиальных клеток слизистой оболочки, что снижает системное действие IFN III и уменьшает их побочные эффекты при клиническом использовании. Дальнейший сигнальный путь посредством фосфорилирования STAT киназой JAK не отличается от такового у IFN I (Рисунок 1.3).

Семейство IFN-стимулированных белков, кодируемых ISG, - ферментов олигоденилатсинтазы (Oligoadenylate synthase (OAS) 1-4, РНКазы L, протеинкиназы R (protein kinase (PKR) и Мх-белков обеспечивает внутриклеточные противовирусные свойства IFN [389].

Трансдукция внутриклеточных сигналов включает посттрансляционное фосфорилирование и убиквитинирование белков. Убиквитинирование с присоединением белка убиквитина, состоящего из 76 аминокислотных остатков, к белкам-мишеням, изменяет их стабильность, внутриклеточную локализацию и активность [436]. Семейство консервативных в ходе эволюции 75 белков TRIM важно для регуляции сигнальных путей, ведущих к синтезу IFN (Рисунок 1.4).



Примечание: А. — Pin1 взаимодействует с IRF3-Р и изменяет его конформацию, вызывая тем самым его убиквитинирование и его адресацию к протеасоме. Белки TRIM21 и TRIM19 предотвращают распознавание IRF3-Р Pin1, таким образом, продлевая синтез IFN β . В. — IRF7-Р также является субстратом для Pin1. TRIM8 защищает IRF7-Р от ферментативной активности Pin1, предотвращая его деградацию и, таким образом, предотвращая транскрипцию генов, кодирующих IFN α и IFN β .

Рисунок 1.4 – Регуляция ответа интерферонов с помощью Pin1 и белков TRIM

Название TRIM состоит из домена RING, одного или двух доменов B-box, и одного биспирального домена. Именно домен RING придает белкам TRIM способность присоединять убиквитин [535, 636]. Половина из 75 белков TRIM человека способна усиливать противовирусный ответ IFN в культуре клеток [461, 605, 637].

Pin1 представляет собой пептидил-пролил цис-транс-изомеразу (Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase NIMA-interacting 1 (Pin1)), т.е. фермент, который катализирует цис-транс-изомеризацию пептидной связи перед пролиновым остатком. Это изомеризация изменяет конформацию целевого белка, тем самым изменяя его стабильность, его субклеточную локализацию или его активность. Pin1 является ингибитором IRF3-зависимого противовирусного ответа, который позволяет прервать синтез IFN β [489]. TRIM8 защищает IRF7-P от активности Pin1- фермента, который вызывает его деградацию [637]. Таким образом, система IFN регулируется при помощи двух антагонистических белков: TRIM8, который позволяет эффективно продуцировать IFN клетками, и Pin1, который блокирует продукцию IFN (Рисунок 1.4).

1.2 Система интерферонов при инфекционных и неинфекционных заболеваниях

1.2.1 Интерфероны при острых респираторных вирусных инфекциях человека

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) - это острые воспалительные заболевания органов дыхания. Возбудителями ОРВИ являются пневмотропные вирусы, составляющие около 90% всех регистрируемых инфекций. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) в мире только тяжелыми формами гриппа заболевает от 3 до 5 млн человек, смертность от гриппа и его осложнений составляет от 250 000 до 500 000 случаев, экономический ущерб исчисляется от 1 до 6 млн. долларов на 100 тыс. населения [666]. За 2023 год в Российской Федерации было зарегистрировано 34,7 млн случаев острых инфекций верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации (ОРВИ). В 2023 г. ОРВИ переболело 23,6 % населения страны (2022 г. – 29,1 %). В Российской Федерации экономические потери от гриппа и ОРВИ составили 82,6 млрд. руб. или 86,0% от всего ущерба, наносимого инфекционными болезнями [106]. При этом 99% респираторных вирусных инфекций диагностируют у детей до 5 лет, преимущественно в развивающихся странах [661]. Среди ОРВИ преобладает заболеваемость гриппом: 5–20% у взрослых и 20–30% у детей [2]. Вирусы ОРВИ проникают воздушно-капельным путем в клетки эпителия слизистых дыхательных путей, в которых реплицируются и поражают другие органы и ткани, вызывая повышение температуры тела, озноб, головную боль, насморк, боль в горле и кашель. Помимо

лихорадочных форм ОРВИ описаны осложнения в форме энцефалитов, параличей и летальных исходов. Особенности течения респираторных вирусных инфекций и возможных осложнений определяются свойствами вирусов (репродуктивной активностью, вирулентностью, патогенностью), врожденным неспецифическим и специфическим иммунитетом хозяина [55, 86]. Частые ОРВИ свидетельствуют о нарушениях врожденного и адаптивного иммунитета [51, 655]. Респираторные вирусы могут вызывать хроническое воспаление, множественные нарушения врожденного иммунитета и обострения хронических заболеваний [213, 432, 547].

При вирусных инфекциях в результате презентации эндогенных антигенов в комплексе с основным комплексом гистосовместимости типа I - (Major Histocompatibility Complex of type I (MHC)) происходит индукция экспрессии эффекторных молекул. Самыми первыми продуцируются цитокины в участке инфекции и являются ответственными за местные воспалительные реакции и некоторые системные эффекты.

На ранних стадиях инфекции цитокиновый каскад начинается с IFN I типа ($IFN\alpha/\beta$) и провоспалительных цитокинов (tumor necrosis factor ($TNF\alpha$), $IL1\beta$ и др.). Полифункциональные цитокины, включая $IFN\alpha$, ассоциируют с лихорадочным состоянием, слабостью, сонливостью и анорексией.

Среди более 300 известных респираторных вирусов наиболее серьезные осложнения вызывают вирусы гриппа А и В, а также коронавирусы [621], включая 7 видов, обнаруженных у людей с признаками респираторных инфекций: α -коронавирусы HCoV-229E и HCoV-NL63 и β -коронавирусы HCoV-OC43, HCoV-NKU1, возбудитель атипичной пневмонии SARS-CoV (severe acute respiratory syndrome), возбудитель ближневосточного респираторного синдрома - MERS-CoV (Meadle East respiratory syndrome) и SARS-CoV-2, ответственный за пандемию атипичной пневмонии нового типа 2020 года (COVID-19). В настоящее время круглогодично и повсеместно циркулируют четыре сезонных коронавируса (HCoV-229E, -NL63, -OC43 и -NKU1), а также два высокопатогенных коронавируса MERS и SARS-CoV-2.

Роль IFN в противовирусной защите организма [204] была установлена в середине XX века и доказана с использованием нокаутных животных. При отсутствии в организме мышей рецепторов к $IFN\alpha/\beta$ и $IFN\gamma$ значительно возростала их восприимчивость к вирусной инфекции [215, 384, 655].

Ответ организма на вирусные инфекции начинается с распознавания вирусных PAMP клеточными рецепторами PRR, среди которых TLR, расположенные на поверхности клетки или в эндосомах, RIG-I-подобные) рецепторы (RLR), локализованные в цитоплазме. Это распознавание запускает сигнальные каскады, специфичные для каждого PRR, но все они приводят к фосфорилированию фактора транскрипции – IFN регулируемого фактора 3 (IFN regulator factor 3 (IRF3)). После транслокации в ядра клеток фосфорилированный IRF3

запускает транскрипцию гена, кодирующего $IFN\beta$ [429] (Рисунок 1.5). Для продукции $IFN\alpha$ необходим фактор транскрипции IRF7, который индуцируется $IFN\beta$. Эта последовательная продукция IFN ($IRF3/IFN\beta$, затем $IRF7/IFN\alpha$) позволяет усиливать врожденный иммунитет [429, 461] (Рисунок 1.5).

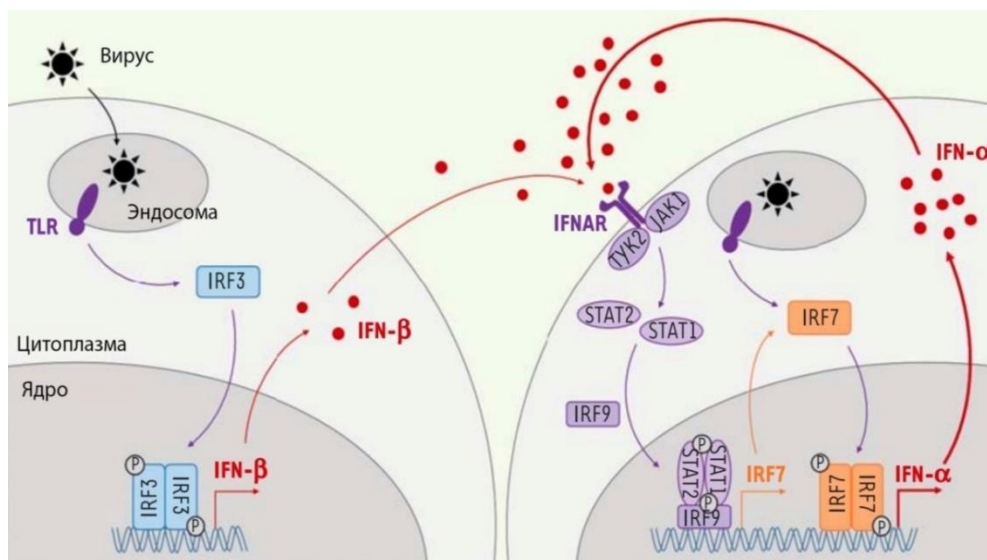


Рисунок 1.5 – Схема индукции IFN при вирусной инфекции (в соответствии с G. Maarifi)

Затем $IFN\beta$ будет действовать аутокринно или паракринно, связываясь со своим рецептором IFN I типа - IFNAR и активируя киназы Jak/Stat. Активация этого пути, в котором участвуют белки STAT1, STAT2 и IRF9, приводит к продукции сотен белков, кодируемых ISG. Один из них - IRF7 фосфорилируется после активации PRR, в результате образуются димеры фосфопротеина и после их транслокации в ядро индуцируется экспрессия гена $IFN\alpha$. Хотя большинство клеток организма способно к узнаванию вирусов, но специализируются в этой функции плазматоидные дендритные клетки (plasmacytoid dendritic cells (pDC)). В отличие от других клеток, pDC конститутивно экспрессируют ген IRF7, что позволяет им быстро секретировать большие количества IFN в кровь и ткани [595]. Эта уникальная способность определяет ведущую роль этих клеток в защите от вирусов.

При вирусных инфекциях первоначальная продукция IFN типа I, за которой следует секреция IFN типа III, важна для удаления вирионов и инфицированных клеток [655]. IFN I и III типов защищают соседние клетки от инфекции и таким образом ограничивают распространение вируса в организме (Рисунок 1.5). Помимо этого IFN участвуют в восстановлении и регенерации тканей, усиливают апоптоз и ингибируют пролиферацию эпителиальных клеток.

Ранние цитокины продуцируются неиммунными клетками в участке инфекции и являются ответственными за местные воспалительные реакции и некоторые системные эффекты. На ранних стадиях инфекции цитокиновый каскад начинается с $IFN\alpha/\beta$, $TNF\alpha$, $IL1$

[437, 540]. Полифункциональные цитокины IFN α , TNF α , IL1 и IL6 ассоциируют с лихорадочным состоянием, слабостью, сонливостью и анорексией. TNF α и IL1 стимулируют функции нейтрофилов и макрофагов, повышают уровни молекул адгезии на эндотелии кровеносных сосудов, таким образом опосредуя накопление нейтрофилов и макрофагов в респираторном тракте. Затем хемокины индуцируют миграцию нейтрофилов или макрофагов в ткани. Синергизм активации ранних цитокинов, их перекрёстные реакции и индукция экспрессии как собственных генов, так и других цитокинов обеспечивают цитокиновый каскад [437, 540, 621].

При респираторных инфекциях, вызванных РНК-содержащими вирусами гриппа и SARS-CoV-2, двухцепочечные репликативные формы которых связываются со специфическими рецепторами в эндосомах и цитозоле инфицированных клеток. Индукция экспрессии генов ранних цитокинов происходит быстрее и эффективнее по сравнению с инфекцией ДНК-содержащими вирусами и бактериями, у которых отсутствуют молекулярные мишени дц РНК. Индукция врожденного и адаптивного иммунитета обычно обеспечивает полную элиминацию внеклеточных вирионов и инфицированных клеток без хронизации инфекции и риска рекомбинации вирусных РНК с хромосомами клеток вследствие отсутствия ДНК-копий генома вирусов. Однако при этом повышен риск цитокинового шторма с патологическими нарушениями защитных систем организма. Взаимная адаптация вирусов и их хозяев включает взаимодействие вирусных белков с цитокинами или их рецепторами, что приводит к нарушениям первой линии защиты организма хозяина и развитию инфекции.

Для индукции врожденного иммунитета необходимы: 1) распознавание вирусов посредством рецепторов PRR и 2) инициация синтеза эффекторных молекул, в частности, цитокинов. Эти рецепторы локализованы как на поверхности, так и внутри клеток – в цитоплазме и в эндосомах. Среди таких PRR рецепторов наиболее изучены Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors - TLR). TLR 3, 7, 8 и 9 локализованы в эндосомах и распознают вирусные нуклеиновые кислоты, включая вирусные частично двухцепочечные репликативные интермедиаты и двухцепочечные репликативные формы. К PRR также относятся маннозные рецепторы, рецепторы – «мусорщики» SR, индуцируемые ретиноевой кислотой рецепторы, подобные индуцибельному гену-I (RIG-I) (retinoic acid-inducible gene-I (RIG-I)-like receptors (RLRs), и рецепторы, подобные домену олигомеризации, связывающему нуклеотид (nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs), дипептидилпептидаза-4 (DPP4) и др. Среди этих рецепторов в идентификации вирусных патогенов большое значение имеет RLR рецептор для внутриклеточных двухцепочечных РНК, который действует независимо от TLR в цитозоле клеток и является ответственным за индукцию IFN I типа [497, 576].

В результате распознавания и связывания вирусных и бактериальных PAMP с клеточными рецепторами PRR индукция экспрессии генов цитокинов происходит непосредственно после проникновения возбудителя в организм (от нескольких минут до нескольких часов) [597]. В итоге большинство респираторных вирусов, включая РНК- и ДНК-содержащие вирусы, элиминируются при помощи врождённого и адаптивного иммунитета хозяина с образованием клеток памяти и развитием пожизненного иммунитета.

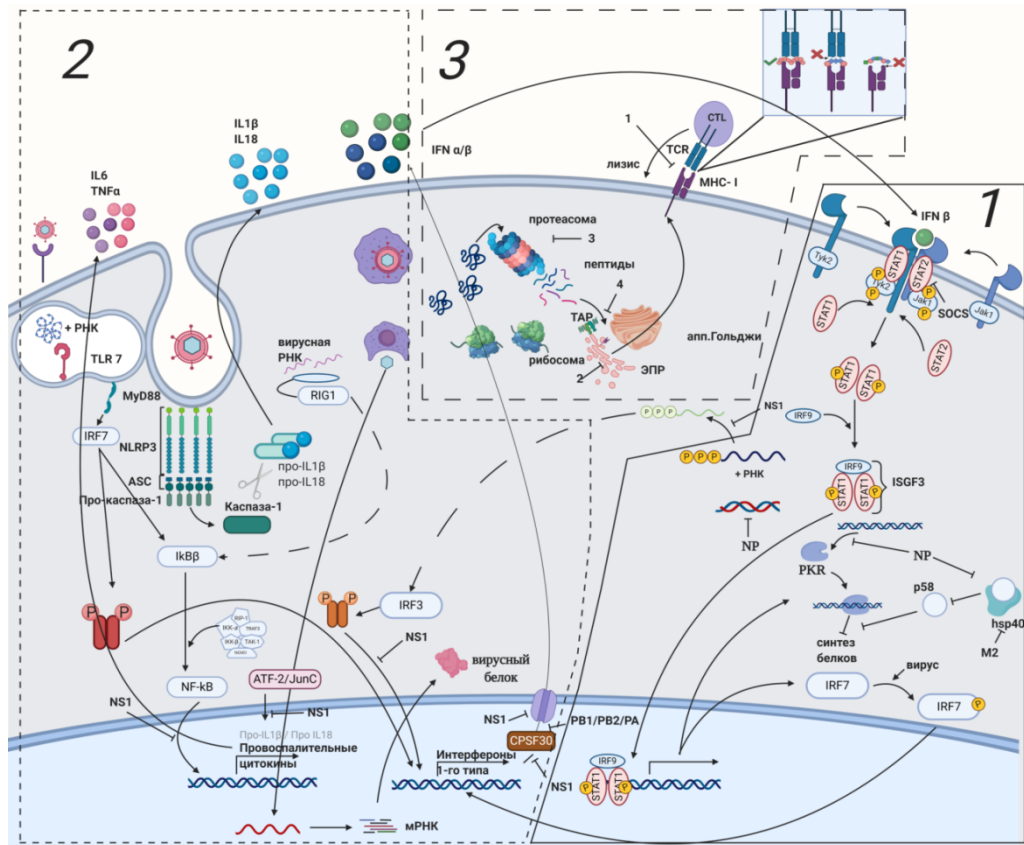
1.2.1.1 Иммунологические нарушения при гриппе

Одним из наиболее распространённых ОРВИ и поэтому наиболее исторически изученным является грипп, возбудителями которого являются РНК-содержащие вирусы гриппа семейства *Orthomyxoviridae*. По данным Всемирной организации здравоохранения вирус гриппа ежегодно вызывает от 3 до 5 миллионов случаев тяжелых респираторных инфекций, из которых до 650 тысяч заканчиваются летальным исходом [668]. Прослежена зависимость по долевого участию разных респираторных патогенов в период эпидемического сезона 2021–2022 годов: доминирующая роль принадлежала SARS-CoV-2 (18,8%), затем - вирусам гриппа (10,6%) и, наконец, возбудителям других острых респираторных вирусных инфекций (0,4–3,7%) [190].

При гриппозной инфекции нарушения в системе IFN и других цитокинов могут приводить к патогенному действию вследствие некроза тканей и увеличения проницаемости сосудов [58]. Цитокиновые каскады, обусловленные синергичной активацией экспрессии генов цитокинов и плейотропностью их действия, могут приводить к нарушениям защитных систем организма и усилению патогенеза [52, 122, 398, 540].

Первая линия защиты от инфекции вирусом гриппа обеспечивается IFN I и, особенно, IFN III типа, учитывая, что воротами инфекции являются эпителиальные клетки слизистых респираторного тракта [330]. Вирус гриппа взаимодействует с двумя рецепторами TLR3 и TLR7. В результате распознавания PAMP рецептором TLR3 в DC-клетках и макрофагах происходит активация IRF-3/NF-κB, приводящая к секреции IFNβ. Одновременно происходит TLR7-опосредованная активация MyD88, который активирует IRF7 и продуцирует секрецию IFN I типа (IFNα/β). IFITM3 участвует в подавлении инфекции вирусом гриппа, а снижение его продукции приводит к более высокому риску заболевания [365, 380]. Как известно, IFN III типа обеспечивают защиту кожи, легких и ЖКТ, ингибируя патогены, проникающие через слизистые оболочки [299, 366, 439]. IFNλ со специфическими рецепторами IFNLR1 и IL10R2 на поверхности ограниченного количества клеток не вызывает воспалительных реакций с патогенетическими последствиями [299, 439]. Полиморфные локусы генов IFN III типа также обеспечивают регуляцию их продукции [299, 366, 439].

Вирус гриппа активирует альвеолярные макрофаги, которые фагоцитируют инфицированные клетки и ограничивают распространение вируса [207, 444]. Ключевыми цитотоксическими и эффекторными клетками врожденного иммунитета являются натуральные киллеры (natural killer (NK)) и натуральные Т-клетки-киллеры (NKT) [201]. Лизис клеток, инфицированных вирусом гриппа А, опосредуется взаимодействием между рецепторами NK и вирусным гемагглютинином Н [437, 497, 538]. Гемагглютинин Н на поверхности клеток, инфицированных вирусом гриппа, важен для распознавания NK-клетками через их рецепторы [497]. Мыши, лишённые рецептора NKp46, NCR-1 (Natural cytotoxicity triggering receptor 1), проявляют повышенную заболеваемость и смертность после инфицирования вирусом гриппа [450, 510].



Примечание: signal transducer and activator of transcription (STAT)- транскрипционный фактор преобразователь сигналов и активатор транскрипции; interferon regulatory factor 7 (IRF7)- интерферон регуляторный фактор; Suppressors of Cytokine Signaling (SOCS)- супрессоры цитокиновых сигналов; interferon-stimulated gene factor 3 (ISGF3)- интерферон-стимулированный эффекторный фактор 3; nuclear factor (NF)-ядерный фактор; белки репликативного комплекса: Polymerase basic protein 1 (PB1); Polymerase basic protein 2 (PB2); polymerase acidic protein (PA); nucleoprotein (NP)-ядерный белок; protein kinase R (PKR)-протеин киназа R; transporters associated with antigen processing (TAP); NLRP3 - криопирин (сгуорутин) — цитозольный белок; Myeloid differentiation primary response gene (88) (MyD88)-цитозольный адаптерный белок, один из пяти белков, содержащих домен TIR, участвующих в передаче сигнала от TLR

Рисунок 1.6 – Молекулярные механизмы врожденного иммунитета при инфекции вирусом гриппа, опосредуемые рецепторами для IFN (1), TLR (2) и презентацией вирусных антигенов MHC-1 (3)

Помимо индукции врождённого иммунитета и Th1 поляризации преимущественно клеточного адаптивного иммунного ответа [115], дисбаланс цитокинов при гриппозной инфекции может приводить к патогенному действию вследствие некроза тканей и увеличения проницаемости сосудов [58]. Помимо этого, вирус гриппа использует разнообразные механизмы для ингибирования врождённого иммунитета и ускользания от иммунного ответа [116, 365, 395].

После связывания PRR с PAMP вируса гриппа происходит активация экспрессии генов цитокинов, самыми первыми из которых являются IFN α/β , а также миграция альвеолярных DC и макрофагов [395, 398, 507]. Несмотря на обилие рецепторов PRR, система IFN регулируется фосфатазами, регуляторными РНК и супрессорами цитокиновых сигналов (suppressors of cytokine signaling (SOCS)). Вирус гриппа индуцирует SOCS1 на ранней стадии инфекции, что приводит к негативной регуляции JAK-STAT пути и значительной супрессии активации STAT1, что далее приводит к подавлению IFN λ [594]. Негативная регуляция системы противовирусной защиты также опосредуется длинными некодирующими РНК (long noncoding RNAs (lncRNAs)) [454]. Вирус гриппа А вызывает деградацию рецепторов IFN I и II типа - IFNAR1 и IFNGR1 посредством взаимодействия вирусного гемагглютинина Н с клеточной киназой 1α , таким образом ослабляет ISG и клеточный иммунитет [255]. Неструктурный белок NS1 вируса гриппа в цитоплазме и ядрах инфицированных клеток является антагонистом IFN [353, 365]. Этот белок содержит РНК-связывающий домен, который связывается с вирусными РНК, что препятствует их взаимодействию с рецепторами TLR и RLR, способными узнавать двухцепочечные вирусные РНК. Методами обратной генетики показано, что вирус гриппа с укороченной формой NS1 или с делецией соответствующего гена индуцировали повышенные уровни секреции IFN *in vivo* и *in vitro* [386, 483, 635].

Белки репликативного комплекса PB1, PB2 и PA вируса гриппа участвуют в захвате «кэп»-структур мРНК клетки и, следовательно, подавляют экспрессию клеточных генов, в том числе и гена IFN β [593]. Структурный белок M2 вируса гриппа препятствует взаимодействию вирионов с TLR и ингибирует активацию протеинкиназы R, которая образует комплекс с белком теплового шока (heat shock protein 40 (hsp40)), что вызывает подавление трансляции белков, активацию апоптоза и ускользание вирионов от иммунной системы хозяина [467, 590].

In vivo клетки, инфицированные вирусом гриппа, обычно элиминируются посредством апоптоза [655]. Популяции эпителиальных клеток легких, называемые клубными клетками (club cells), способны выживать при вирусной инфекции благодаря IFN. После инфекции вирусом гриппа А эти клетки сохраняют особенности врожденного иммунного ответа [457]. Клетки, успешно элиминировавшие вирус, были обнаружены методом иммунофлуоресценции на 10 и 21 день после заражения. Большинство клеток «активировалось» на 5 день, как и

ожидалось. На 10 день были замечены активные живые клетки при отсутствии репликации вируса. Некоторое количество клеток было замечено также на 21 день [457].

Антитела, нейтрализующие вирус гриппа, являются штаммо-специфичными вследствие разнообразия поверхностных антигенов вируса гриппа (H и N) и потому не всегда обеспечивают перекрёстную защитную реакцию при повторном заражении другими вариантами вируса [630].

Кроме того, IFN могут вызывать развитие иммунопатологий при острых вирусных инфекциях, а также являются одной из причин вторичных бактериальных осложнений при гриппе [449, 565], поскольку угнетают продукцию IL17 и дифференцировку Th17-лимфоцитов [253, 441, 449, 602].

Иммунопатогенез вирусов респираторного тракта постоянно изучается, внося новую информацию, которая может быть полезна для разработки методов лечения/профилактики. Известно, что тяжёлая инфекция гриппа может привести к повреждению легочного эпителия. Для уменьшения повреждения эпителия, высвобождается ряд факторов роста и цитокинов, таких как IL22. Hebert K.D. и соавт. предложен механизм индукции вирусом гриппа H1N1 рецептора IL22R α [380]. Вирус гриппа H1N1 активирует TLR3 через свою дцРНК, что ведёт к усиленной продукции IFN I типа (IFN β), который, действуя через свои рецепторы IFN α R1 и IFN α R2, фосфорилирует STAT1 и активирует рецептор IL22R α 1. Быстрая индукция IL22R α 1 после инфекции вирусом H1N1 выполняет физиологическую роль, связанную с выживанием эпителиальных клеток легких во время инфекции, учитывая репаративную функцию IL22.

1.2.1.2 Иммунологические нарушения при новой коронавирусной инфекции COVID-19

Коронавирусы (*Coronaviridae*) - семейство РНК-содержащих вирусов, включающее 40 видов, объединённых в два подсемейства. На основании серологического и филогенетического анализа коронавирусы разделяются на четыре рода: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* и *Deltacoronavirus*. Большинство коронавирусов обычно вызывают относительно лёгкие лихорадочные формы респираторных инфекций верхних дыхательных путей с редкими летальными исходами. Однако β -коронавирус SARS-CoV-2 поражает эндотелий кровеносных сосудов и системно нарушает микроциркуляцию крови во всех тканях и органах [305].

На основании способности SARS-CoV-2 проникать не только в клетки эпителия верхних дыхательных путей и эпителиоциты желудка и кишечника с клеточным рецептором - ангиотензин-превращающим ферментом (angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2)) и клеточной трансмембранной сериновой протеазой типа 2, которые обеспечивают слияние вириона с

клеткой хозяина посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза [247, 262], но и в клетки пищевода, сердца, надпочечников, мочевого пузыря, головного мозга и гипофиза, а также эндотелия и макрофагов, предполагают существование дополнительных рецепторов и ко-рецепторов вируса помимо ACE2, в частности, CD147.

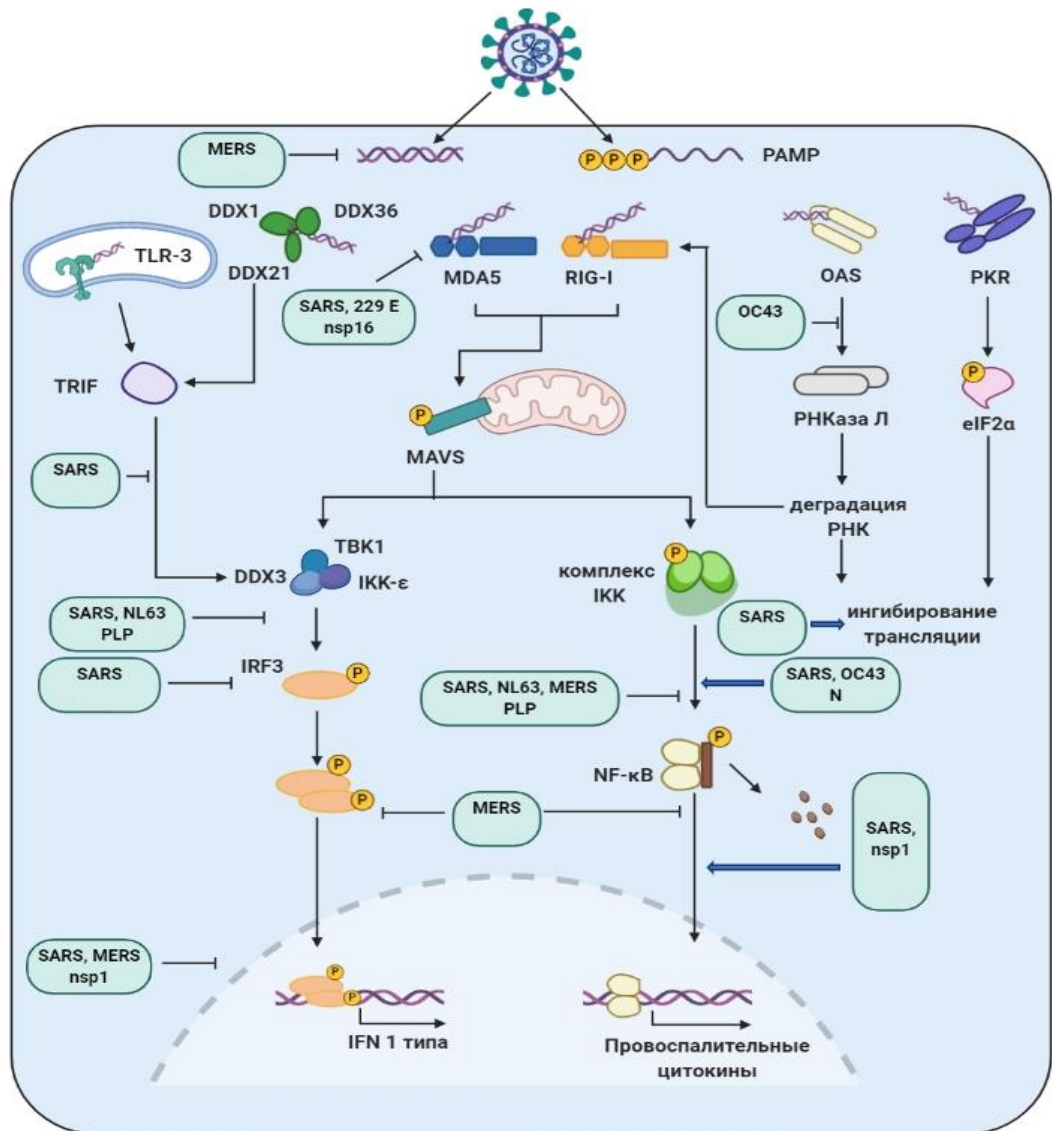
При инфекции сезонными коронавирусами обычно регистрируют активацию врожденного и адаптивного иммунитета Th1- и Th17-типов. Постинфекционный иммунитет непродолжительный и не защищает от повторных заражений. При заражении высокопатогенными коронавирусами (SARS-CoV-2) отмечен синдром активации макрофагов с дисрегуляцией продукции провоспалительных, противовоспалительных и иммунорегуляторных цитокинов и хемокинов, включая $IFN\alpha$ и $IFN\beta$, $IFN\gamma$ -индуцируемый белок 10, которые не обеспечивают защитные функции, а вызывают усиление патогенеза. Особенностью цитокинового шторма при COVID-19 является локализация вируса в легких, обусловленная тропизмом SARS-CoV-2 к легочной ткани, и повышение уровня ферритина в сыворотке крови [160, 305, 385].

Коронавирусная инфекция вызывает гиперактивацию провоспалительных факторов, повышение уровней экспрессии генов сигнальных белков с их каскадной сверхпродукцией, приводящей к цитокиновому шторму ключевых медиаторов воспаления ($IL6$, $IL1\beta$, $TNF\alpha$ и др.) и множественным нарушениям защитных систем организма и полиорганным патологиям [170, 284, 387, 599, 614].

В результате активации рецепторов врожденного иммунитета инициируется каскад сигнальных путей с выработкой провоспалительных цитокинов и IFN I типа. При инфекции коронавирусами происходит гиперэкспрессия провоспалительных факторов и резкое снижение IFN [390, 591].

Тяжелые формы COVID-19 могут имитировать состояние иммунного старения [599]. Присоединение белка S коронавируса к рецептору ACE-2 на поверхности клеток приводит к проникновению вирионов в клетку и появлению геномной РНК в цитоплазме [94]. N-концевой неструктурный белок 1 (Nsp1) коронавируса SARS-CoV-2 может ингибировать экспрессию клеточных генов, в том числе и генов врожденного иммунитета [243]. Белок Nsp1 связывается с малой субъединицей рибосом для остановки инициации трансляции и для эндонуклеазного гидролиза клеточных мРНК. При этом взаимодействие белка Nsp1 с 5'-нетранслируемыми регуляторными областями РНК коронавируса защищает их от деградации и обеспечивает эффективную трансляцию вирусных белков. Таким образом, этот полифункциональный неструктурный белок SARS-CoV-2 подавляет врожденный противовирусный иммунитет, в частности, оказывает негативное влияние на систему IFN , полностью блокирует трансляцию рецептора RIG-I и ISG *in vitro* [243, 591]. Вследствие отсутствия PRR не происходит его

взаимодействия с коронавирусными РАРР (дцРНК) и индукции экспрессии Th1 цитокинов, включая IFN β , необходимый для противовирусной защиты (Рисунок 1.7).



Примечание: DEAD – тетрапептид, состоящий из аминокислотных остатков аспарагиновой кислоты (D), глутаминовой кислоты (E), аланина (A), аспарагиновой кислоты (D); DDX1, 21, 36 - пептид DEAD РНК-геликазы 1, 21, 36; mitochondrial antiviral-signaling protein (MAVS); TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β (TRIF); NLRP3 - криопирин (англ. cryopyrin) — цитозольный белок, family pyrin domain containing 3 (NLR)-Nod-подобный рецептор

Рисунок 1.7 – Активация рецепторов и экспрессия эффекторных молекул врожденного иммунитета при коронавирусной инфекции. Пути «ускользания» вируса от иммунного надзора

Взаимная адаптация вирусов и защитных систем организма хозяина обеспечивает элиминацию внеклеточных вирионов и инфицированных клеток. Обилие рецепторов, распознающих двухцепочечные вирусные РНК и расположенных в цитозоле и внутриклеточных органеллах, приводит к быстрой индукции экспрессии генов ранних цитокинов. При этом, при инфекции РНК-содержащими вирусами (включая большинство респираторных вирусов, в том

числе вирусы гриппа и коронавирусы) возможно развитие каскадного «цитокинового шторма» с патологическими последствиями для хозяина. В процессе эволюции вирусов гриппа А и коронавирусов получили селективное преимущество варианты, нарушающие первую линию защиты – врождённый иммунитет [116].

Вирусная инфекция – острое или хроническое заболевание инфекционной природы, возбудителем которого является вирусная ДНК или РНК. Вирусы способны модулировать иммунный ответ хозяина, приводя к острым нарушениям различных органов и систем, к хроническим инфекционно-воспалительным процессам, с развитием вторичных иммунодефицитов, которые сопровождают иммунозависимые заболевания, связанные с нарушениями функционирования иммунной системы [216].

Вирусы респираторного тракта являются триггерами ряда иммунопатологий, в том числе аллергических заболеваний. IFN играют потенциальную роль в нарушении баланса в системе цитокинов Th1/Th2 и возникающий дисбаланс может вызывать аллергическое воспаление.

1.2.2 Роль интерферонов при аллергических заболеваниях

По данным ВОЗ, аллергия входит в число первых шести наиболее часто встречающихся заболеваний. Аллергические заболевания (АЗ) по своей распространенности идут после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, всех респираторных инфекций вместе взятых, а в некоторых экологически неблагоприятных регионах выходят на первое место.

По данным ВОЗ, в мире АЗ зарегистрированы среди 10-30% населения. АЗ диагностируют у 20% населения развитых стран [340, 667]. В странах Евросоюза заболеваемость АЗ достигает 30% с прогнозируемым ростом до 50% в ближайшие 10 лет [148, 339]. Распространенность АЗ в России колеблется от 15% до 35% [6, 572]. Согласно данным американской академии аллергологии, астмы и иммунологии (American Academy of Allergy, Asthma & Immunology) в России - 17,5%-35% в зависимости от климато-географической зоны и антропогенного фактора [208].

К АЗ относят не только основную триаду, включающую в себя бронхиальную астму (БА), аллергический ринит (АР), атопический дерматит (АтД), но и анафилаксию, аллергический конъюнктивит, риносинусит, крапивницу. Большое внимание уделяется проблеме лекарственной и пищевой аллергии [218]. Аллергические заболевания имеют разнообразные клинические проявления, являясь системными заболеваниями, с часто встречаемой сочетанной патологией полиорганного характера [109, 317, 528, 549].

При АЗ процесс развивается как гиперчувствительности немедленного (ГНТ) и замедленного (ГЗТ) типов, а также связанный с аутоенсибилизацией. К ГНТ относят 3 типа. I

тип - анафилактический, при котором IgE против растворимых аллергенов связываются с рецепторами FcεRI к Fc-фрагментам иммуноглобулинов класса IgE на поверхности базофилов и тучных клеток, при повторном контакте аллерген взаимодействует с этими антителами, происходит перекрёстная сшивка рецепторов FcεRI комплексами IgE-антиген, что вызывает дегрануляцию и выброс медиаторов воспаления, таких как гистамин, протеазы, цитокины и хемокины (Рисунок 1.8).

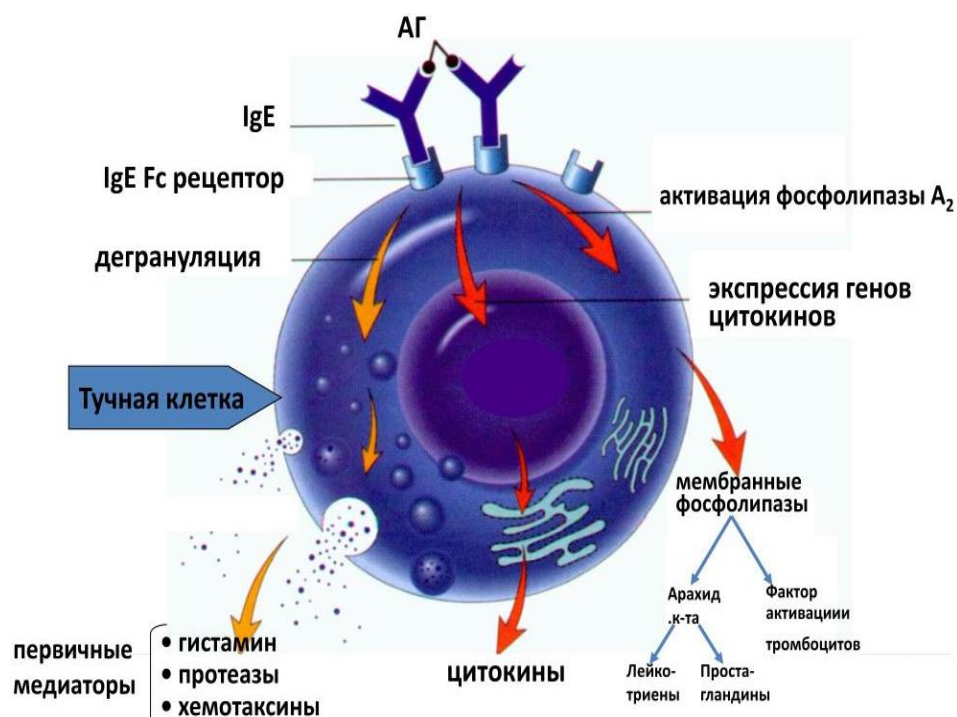


Рисунок 1.8 – Схема гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) I типа (анафилактического)

II тип - цитотоксический, при котором находящийся на клеточной мембране антиген связывается с антителами IgM и IgG с последующим фагоцитозом макрофагами, комплемент-зависимым цитолизом или разрушением клеток натуральными киллерами. III тип - иммунокомплексный, при котором иммунные комплексы растворимых антигенов со специфичными антителами IgM и IgG, иногда IgA, при дефектах системы комплемента накапливаются на стенках сосудов и на базальных мембранах. IV тип – это ГЗТ, опосредованная взаимодействием аллергена с макрофагами и сенсibilизированными Th1 лимфоцитами и развитием преимущественно клеточного иммунитета. Позже был выделен V тип, связанный с аутосенсibilизацией по отношению к белкам клеточной поверхности. Большинство АЗ, включая БА, АтД и хроническую крапивницу (ХК), относятся к ГНТ I типа с аллергензависимой IgE-опосредованной дегрануляцией тучных клеток и базофилов [340].

Известны три основные причины АЗ: 1). Генетическая предрасположенность. Молекулярно-генетический анализ позволил выявить гены, ответственные за развитие

атопической аллергии и находящиеся на хромосомах 5q, 11q, 13q [162]. 2). Чувствительность к аллергенам (неинфекционные: бытовые, эпидермальные, пыльцевые, пищевые, промышленные; инфекционные: бактериальные, грибковые, вирусные). Аллергены при первом поступлении в организм, предрасположенный к развитию аллергии, вызывают сенсибилизацию, т.е. образование специфических IgE-антител, а при последующих – развитие аллергических реакций. 3). Присутствие адъювантов, усиливающих иммуногенность для аллергенов и приводящих к сенсибилизации организма [103]. Инфекционный процесс сопровождается аллергическими реакциями немедленного и замедленного типа. Изменение реактивности в виде аллергии может предшествовать инфекции и видоизменять течение последней в начальной фазе ее развития. В других случаях организм сенсибилизируется в ходе самой инфекции, что приводит к возникновению последовательно развивающихся аллергических фаз заболевания. После гриппа и аденовирусных инфекций часто развивается БА и аллергические заболевания верхних дыхательных путей [126]. Вирусы индуцируют секрецию гистамина тучными клетками. Гены вирусов, интегрированные в клеточный геном клеток, изменяют активность соседних генов и могут быть причиной их повышенной или сниженной активности и как следствие этого приводить к развитию иммунодефицита, аллергии или аутоаллергии (аутоиммунной реакции) [103].

Вне зависимости от инфекционной или неинфекционной природы аллергенов поляризация врожденного иммунитета с преобладанием Th2 иммунного ответа относительно Th1 вызывает переключение синтеза тяжёлых цепей иммуноглобулинов на IgE. Рост экспрессии генов IL4, IL5, IL13 индуцирует усиление активности В-лимфоцитов. На ранних стадиях АЗ Th2 секретируют IL4, который активирует продукцию В-клетками специфических антител класса IgE. Большинство IgE прочно связывается с Fcε-рецепторами тучных клеток. Помимо инициации АЗ IL4 активирует пролиферацию покоящихся В-лимфоцитов, индуцирует дифференцировку наивных Т-лимфоцитов в Th2 CD4+ клетки, а также образование и секрецию иммуноглобулинов классов IgE и IgG1 [477], что далее приводит к усилению IgE-стимулированного синтеза IL4 и IL6 тучными клетками, обеспечивая каскадное усиление аллергопатологии. Помимо этого, IL4 и IL13 обеспечивают активацию макрофагов [466]. Цитокины IL4 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)) усиливают секрецию IgE. Известно, что IL5 является хемоаттрактантом для эозинофилов, вызывая их дегрануляцию при АЗ. IL13 стимулирует секрецию IgG4 и IgE В-клетками. Представитель семейства IL1 – IL33 на ранних стадиях АЗ секретируется эпителиальными клетками и активирует врожденные лимфоидные клетки типа 2 (innate lymphoid cells 2 (ILC2)), которые продуцируют IL5 и IL13, усиливая про-аллергический Th2-иммунный ответ [424]. Дополнительный вклад в развитие АЗ вносят

цитокины Th17 типа, среди которых IL17 стимулирует образование цитокинов Th2 и развитие эозинофилии [537]. Необходимо отметить, что подавление Th2 иммунного ответа и секреции ими IL4 опосредуется Th1 цитокинами, главным образом, IFN γ и IL12 [95]. Взаимоингибирующее действие IFN γ и IL4 приводит к иммуносупрессии пролиферации Th2 клеток, что вызывает восстановление фонового баланса. Тучные клетки находятся во всех васкуляризированных и барьерных тканях, на слизистых оболочках [646]. В развитии тучных клеток участвуют цитокины, секретируемые Th2-лимфоцитами и непосредственно тучными клетками — IL3, IL4, IL9 и IL10. Комплекс секретируемых тучными клетками цитокинов близок таковому Th2-клеток и включает IL4, IL5, IL10 и другие Th2-цитокины. Тучные клетки участвуют в гемопоэзе и служат источником цитокинов, хемокинов и факторов роста, опосредующих их участие в механизмах АЗ. При активации аллергенами и IgE тучные клетки секретируют множество биологически активных медиаторов, которые накапливаются в секреторных гранулах или синтезируются *de novo* [537]. Активация тучных клеток вне зависимости от IgE опосредуется продуктом гена MRGPRX2 человека – белком G, связанным с рецептором X2 (Mas-related G-protein coupled receptor member X2), что приводит к дегрануляции тучных клеток с последующими псевдо - аллергическими реакциями. На эффекторном этапе АЗ активация и регуляция тучных клеток происходит при участии IL33 наряду с другими цитокинами и некодирующими мРНК [537]. Th9 (IL9), возможно, ответственные за воспаление дыхательных путей, развитие аллергии, в частности, при БА [181, 506]. Недавно было показано, что врожденные лимфоидные клетки (Innate Lymphoid Cells (ILCs)) ILC2 играют решающую роль в защите от внеклеточных паразитов, в аллергических реакциях и в восстановлении тканей [312]. Нарушение регуляции ILC2 связано с аллергическими заболеваниями, такими как астма и атопический дерматит [640].

IFN I и III типа играют важную роль в регуляции иммунных ответов при астме. Их недостаточность может приводить к повышенной восприимчивости к инфекциям и неконтролируемой аллергической реакции 2 типа, что усиливает симптомы астмы [402, 542]. Например, у детей с астмой было выявлено повышенное содержание IFN- λ 1 и IFN- λ 2 в мокроте, что указывает на их потенциальную роль в патогенезе заболевания [402]. IFN- λ проявляют противовоспалительные свойства в условиях вирусных инфекций, что может приносить пользу больным астмой. Однако этот тип IFN также может препятствовать устранению бактериальных инфекций при коинфекциях, что подчеркивает сложность их участия в регуляции иммунного ответа [203, 402]. Это открытие имеет важное значение для понимания того, как IFN могут влиять на исход лечения астмы и других аллергических состояний, особенно в условиях инфекций.

Бронхиальная астма (БА)

БА является многофакторным заболеванием с аллергическим воспалением, гиперреактивностью бронхов, гипертрофией, гиперплазией и сокращениями гладкой мускулатуры, гиперсекрецией слизи в бронхах, активацией тучных клеток, эозинофилов, лимфоцитов, эпителиальных клеток, макрофагов, разрушением эпителия бронхов и образованием свободных радикалов оксида азота и 8-изопростана [149]. Астма является гетерогенным заболеванием, как результат сочетания генетических факторов, факторов окружающей среды, иммунной дисфункции и других факторов [323, 402, 664]. Симптомы БА могут усиливаться под влиянием вирусных инфекций, аллергенов, курения, физических нагрузок и стресса [249].

У здорового хозяина противовирусные IFN ответы контролируют и устраняют респираторные вирусные инфекции. У астматических хозяев на вирус происходит воспалительная реакция 2-го типа с высвобождением цитокинов тимусного стромального лимфопоэтина (TSLP), IL25 и IL33. Перечисленные цитокины способствуют индукции цитокинов Th2 и подавлению ответов IFN, а также содействию гиперреактивности дыхательных путей (ГДП) и увеличению слизи бокаловидными клетками, продукции IgE. Кроме того, IgE обладает способностью подавлять продукцию IFN α pDC.

Воспалительный процесс приводит к гиперреактивности бронхов, обструкции и появлению респираторных симптомов. Данное положение является принципиально важным в современной концепции болезни, обосновывая необходимость длительной, а иногда и постоянной, базисной терапии БА независимо от того, находится болезнь в данный момент в обострении или нет. Основными клетками воспаления при астме являются CD4 Т-лимфоциты, эозинофилы и тучные клетки. Для БА характерна генетическая предрасположенность к продукции иммуноглобулинов класса IgE - атопии (может присутствовать не всегда). Атопии предусматривают развитие аллергических реакций на различные виды аллергенов, которые могут быть бытовыми (домашняя пыль), эпидермальными (шерсть, пот и перхоть теплокровных животных – собак, кошек, лошадей, морских свинок, хомяков и т.д.), пылью растений и плесневыми грибами.

По данным статистики ВОЗ, от астмы страдает 5-10% населения в мире (примерно 300 миллионов человек) [209, 511]. За последние 10 лет произошло удвоение числа заболевших [206, 667]. В частности, отмечается высокий рост аллергического ринита (АР) и бронхиальной астмы (БА) во многих странах мира. В рекомендациях ARIA аллергический ринит и астма рассматриваются как проявления одного синдрома [218, 626]. Распространенность БА среди взрослого населения России, составляет от 3,4% до 10,6% [17].

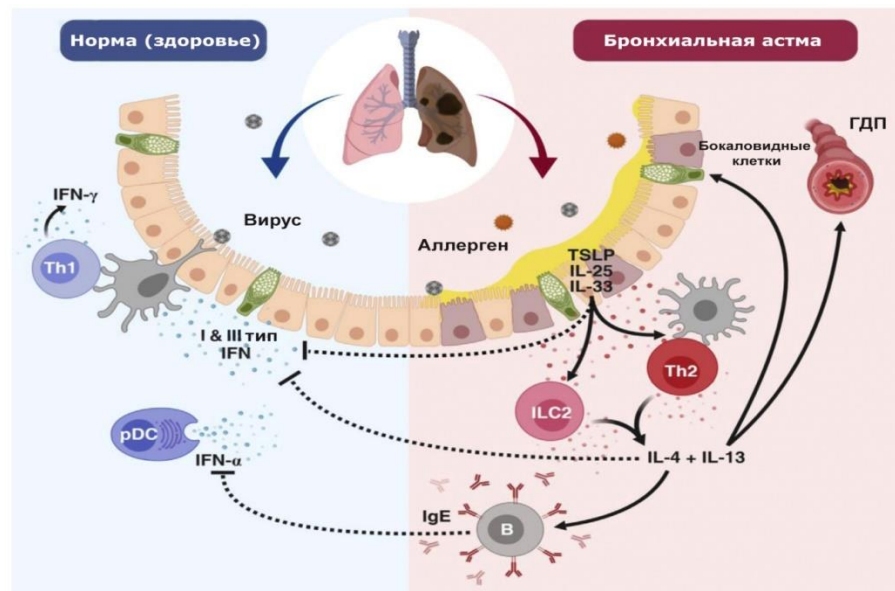


Рисунок 1.9 – Иммуные реакции на вирус у здорового человека и при астме (в соответствии с С. Altman)

Практически все больные астмой имеют проявления аллергической патологии слизистой верхних дыхательных путей [109]. В мире АР страдает 10-25% населения. У более 80% больных БА имеются клинические проявления ринита, а у 10-40% пациентов с АР развивается астма [218]. Частота сочетания БА и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) колеблется от 12,1 до 55,2% среди пациентов с ХОБЛ и от 13,3 до 61,0% среди пациентов с БА, причем ХОБЛ является одной из частых причин смерти [173].

Распространенность БА в РФ составляет 5–7 %: среди взрослых – 6–6,9 %, среди детей и подростков – 8–10 %, 11% в младенческой популяции и 5-7 % - в детской [142]. В 2014 г. доля диагностированных больных БА в РФ составила 15–20 % [142]. В 2017 году новые случаи астмы в Российской Федерации составила 84,2 случая на 100 000 населения [183]. При этом распространенность хронических респираторных заболеваний среди курильщиков была значительно выше [183]. Диагностические критерии состояния, определяемого, как БА сочетанного с ХОБЛ (“asthma-COPD overlap” (ACO)), в настоящее время четко не определены [644], поэтому данные о распространенности случаев этого состояния варьируют в разных публикациях: от 11 до 61% (среди пациентов с астмой) и от 4,4% до 66% (среди пациентов с ХОБЛ) [644]. В исследовании Ушаковой Д.В. и соавторов коморбидность астмы и ХОБЛ обнаружена у 17% пациентов из выборочной совокупности [174].

В России зарегистрировано около 7 млн больных БА, из которых каждый седьмой (почти 1 млн) имеет тяжелые формы течения заболевания [150]. Причём, оказывается, что около 5% пациентов с БА резистентны к предлагаемой терапии астмы [307, 328]. Развитию аллергической астмы, как правило, предшествуют такие atopические заболевания, как аллергический ринит, atopический дерматит, лекарственная аллергия [218, 307].

В России астма является самым распространенным АЗ, составляя от 2,6 до 20,3%. В последние годы всё продолжается рост заболеваемости БА, а также торпидности некоторых ее форм к проводимой терапии, что ведет к увеличению социально-экономического ущерба, к ранней инвалидизации и смертности, исчисляемой десятками тысяч больных ежедневно на планете. В настоящее время наибольшее значение для диагностики БА имеют клинические и функциональные тесты. Однако симптомы болезни не всегда отражают природу и степень выраженности воспаления, о чем свидетельствуют слабовыраженные взаимосвязи между значениями функциональных тестов и маркеров воспаления. Как известно, в основе измененной реактивности бронхов лежат наследственные, врожденные и/или приобретенные биологические дефекты. Одним из наиболее весомых предрасполагающих факторов является атопия, наследственно обусловленная гиперпродукцией IgE на воздействия аллергенов. Риск возникновения БА в 2-3 раза выше в случаях, когда семейный астматический анамнез дополняется атопическим. Показано, что степень тяжести БА коррелирует с гиперчувствительностью бронхов, в то время как уровень общего IgE и балльная оценка симптоматики в конце заболевания не коррелирует с нею [144, 665].

Иммунологические нарушения играют важную роль в патогенезе астмы. Ранее считали, что астма в основном вызвана дисбалансом между иммунными реакциями эффекторных Т-клеток хелперов Th1/Th2, которые ингибируют друг друга во время развития астмы. Ключевую роль в этих событиях играют IFN, влияя на механизмы воспаления и иммунной защиты [580, 670]. Известно, что клетки Th1 в основном опосредуют клеточный иммунный ответ, задерживают гиперчувствительность и способствуют синтезу антител, связанных с фагоцитозом, например, IgG, IgM и IgA, которые могут ингибировать развитие астмы. Клетки Th2 в основном опосредуют гуморальный иммунный ответ и немедленную гиперчувствительность. Они также способствуют пролиферации В-клеток, синтезу IgE, выработке антител и нефагоцитарной защите хозяина, способствуя развитию астмы.

Эозинофильный и нейтрофильный фенотипы астмы основаны на воспалительных клетках дыхательных путей. Эозинофильная астма является наиболее распространенным типом астмы, встречающимся у пациентов с астмой различной степени тяжести, и в настоящее время считается, что она в первую очередь связана с воспалительной реакцией 2-го типа, опосредованной клетками Th2 и врожденными лимфоцитами 2-го типа (ILC2). Аллерген-специфические клетки Th2, которые продуцируют IL-4, IL-5, IL-13 и даже IL-9, были обнаружены в крови людей с аллергической астмой [664]. Фолликулярные Т-клетки Tfh (follicular helper (Tfh) представляют собой отдельную субпопуляцию CD4 + Т-клеток, которые стимулируют В-клетки в продукции антител IgE. ILC2 продуцируют цитокины 2-го типа, в частности IL-5 и IL-13, активация ILC2 в легких вызывает ключевые признаки астмы, такие как

агрегация эозинофилов и гиперреактивность дыхательных путей в мышинных моделях, лишенных Т-клеток и В-клеток [355]. Считают, что роли клеток Th2 и ILC2 в патогенезе астмы являются взаимодополняющими [664].

Недавние исследования показали, что не только клетки Th1 и Th2, но и клетки Th17, Treg и их цитокины способствуют развитию БА посредством различных механизмов [664]. Клетки Th17 и IL23 усиливают не только нейтрофильное воспаление, но и опосредованное клетками Th2 эозинофильное воспаление дыхательных путей в модели астмы у мышей [182, 557]. У некоторых пациентов с астмой не наблюдается тканевой эозинофилии, но вместо этого наблюдается нейтрофилия. Этот тип астмы может быть связан с тяжелой астмой и астмой, устойчивой к глюкокортикоидам. IFN γ индуцирует JAK/STAT-ассоциированные, но не NF- κ B сигнальные пути в эпителиальных клетках дыхательных путей, вызывая их нечувствительность к глюкокортикоидам, которые используются для лечения пациентов с тяжелой БА [376]. Развитие этой астмы может быть связано с иммунным ответом клеток Th17 и Th1, который вызывает высвобождение провоспалительных медиаторов, гиперреактивность дыхательных путей и ремоделирование дыхательных путей. Иммунный ответ Th1 связан с тяжелой астмой и повышенной секрецией TNF α и IFN γ у пациентов с устойчивостью к терапии кортикостероидами. Было показано, что цитокин Th1 IFN γ способствует привлечению нейтрофилов в присутствии цитокина IL17. Повышенная инфильтрация нейтрофилов дыхательных путей может быть результатом способности IL17A увеличивать секрецию нейтрофильных хемокинов, таких как CXCL-8, и способности эпителиальных клеток дыхательных путей к продукции цитокинов IL1 β , IL6 и GM-CSF [296, 664]. Показано, что IFN α/β блокирует ответ Th2 путем подавления фактора транскрипции GATA3, таким образом ингибируя аллергические воспалительные процессы, блокируя активацию гранулоцитов и опосредованное IL4 переключение изотипа В-клеток на IgE [237, 324, 345].

При разных фенотипах БА изменения в иммунной системе существенно различаются. Один из механизмов регуляции развития аллергии связан с Т-регуляторными CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ лимфоцитами (Treg), которые подавляют иммунный ответ, тем самым поддерживая иммунный гомеостаз и ауто толерантность организма [196]. Сниженное количество Tregs наблюдалось в крови и индуцированной мокроте пациентов с астмой, а во время острых обострений астмы у астматиков наблюдается более выраженный дефицит Tregs [664]. Цитокины IL10, TGF- β и IL35 считаются основными факторами, участвующими в опосредовании регуляторных функций Treg. У лиц с АЗ функция этих клеток нарушена [75]. Основной мишенью Treg служат хелперные Т-лимфоциты [32]. В норме тип Treg-клеток составляет до 10% лимфоцитов периферической крови и контролирует активность иммунной системы [196].

В-регуляторные (Breg) лимфоциты обладают способностью подавлять иммунные реакции [537]. При БА дефицит Breg связан с более тяжелым аллергическим воспалением. Регуляторные функции, выполняемые В-клетками, не зависят исключительно от IL10, который ингибирует провоспалительные цитокины и поддерживает регуляторную дифференцировку Т-клеток.

Со стороны иммунной системы при БА следует отметить нарушение иммунорегуляторной функции лимфоцитов, проявляющееся снижением как количества CD8⁺ лимфоцитов в периферической крови, угнетением цитотоксической функции митоген-индуцированных иммунорегуляторных клеток; нарушение активационных процессов в лимфоцитах, проявляющееся в увеличении количества активированных лимфоцитов, несущих маркеры как ранней (CD25, CD71), так и поздней активации (HLA-DR), маркеры активации В-лимфоцитов (CD23). Важнейшим механизмом развития иммунологических нарушений при БА является нарушение индукции апоптоза лимфоцитов. Это проявляется в нарушении соотношения экспрессии активационных маркеров CD25⁺/CD95⁺ и HLA-DR⁺/CD95⁺ в сторону повышения под влиянием специфического аллергена [186].

Одной из причин АЗ являются инфекции с развитием хронического воспаления. Так, вирусные инфекции являются триггерами обострений таких обструктивных респираторных заболеваний, как БА и ХОБЛ [178, 551, 658]. Вирусные инфекции, как известно, являются основной причиной астматических приступов и часто первым проявлением астмы. Имеются доказательства роли вирусных инфекций в развитии астмы. Респираторно-синцитиальный вирус (РС вирус) был первым вирусом, ассоциированным с повышенным риском развития астмы, позднее выявлены и риновирусы [658]. При респираторных вирусных инфекциях у больных БА заслуживает внимания исследование системы IFN. Инфекции РС вируса и риновируса являются основными триггерами тяжелых заболеваний нижних дыхательных путей у младенцев и детей и тесно связаны с последующим развитием астмы. Недавние результаты выявили несколько новых аспектов реакции интерферона: вариации в моделях реакции IFN существуют как дискретные эндотипы, которые характеризовались наличием или отсутствием путей, связанных с IFN, действуют локально в дыхательных путях и системно через ось легкие-кровь-костный мозг [239, 402].

До 50% обострений БА у детей и взрослых связаны с риновирусной инфекцией, также обострению заболевания чаще всего способствуют вирусы гриппа А и В или их сочетания с парагриппозной и аденовирусной инфекцией, РС-вирусная инфекция [223, 402, 658]. У астматиков снижена способность защиты от респираторных вирусов, отчасти из-за недостаточной индукции IFN типа I и III в слизистой оболочке бронхов после инфекции [383,

402]. Показана важная роль Т-лимфоцитов и DC в индукции толерантности или повышенной чувствительности к аллергенам.

При обострении АЗ повышаются уровни экспрессии генов супрессорных цитокинов IL10 и TGF β , маркеров адаптивных регуляторных Т-клеток – Th1 и Th3. Также показано, что первичное изменение Treg при аллергии состоит в ослаблении их функции; в тех случаях, когда этот дефект полностью или частично компенсируется за счет повышения численности клеток, развивается ремиссия; отсутствие компенсации обуславливает развитие обострений аллергических заболеваний [620].

БА имеет легкую, среднюю и тяжелую степени тяжести проявления (по GINA) [440]. Причем, в клинической практике нередки случаи эндотипов БА, как атопической, так и сочетанной с ХОБЛ [546, 626]. Высокие уровни IL17 обнаружены в биопсии мокроты и бронхов, полученных у пациентов с тяжелой астмой. Значение IL17 состоит в индукции нейтрофильного воспаления дыхательных путей, нечувствительности к стероидам, профилю эпителиальных клеток и ремоделированию дыхательных путей [379].

Основные лекарства для лечения БА включают: антагонисты β -адренорецепторов короткого и длительного действия, гормональные лекарства в ингаляторе и в таблетках, средства для улучшения отхождения мокроты, при наличии аллергической БА; противоаллергические лечебные средства, препараты, которые снимают спазм бронхиальных мышц. Если присутствует аллергический компонент, который вызывает спазм бронхов, необходимо избегать того вещества, на которое имеется аллергия.

Препарат Saerulomycin индуцирует Treg, подавляя дифференцировку Th1 клеток, и ингибирование активности Th2-клеток с подавлением симптомов БА. Saerulomycin значительно подавляет дифференцировку клеток Th2, о чем свидетельствует понижение экспрессии GATA-3. Кроме того, снижение уровней IL4, IL5 и IL13 цитокинов и IgE отмечалось у животных с моделью БА. Замечено существенное подавление воспалительной реакции и количества эозинофилов в легких [252, 581]. Описано применение IFN I типа и терапевтический потенциал IFN III типа в контроле астмы [402]. Хотя IFN типа I и III имеют противовирусную активность, важны при бактериальной инфекции легких и обладают важными иммунорегуляторными свойствами.

Анализ цитокинов при БА необходим для прогноза тяжести и длительности воспаления. Обсуждают новые идеи роли IFN в тренированном иммунитете, иммунотерапии бактериальными лизатами и аллерген-специфической иммунотерапии.

Аллергический ринит (АР)

По данным American Academy of Allergy, Asthma & Immunology АР регистрируют среди 10-30% населения по всему миру [208]. Известно, что около 38 % больных АР страдают астмой, что значительно больше распространенности этого заболевания в популяции в целом (3–5 %) [109]. Таким образом, практически все больные астмой имеют проявления аллергической патологии слизистой верхних дыхательных путей. У более 80% больных БА имеются клинические проявления ринита, а у 10-40% пациентов с АР развивается астма [218]. Заболеваемость АР в РФ в 2016 г. варьировала от 12,7% до 24% в зависимости от региона [174, 526]. Тучные клетки, эозинофилы, лимфоциты, базофилы участвуют в аллергическом воспалении. При аллергическом воспалении повышается секреция слизи, угнетается функция мерцательного эпителия дыхательных путей, развивается спазм гладкой мускулатуры и отёк слизистой оболочки, что в совокупности приводит к затруднению дыхания [5]. Лечение АР включает антигистаминные средства системного действия без седативного эффекта, интраназальные противогистаминные препараты, элиминационные мероприятия для предотвращения контакта с аллергенами и гиперсенсibilизации организма и аллерген-специфическую иммунотерапию (АСИТ) [5].

Атопический дерматит (АтД)

Патогенез АтД основан на нарушениях эпидермального барьера, дисрегуляции иммунной системы, а также уменьшения разнообразия микробиоты кожи, происходящие на фоне генетической предрасположенности организма к развитию этой болезни [76, 292, 604].

Атопический дерматит (АтД) — распространенный упорно протекающий дерматоз, занимающий в структуре АЗ 50-60%, причем эта цифра неуклонно увеличивается [162]. АтД встречается в среднем у 20% детского и у 7% взрослого населения [316, 486]. Согласно оценкам ВОЗ 2017 г., заболевание было зарегистрировано у 230 миллионов человек по всему миру [224]. Заболеваемость АтД составляет 25% среди детей (до 7 лет) и 7-10% среди взрослых [224]. Среди детей старше 12 лет АтД стабильно составляет около 20% [224].

В Российской Федерации в 2018 г. было зарегистрировано 188,2 случая первичной заболеваемости на 10 000 населения, а распространенность составила – 426,3 случая на 100000 всего населения [162]. Заболеваемость АтД среди детей в возрасте от 15 до 17 лет в Российской Федерации составила 374,1 случаев на 100000 соответствующего населения, распространенность – 1134,0 случаев на 100000 соответствующего населения [162].

Все атопические заболевания тесно связаны между собой. Они могут сосуществовать у одного и того же пациента, а также сменять друг друга в ходе развития [7]. Распространенность АтД в мире среди детского населения составляет до 20%, среди взрослого населения - 2-8%. Эпидемиологические исследования в разных странах очень вариабельны. Однако общая распространенность АтД за последнее десятилетие по всему миру увеличилось в 2-3 раза. Хотя АтД может проявляться в любом возрасте, пик заболеваемости приходится на младенчество. Эпидемиологические исследования показали, что 45% детей имели это состояние до 6 месяцев, 60% - до 1 года и до 85% — до 5 лет [7].

При АтД провоцирующими факторами внешней среды являются различные ингаляционные аллергены, пищевые продукты, стресс, химические и физические воздействия, инфекции и т.д. Кроме Th2 в иммунопатогенезе АтД принимают участие разные популяции иммунокомпетентных клеток: Th1, Th9, Th17, Th22, T-регуляторные клетки и секретируемые ими цитокины [27].

Неповрежденная кожа при АтД имеет дефицит эпидермального барьера со сниженным разнообразием микробиома. При остром АтД клетки Лангерганса, IEDC, несущие специфический IgE, связываются с высокоаффинным рецептором для IgE, а дермальные дендритные клетки связывают аллергены и антигены. Цитокины, полученные из кератиноцитов (IL1 β , IL18, IL 25, IL33, TSLP) и из Th2 (IL4, IL13, IL31), непосредственно активируют чувствительные нервы, что способствует зуду. При хроническом АтД зуд усиливается за счет различных антигенов и молекулярных медиаторов, таких как гистамин. Расчесывание еще больше усугубляет дерматит, который, в свою очередь, усиливает зуд, создавая порочный круг [493]. При хроническом АтД пораженная кожа характеризуется усилением ответов Th2, Th1 и Th17 [480].

АтД характеризуется двухфазным воспалением, развивающимся от начальной, острой, фазы с преобладанием Th2 и Th22 к хронической фазе, характеризующейся одновременным присутствием Th1, Th2 и Th17 [607]. Цитокины, происходящие из Th2, вместе с медиаторами воспаления, высвобождаемыми клетками врожденного иммунитета, такими как тучные клетки, патогенетически способствуют инициации и усилению воспаления кожи при поражениях АтД. Дефекты эпидермального барьера, проницаемости кожи и кожного врожденного иммунного ответа в первую очередь не связаны с дефицитом гена филаггрина FLG (FILAGGRIN), а скорее вторично индуцируются воспалением Th2 [397].

IFN γ способствует активированию макрофагов, увеличивает продукцию таких цитокинов, как TNF α и IL1 β , усиливает бактерицидную активность сыворотки крови. В то же время IFN γ является антагонистом IL4, который выполняет функцию основного индуктора синтеза IgE. Следовательно, воздействие IFN γ приводит к уменьшению гиперпродукции IgE

при аллергическом воспалении, что имеет важное значение в регуляции иммунного ответа при АтД.

Хотя в острой фазе АтД преобладает Th2, долгое время считалось, что переключение Th2 на Th1 способствует хронизации заболевания [531]. Более поздние данные показали, что прогрессирование АтД из острой в хроническую связано с количественными, а не качественными изменениями цитокиновых ответов, с усилением Th2, Th1 и Th17 ответов при хроническом воспалении АтД [531].

При хроническом АтД цитокины, высвобождаемые лимфоцитами, взаимно усиливают друг друга. Например, в кератиноцитах IL4 потенцирует действие IFN γ и TNF α . Переход к хроническому АтД также сопровождается повышением активности цитокинов IL36 [531]. Повышенные уровни цитокинов IL36 и IL1 в кератиноцитах человека коррелируют с тяжестью заболевания при АтД и псориазе [416].

В документе PRACTALL были предложены три основных фенотипа АтД: неповрежденная кожа, острые обострения заболевания и хронический ремиттирующий рецидивирующий АтД. Иммунный ответ типа 2 присутствует во всех трех фенотипах с пиком острого заболевания. Здесь иммунный ответ типа 2 связан с воспалением, вызванным Th22 и Th17, присутствующим в коже без повреждений, тогда как ответы, обусловленные Th22 и Th1, широко распространены у пациентов с хронической формой АтД. Эпителиальная дисфункция присутствует в коже без повреждений и у пациентов с хроническим АтД [523].

В нескольких исследованиях АтД рассматривали как системное заболевание из-за его связи с различными состояниями, известными как сопутствующие атопические заболевания. АтД обычно ассоциируется с другими атопическими заболеваниями (атопический марш), такими как астма, ринит, конъюнктивит и пищевая аллергия, которые еще больше ухудшают качество жизни [480] с риском развития респираторной, контактной или пищевой аллергии. Сопутствующие состояния включают инфекционные, атопические, аутоиммунные, сердечно-сосудистые и психические расстройства, которые имеют сходные иммунные патогенетические механизмы с АтД [278].

Частые и тяжелые бактериальные и вирусные кожные инфекции являются типичным сопутствующим заболеванием АтД. *Staphylococcus aureus* обнаруживается в 90% поражений АтД, в то время как у здоровых людей сообщается о 5-30% распространенности колонизации [504]. Этот агент, по-видимому, участвует в патогенезе АтД посредством индукции IL4, IL13 и IL22 [278]. Наиболее частым вирусным осложнением у пациентов с АтД является герпетическая экзема, которая, как правило, чаще развивается у лиц с выраженной поляризацией Th2 и стойкой сенсibilизацией к аллергенам. Нарушение баланса Th2/Th1 приводит к снижению уровня антимикробных пептидов и барьерных белков. Пациенты с АтД,

пораженные герпетической экземой, также демонстрируют низкие уровни IFN γ и подавление рецепторов IFN γ , что приводит к дефектному ответу на размножение вируса [504].

Кожа людей с АтД уязвима для бактериальной или грибковой колонизации. Преобладающую кожную инфекцию при АтД вызывает *Staphylococcus aureus*, и у пациентов с АтД было продемонстрировано присутствие специфических IgE-антител к экзотоксинам *стафилококка* [524].

Грибы являются распространенными и важными аллергенами в окружающей среде, и при АтД часто наблюдается грибковая сенсibilизация к *Candida albicans*, *Alternaria alternata*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus fumigatus* и *Malassezia furfur*. Сенсibilизация IgE к *M. furfur* наблюдается при АтД, а не у пациентов с АР или астмой без АтД. Было продемонстрировано присутствие при АтД специфического распознавания IgE супероксиддисмутазы марганца (MnSOD), белка, вероятно, участвующего в IgE-опосредованной аутореактивности [377].

На коже человека обитают микроорганизмы, которые участвуют в гомеостазе и местном иммунитете. В частности, бактерии *Staphylococcus epidermidis* активируют IL17A (+) CD8 (+) Т-клетки кожи, которые ограничивают инвазию патогенов [236]. Не только бактерии, но и членистоногие – клещи бытовой пыли, также являются иммуномодуляторами и распространёнными аллергенами [266]. Рецептор лектина С типа в результате экспрессии кодирующего его гена *Clec10a* мыши и рецептора азиалогликопротеина 1 (asialoglycoprotein receptor 1 (Asgr1)) человека на поверхности макрофагов кожи ингибирует TLR4 и продукцию провоспалительных цитокинов. Муцин-подобные молекулы в клещах бытовой пыли, напротив, связываются с продуктами генов *Clec10a* мыши Asgr1 человека, что приводит к активации TLR с индукцией экспрессии генов цитокинов и развитием АтД [266]. Различные аллергены клещей бытовой пыли включают частицы фекалий, экзоскелета и разлагающиеся остатки членистоногих, которые обладают протеазной, хитин-связывающей и хитин-деградирующей активностями, а также гомологией с липополисахарид-связывающим фрагментом TLR4 тропомиозина беспозвоночных. Протеазы клещей обладают прямым эпителиальным воздействием, включая нарушение плотных межклеточных контактов и стимуляцию рецепторов, активируемых протеазами, причем последние вызывают зуд, дисфункцию эпителия и высвобождение цитокинов.

Другие компоненты, включая хитин, метилированную клещевую и бактериальную ДНК и эндотоксин, активируют рецепторы врожденного иммунитета PRR и действуют как адьюванты, способствующие сенсibilизации по отношению не только к аллергенам клещей, но и к другим аллергенам. При этом регистрируют АтД и сопутствующую «аллергическую триаду» (БА, риносинусит, конъюнктивит) [266]. Поэтому клещи бытовой пыли могут

вызывать не только ГНТ по отношению к клещевым аллергенам, но также к аллергенам других беспозвоночных, креветок, змей и общую сенсibilизацию организма.

МикроРНК (миРНК) представляют собой короткие (19-25 нуклеотидов) одноцепочечные молекулы РНК, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне и участвуют в патогенезе многих воспалительных и иммунологических заболеваний кожи. У пациентов с АтД отмечены нарушения регуляции миРНК, включая miR-143, miR-146a, miR-151a, miR-155 и miR-223, что вызывает изменения спектров цитокинов, воспаления и апоптоз кератиноцитов, зависящих от ядерного фактора κB , вместе с Th17 и активностью регуляторных Т-клеток (regulatory T cells (Treg)) [474].

Острая фаза АтД связана с активацией Th2/Th22 и клеток Th17, тогда как хроническая фаза характеризовалась выраженной Th1 поляризацией иммунитета с участием Th2 [251]. В соскобе кожи детей с АтД было обнаружено больше цитокинов, связанных с Th17, и антимикробных пептидов, чем в коже взрослых с АтД. Уровни IL9 и IL33 увеличены в соскобе кожи детей с АтД. У пациентов с АтД отмечен рост концентрации IL37 как системно (в крови), так и локально (в кератиноцитах эпидермиса и в некоторых стромальных клетках дермы, но не в лимфоцитах, инфильтрировавших ткань кожи), который связан с активностью IL18 в коже и прямо коррелирует с тяжестью симптомов заболевания [149]. В развитии АтД участвуют не только специфические иммунные, но и неспецифические механизмы [505]. При АЗ кожи важно состояние органов ЖКТ.

АтД сопровождается генетически детерминированными нарушениями иммунорегуляции. Киназы Janus (JAK) представляют собой группу молекул, состоящую из JAK1, JAK2, JAK3 и тирозинкиназы 2 (TYK2), которые являются ключевыми медиаторами передачи сигналов от рецепторов цитокинов для активации транскрипции в ядрах клеток [304].

В хронической фазе аллергического воспаления активно участвуют Th1-клетки, синтезирующие IFN γ . IFN γ способствует созреванию/дифференцировке кератиноцитов, что содействует восстановлению кожного барьера. Вместе с тем, описано негативное влияние IFN γ на течение АтД. Так, в присутствии IFN γ кератиноциты могут стать более восприимчивыми к воздействию TNF α , что может усиливать воспалительный кожный процесс. Повышенная продукция IFN γ способствует апоптозу кератиноцитов, что может быть одной из причин дисфункции барьера кожи.

Th17 также активно проявляют себя как в острую, так и в хроническую фазу АтД. Они синтезируют IL22, IL17A, IL17F, IL21, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и, вероятно, TNF α , IL6, IL8, IL17. Перечисленные цитокины способствуют миграции клеток в очаг воспаления, снижают экспрессию филаггрина (белка, участвующего в агрегации кератиновых филаментов в верхних слоях эпидермиса и удержании

липидов и белков между кератиоцитами (чешуйками) и ферментов, участвующих в процессинге филаггрина, а также подавляют экспрессию компонентов десмосом (межклеточные контакты, обеспечивающие структурную целостность слоёв клеток за счёт связывания воедино их сетей промежуточных филаментов). Анализ периферической крови больных с тяжёлым течением АТД выявляет повышенное количество IL17-продуцирующих клеток [221]. При АТД IL22 идентифицирован как ключевой медиатор эпидермальной гиперплазии. Th22 (с секрецией преимущественно IL22) обнаружены при воспалительных заболеваниях кожи [560, 619, 640]. Следует отметить, что у взрослых пациентов в патогенезе АТД преобладают аутоиммунные механизмы, в которых активно участвует IL22, IL17 [27]. Не совсем ясна на сегодняшний момент роль в патогенезе АТД Th9 клеток (тропная к коже субпопуляция Т-клеток), хотя показано, что при АТД экспрессия гена IL9 выше по сравнению с группой контроля, выявлена корреляция между экспрессией гена IL9 и тяжестью заболевания, IL9 стимулирует продукцию IFN γ , IL13, IL17 [27].

Иммунопатогенез АТД сочетает в себе угнетение клеточного иммунитета и активацию клеточно-опосредованной аллергической реактивности. Степень отклонений показателей клеточного иммунитета находится в зависимости от клинических особенностей течения заболевания [188]. IFN γ способствует активированию макрофагов, увеличивает продукцию таких цитокинов, как TNF α и IL1 β , усиливает бактерицидную активность сыворотки крови. В то же время IFN γ является антагонистом IL4, который выполняет функцию основного индуктора синтеза IgE. Следовательно, воздействие IFN γ приводит к уменьшению гиперпродукции IgE при аллергическом воспалении, что имеет важное значение в регуляции иммунного ответа при АТД.

В некоторых исследованиях проведен анализ концентраций в сыворотке крови IL10 и IL13, который показал их повышение примерно на 20% и 17% соответственно у пациентов с АТД по сравнению с таковыми у здоровых добровольцев контрольной группы. Результаты данной научной работы свидетельствуют о значимости вышеописанных ILs в механизмах регуляции иммунопатологических состояний, ведущих к развитию АТД [79, 397].

В качестве первой линии терапии АТД рекомендовано использовать топические глюкокортикоиды в связи с дисфункцией эпидермального барьера на фоне хронического воспалительного процесса. Нарушение функции филаггрина часто сопровождается присоединением вторичной инфекции и высоким риском развития других АЗ по причине нарушения процесса терминальной дифференцировки клеток эпидермиса и, как следствие, целостности кожного барьера. В связи с этим основой терапии АТД является длительное регулярное использование эмоленгов (средств, которые оказывают эффективное увлажняющее и регенерирующее действие на кожу), снижающих активность воспалительных процессов в

коже за счет замещения структурных компонентов нарушенного эпидермального барьера. Для определения прогноза заболевания АтД, а также терапевтических мишеней, важно знание особенностей патогенеза АтД цитокинового профиля и маркеров тяжести течения заболевания. В настоящее время проводится разработка новых методов лечения АтД с применением биологических агентов, таких как цитокины, антитела и гибридные белки [27]. Тщательное выявление значимых специфических иммунологических и воспалительных маркеров АтД может быть крайне перспективным для разработки новых лекарственных средств направленного действия, а также позволит заранее проводить отбор пациентов, которым необходимо лечение определенными препаратами. Это существенно повысит эффективность терапии, даст возможность разработать персонализированные подходы к диагностике и лечению данного хронического заболевания.

Хроническая крапивница

Крапивница является распространенным заболеванием и зарегистрирована у 15–25% людей в популяции, при этом четверть случаев приходится на хроническую крапивницу (ХК) [41]. Крапивница может быть разделена на две группы на основе ее клинических проявлений: острая форма, которая длится менее шести недель и часто является аллергической, и хроническая крапивница (ХК) [283].

Продолжительность заболевания у взрослых лиц составляет в среднем от 3 до 5 лет, при этом каждый пятый пациент с ХК отмечает появление волдырей на протяжении более длительного периода (до 20 лет). Кроме того, у каждого второго пациента с крапивницей регистрируется такое опасное для жизни состояние, как ангиоотек.

Клинически крапивница проявляется волдырями, которые не имеют характерной локализации и сопровождаются зудом, реже – жжением. Волдыри могут иметь тенденцию к слиянию в местах наибольшего трения одеждой или частей тела друг о друга (ягодицы, поясничная область, плечи, бедра). На лице элементы могут практически не выступать над уровнем кожи. В ряде случаев высыпания захватывают практически весь кожный покров и могут сопровождаться повышением температуры тела. Волдыри имеют сначала бледно-розовый цвет за счет локального расширения поверхностной сети кровеносных сосудов дермы (*urticaria rubra*), а затем, по мере нарастания отека в соединительной ткани и сдавления сети мелких сосудов, они могут приобретать фарфорово-белый цвет (*urticaria alba, seu porcellanea*). При уменьшении выраженности отека волдыри постепенно становятся розового цвета, а затем исчезают бесследно. ХК характеризуется возникновением на коже зудящих волдырей на протяжении более 6-ти недель, представляющие собой хорошо очерченные области отека без

изъязвлений с осветленными центрами и выпуклыми границами, которые охватывают только поверхностные участки дермы и наблюдаются в сочетании с окружающей эритемой кожи. Повреждения достигают нескольких миллиметров в диаметре, но могут объединяться, образуя волдыри шириной до нескольких сантиметров. Крапивница также может сопровождаться наличием ангионевротического отека, который возникает на подслизистых поверхностях верхних дыхательных путей, ЖКТ и более глубоких слоях кожи, включая подкожную клетчатку. Для лечения крапивницы назначают: антигистаминные препараты; кортикостероиды для лечения наиболее тяжелых форм заболевания; аэрозоли, противозудные мази; специальную диету, которая исключает из рациона продукты, вызывающие аллергию.

Таким образом, нарушения функционирования иммунной системы связаны с развитием многих наиболее распространенных и социально-значимых заболеваний. К числу таких заболеваний относится аллергия, которая является четвертым по значимости хроническим заболеванием в мире. Аллергические болезни оценивают как глобальную проблему мирового здравоохранения. Распространенность аллергических заболеваний в России колеблется от 17,5% до 35% (по результатам многолетнего мониторинга Государственного научного центра «Институт иммунологии» ФМБА России в различных климато-географических зонах). Иммунологические нарушения, в том числе в системе IFN, играют важную роль в патогенезе аллергических заболеваний: преобладание Th2 иммунного ответа относительно Th1 вызывает переключение синтеза тяжёлых цепей иммуноглобулинов на IgE вне зависимости от природы аллергенов; активация врожденных лимфоидных клеток типа 2, которые продуцируют IL5 и IL13, усиливая про-аллергический Th2-иммунный ответ; угнетение клеточного иммунитета и активация клеточно-опосредованной аллергической реактивности. Подавление Th2 иммунного ответа и секреции ими IL4 опосредуется Th1 цитокинами, главным образом, IFN γ и IL12. Следует особо отметить, что инфекционные агенты, в том числе вирусы респираторного тракта, играют важное значение в ряде иммунопатологий, являясь триггерами аллергических заболеваний, при которых IFN играют потенциальную роль в нарушении баланса в системе цитокинов Th1/Th2 с возникновением аллергического воспаления.

1.2.3 Интерфероны при аутоиммунных заболеваниях

К иммунозависимым заболеваниям относятся также аутоиммунные патологии, возникающие в результате ошибочного распознавания иммунной системой биополимеров клеток и тканей в качестве чужеродных при нарушениях иммунологической толерантности с последующим развитием аутоиммунных реакций [42, 352, 583]. В соответствии с общепринятой концепцией клональной селекции в результате соматической рекомбинации

фрагментов ДНК и V(D)J перегруппировок участков генов иммуноглобулинов и Т-клеточных рецепторов могут возникать клоны лимфоцитов, сенсibilизированных к аутоантигенам [248]. При нарушениях иммунологической толерантности у лиц с мутантными вариантами генов развиваются АИЗ [147, 347, 475, 482].

Ауто толерантность — это естественная иммунологическая толерантность организма к собственным тканям, формирующаяся в процессе эмбрионального развития, которая обеспечивается посредством двух механизмов: 1) удаление аутореактивных Т-лимфоцитов в тимусе ("отрицательный отбор") и 2) подавление аутоиммунных реакций с помощью регуляторных Т-лимфоцитов (Treg). Аутоантигены индуцируют аутореактивные В-лимфоциты и модуляцию супрессорной способности регуляторных Т-лимфоцитов (T regulatory (Treg)). Кроме того, IL17, продуцируемые Th17 клетками, принимают участие в воспалении, которое может вызывать разрушение тканей и АИЗ [231, 426, 515, 579, 617, 625]. Апоптоз определяет отрицательный отбор аутореактивных иммунных клеток для обеспечения ауто толерантности. Нарушения апоптоза усугубляют развитие АИЗ [217, 228, 275]. Лимфоциты распознают нативные структуры клеточных мембран или межклеточного вещества, индуцируют воспаление и обеспечивают разрушение аутоантигенов и клеток организма [195].

Следует отметить, что аутоиммунные реакции непрерывно происходят в норме у здоровых лиц. Их действие направлено на устранение стареющих, трансформированных и инфицированных клеток. Образование аутоантител, направленных к дефектным клеткам организма, является нормальным физиологическим процессом, необходимым для защиты организма от развития инфекционных, онкологических и других заболеваний [195].

Однако к АИЗ относятся не все патологические процессы, при которых происходит повреждение тканей под действием иммунной системы. Иммунного ответа против чужеродных антигенов не бывает без повреждения собственных тканей. При проникновении в организм патоген взаимодействует с клетками и межклеточным веществом, поэтому при деградации антигенов иммунная система разрушает и окружающие собственные ткани посредством апоптоза [195]. Следует отметить, что в настоящее время не существует способов лечения АИЗ [615].

Повышенная продукция IFN наблюдается при многих АИЗ и может являться как основным, так и второстепенным звеном патогенеза [561, 641, 642]. Интерферопатии I типа относятся к группе заболеваний, при которых активация системы IFN происходит вследствие распознавания собственной нуклеиновой кислоты в цитоплазме как чужеродной. Так, при системной красной волчанке появление ядерных антигенов в цитоплазме и аутоиммунный ответ могут быть спровоцированы влиянием внутренних и внешних факторов [639]. Выделяют заболевания с подтвержденной ключевой ролью гиперпродукции IFN, однако причины ее в

настоящее время неизвестны. Общей чертой для ряда как системных, так и органоспецифических АИЗ является дисрегуляция путей сигнальной передачи IFN I типа, что делает их потенциальными мишенями для терапевтических вмешательств и биомаркерами заболевания [642]. К ним относят ревматоидный артрит, дерматомиозит, рассеянный склероз. В патогенезе рассеянного склероза IFN γ является главным индуктором клеточного иммунного ответа, активирует макрофаги, микроглиальные клетки и CD8⁺ Т-лимфоциты. Гиперпродукция IFN β считается основным звеном патогенеза полимиозита/дерматомиозита [406]. У пациентов с ревматоидным артритом отмечено повышенное содержание IFN γ [648] и IFN λ 1 [343] в сыворотке крови по сравнению с показателями здоровых людей. Несмотря на противовирусный механизм IFN, гиперактивация этой системы не коррелирует с эффективностью противовирусной защиты [394].

По данным ВОЗ, в мире АИЗ зарегистрированы среди 5-10 % населения, чаще у женщин и преимущественно у молодых, однако могут возникнуть в любом возрасте [147, 180, 276, 300, 335, 462, 487, 583, 615]. В настоящее время отмечается рост заболеваемости АИЗ [472, 519, 582]. Описано более 150 АИЗ человека [99, 583, 615], при объявлении ВОЗ текущего столетия, как «века аутоиммунных заболеваний» [172].

АИЗ являются результатом многофакторного нарушения генетической предрасположенности и aberrантной активации иммунной системы при инфекциях и повреждениях эпителия [477, 632]. АИЗ возникают в результате взаимодействия между генетическими и негенетическими факторами [332, 477, 615, 632]. Заболеваемость АИЗ ассоциируют с различными генетическими локусами. Важная роль в формировании генетической предрасположенности принадлежит генам хромосомы 6 человека, кодирующим главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex (MHC)). На 6-й хромосоме человека локализовано более 200 генов, связанных с иммунным ответом, включая: систему человеческих лейкоцитарных антигенов (Human Leukocyte Antigens (HLA)-A, HLA-B, HLA-C — главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex (MHC), I класса, A, B, и C локусов; HLA-DQA1 и HLA-DQB1 формы HLA-DQ гетеродимер MHC класса II, DQ: Celiac1, IDDM; HLA-DRA, HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5 формы HLA-DR, гетеродимер MHC класса II, DR; HLA-DPA1 и HLA-DPB1 формы HLA-DR, MHC класса II, DP. Установлена корреляция между риском развития АИЗ и системой HLA: DR1 и DR4 locus и ревматоидный артрит (РА); DR2 (рассеянный склероз (РС)), DR3 (системная красная волчанка (СКВ)), DR5 (тиреоидит Хашимото), DQ2/8 (диабет I типа) [175, 195, 242]. Продолжается поиск других генов, определяющих развитие АИЗ.

Активация иммунной системы при вирусных и бактериальных инфекциях [216, 396, 477, 632], пассивной и активной иммунизации, при стрессах, под действием неблагоприятных

экологических факторов [143] также могут приводить к нарушениям ауто толерантности из-за возможных перекрёстных реакций [300, 309, 477, 482, 632, 651, 659]. Некоторые вирусы обладают иммуномодулирующими свойствами и могут вызывать развитие АИЗ [321, 541, 555, 582, 659]. В частности, вирус Эпштейна-Барр (Epstein-Barr virus (EBV)) и вирус герпеса человека типа 4 являются факторами риска развития АИЗ, в частности, РС [582]. Также цитомегаловирус (cytomegalovirus (CMV)), вирус иммунодефицита человека (human immunodeficiency virus (HIV)) и Т-лимфотропный вирус человека 1 (human T lymphotropic virus 1 (HTLV-1)), β -коронавирус SARS-CoV-2 могут вызывать развитие АИЗ [321, 435, 623]. Инфекция SARS-CoV-2 может вызвать различные АИЗ (Рисунок 1.10) [354, 435, 453, 623]. У генетически предрасположенных людей SARS-CoV-2 вызывает гиперстимуляцию иммунной системы, что приводит к активации макрофагов с продукцией медиаторов воспаления: цитокины, хемокины и ферритин («гиперферритинемия») [170, 354].

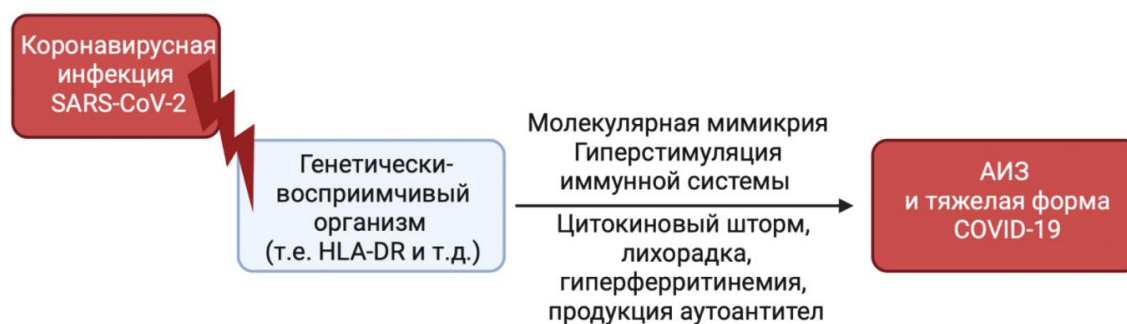


Рисунок 1.10 – Развитие аутоиммунных заболеваний после заражения SARS-CoV-2 (в соответствии с G. Halpert)

Вследствие молекулярной мимикрии вируса SARS-CoV-2 и аутоантигенов, а также возможных перекрестных серологических реакций у пациентов с COVID-19 возможен срыв иммунологической толерантности с развитием АИЗ (Рисунок 1.10, 1.11) [354, 435, 453, 623].

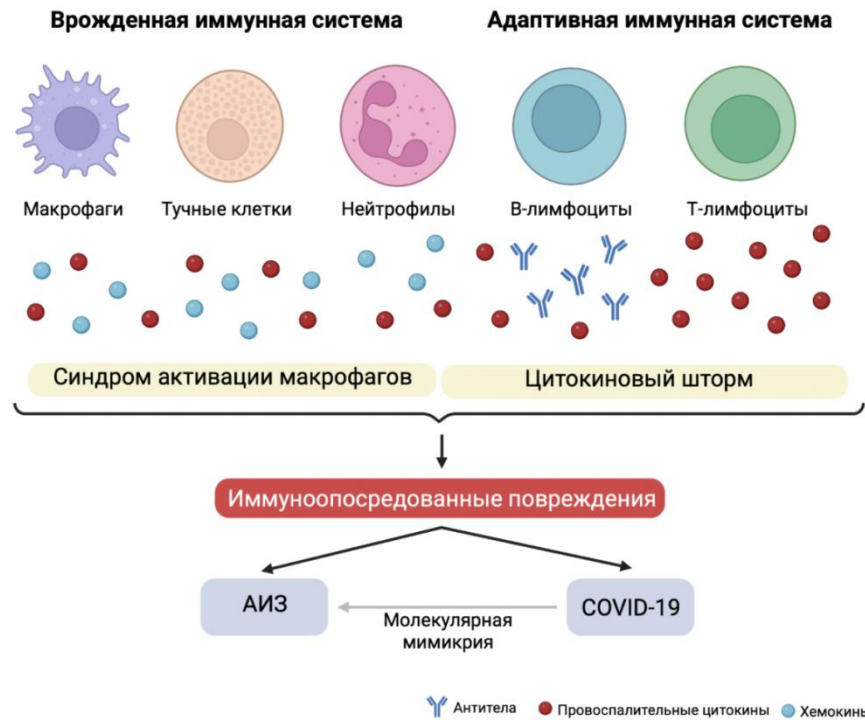


Рисунок 1.11 – COVID-19 и аутоиммунные нарушения (в соответствии с Y. Liu)

Разнообразие аутоантител при COVID-19 может отражать временную иммунную активацию в условиях острой инфекции, а также раннюю потерю толерантности, и дальнейшее развитие хронической аутоиммунной патологии [623]. У пациентов с наиболее тяжелыми формами COVID-19 выявляют аутоантитела, направленные против IFN типа I [226].

Бактерии *Enterococcus gallinarum* могут мигрировать из ЖКТ в другие органы (в селезёнку, печень или лимфоузлы) с последующим развитием АИЗ [634].

Наряду с инфекционными агентами, химические и физические факторы, а также старение, участвуют в этиопатогенезе АИЗ через эпигенетические изменения [288, 633].

В нормальных условиях дифференцировка клеток Th1/Th2 находится в сбалансированном состоянии, дисбаланс клеток Th1/Th2 приводит к возникновению заболеваний. Чрезмерная экспрессия Th2 может привести к неадекватному иммунному ответу, который провоцирует такие заболевания, как аллергия и астма. Сверхэкспрессия Th1 или Th17 может привести к аутоиммунным заболеваниям, таким как ревматоидный артрит и рассеянный склероз. При этом IFN и ISG регулируют дифференцировку Т-хелперных лимфоцитов (Th1, Th2, Th17) [231, 318, 351, 410, 501, 515, 579], как подробно рассмотрено выше в разделе 1.1.1.

Таким образом, АИЗ являются следствием нарушений ауто толерантности, возникающими вследствие сочетания генетической предрасположенности, эпигенетической регуляции, негенетических экзо- и эндогенных факторов, нарушений врожденного и адаптивного иммунитета. АИЗ являются хроническими заболеваниями, характеризующимися долговременным прогрессирующим поражением органов с периодическими обострениями

[356, 543, 583, 616, 617]. При АИЗ аутоантитела могут быть направлены против одного или нескольких аутоантигенов в клетках одного органа (органоспецифические): РС; тиреотоксикоз; вульгарная пузырчатка, или буллезный дерматоз; миокардит; псориаз и др. При системных АИЗ аутоантитела направлены против аутоантигенов, находящихся в разных тканях и органах: ревматические заболевания (ревматоидный артрит (РА), системная красная волчанка (СКВ), язвенный колит; глютенная энтеропатия и др. [94, 435].

Рассеянный склероз (РС)

По данным ВОЗ, в мире зарегистрировано более 2,8 миллионов больных РС. Из них в Российской Федерации - 79 000 человек (~0,05%-%) с ежегодным увеличением их числа на 5-7% [23, 143, 146, 176, 554]. Показатели заболеваемости РС с 2008 по 2013 год увеличились на 10% за 5 лет с 30 до 33 случаев на 100 000 населения [478]. РС возникает чаще у женщин, чем у мужчин, в молодом и среднем возрасте от 15 до 40 лет. Это АИЗ распространено среди европеоидной расы; реже в Японии, Корее, Китае. Среди всех причин инвалидизации нетравматического происхождения лиц молодого возраста РС занимает первое место [143].

В Российской Федерации показатели заболеваемости РС колеблются от 10 до 80 случаев на 100 000 человек в зависимости от региона и национальности населения. Следует отметить рост распространенности РС и показатели заболеваемости, возможно, из-за лучшей диагностики и лечения, также и изменения в профиле экологического/эпигенетического риска и/или факторах образа жизни; увеличение соотношения женщин и мужчин, рост заболеваемости РС преимущественно у женщин; внешний вид и увеличение частоты РС в этнических группах, ранее свободных от РС (северные племена, якуты и др.). Последние данные показывают, что в европейской части России распространенность РС колеблется от 30 до 80 случаев, в Сибири — от 20 до 70 случаев с неуклонным ростом, особенно у женщин [240].

При РС развиваются два патологических процесса: очаговое аутоиммунное воспаление с разрушением миелина и образованием в основном периваскулярных воспалительных инфильтратов в головном и спинном мозге, а также нейродегенерация, проявляющаяся локальным диффузным повреждением аксонов и апоптозом нейронов. Воспалительные и дегенеративные процессы при РС различаются по проявлениям, течению, биохимическим и патоморфологическим характеристикам, а также ответам на терапию [20, 188, 263, 328, 446, 615].

Патоморфологически РС характеризуется образованием множественных очагов разрушения (демиелинизации) миелиновой оболочки проводящих путей головного и спинного мозга и разнообразием неврологических симптомов [298, 564]. У больных РС могут поражаться

любые отделы ЦНС, однако чаще всего очаги воспаления концентрируются в перивентрикулярном белом веществе, затем в зрительном нерве, мосте, ножках мозжечка, продолговатом и спинном мозге [42, 56, 143, 287]. Возможно образование и кортикальных очагов (25-30% от всех очагов при РС), при этом поражаются миелиновые волокна, расположенные в сером веществе. Кортикальные очаги играют значительную роль в двигательных и особенно когнитивных нарушениях. В последнее время считается, что именно степень нарастания количества кортикальных очагов на ранних стадиях заболевания определяет скорость прогрессирования инвалидности и когнитивных нарушений. Объем кортикальных очагов рассматривается для прогнозирования развития инвалидности [42]. Размеры очагов разрушения миелина - бляшек - варьируют от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров, но при прогрессировании заболевания возможно слияние с образованием более крупных бляшек [42, 143, 189, 269, 495, 674]. К этиологическим факторам возникновения РС относят как внешние экологические (вирусные и бактериальные инфекции [93, 310, 338, 393]; влияние токсических веществ и радиацию (в том числе солнечную) [143]; особенности питания [165]; геоэкологическое место проживания [227, 306, 536]; травмы; стрессы), так и внутренние (спонтанный мутагенез (хромосомные aberrации или соматические перестройки генов T-клеточных рецепторов и иммуноглобулинов) [136, 347]; генетическая предрасположенность к РС, обусловленная несколькими генами, кодирующими IFN и др. факторы врождённого иммунитета [210, 298, 359, 375, 468, 482, 500, 503, 543, 566]; а также, эпигенетическая регуляция, не связанная с генетическими изменениями, а обусловленная ковалентной модификацией (метилованием) ДНК или гистоновых белков с изменениями уровней экспрессии генов, в том числе транскрипции РНК [273, 281, 282, 434, 501, 516, 564, 569]. Наиболее вероятными факторами внешней среды считают инфекции и интоксикации, особенно инфекции, персистирующие в ЦНС [657]. Концепция молекулярной мимикрии при РС предполагает наличие сходных линейных или конформационных антигенных детерминант для белков вирусов или бактерий и клеток организма [42, 270]. У больных РС выделены и идентифицированы нейротропные арбовирусы и вирусы семейств *Herpesviridae*, *Rhabdoviridae*, *Paramyxoviridae* [93, 146, 219, 222, 338, 350, 460, 513, 567, 654]. Коронавирус тоже проникает через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Нейтрализующие аутоантитела (НАТ) класса IgG против IFN типа I были обнаружены у пациентов с COVID-19 [226]. Такие антитела подавляют способность IFN типа I блокировать инфекцию SARS-CoV-2 *in vitro* [529]. Снижение вирусных нагрузок в результате подавления репликации вирусов под действием препаратов IFN β способствует предотвращению обострений РС [256].

При РС факторы врожденного и адаптивного иммунитета могут вызывать воспалительные нарушения ГЭБ [42, 344, 586].

Более чем у 50% больных РС повышены уровни антител к основному белку миелина (ОБМ) и ганглиозидам мозга. Также выявлены антитела против немиелиновых антигенов, таких как нейрофиламенты (это белки, которые формируют «каркас» нервных клеток), РНК-связывающие белки и компоненты натрий-калиевых насосов. При обострениях РС повышена активность Т-лимфоцитов, направленных против иммунодоминантных эпитопов ОБМ [37, 225, 227].

Ведущим условием для запуска иммунопатологических реакций при РС считается активация аутореактивных CD4⁺ Т-лимфоцитов [143, 267] с участием факторов врожденного иммунитета [375, 434, 534, 586].

Полиэтиологичность заболевания, трудность диагностики на ранних стадиях, особенности клинического течения затрудняют лечение РС. Поскольку до настоящего времени выявлены множественные причины заболевания, то этиотропное лечение РС отсутствует [143, 536, 564]. Патогенетическое лечение направлено на купирование аутоиммунного воспалительного процесса и уменьшение скорости нарастания нейродегенеративных изменений.

Терапевтические подходы направлены на иммунологические процессы [21, 143, 388, 536]. Традиционно базисной терапией РС считается гормональная иммуносупрессивная терапия, опыт применения которой насчитывает уже более 55 лет [346, 476, 559]. Однако глюкокортикостероидные (ГК) препараты не могут предотвратить и остановить патологический процесс и обострения заболевания. Кроме того, в ряде случаев ГК оказываются неэффективными [134].

С 1980-х годов в терапии РС стали применять препараты IFN [376, 465]. Использование препаратов IFN α (реаферон, виферон) и особенно IFN β (бетаферон, ребиф, авонекс) приводило к увеличению продолжительности ремиссий, положительной динамике в виде уменьшения количества очагов демиелинизации [143, 562]. Поскольку IFN β индуцирует Fas-опосредованный апоптоз дендритных клеток посредством активации каспаз 3 и 11, то его аналоги применяют для снижения уровня аутоантител при РС. Показано, что в результате комбинированного лечения рекомбинантными IFN α и IFN β наступает стабилизация процесса, ограничение повреждений ЦНС и улучшение клинического состояния пациентов [185]. Попытки применения IFN γ в лечении РС оказались неудачными, более того, они приводили к существенному утяжелению течения заболевания, возможно, из-за участия IFN γ в обострениях РС [202, 314, 367, 375].

Наиболее эффективным для лечения РС оказался IFN β [233, 362, 388, 562]. Положительные результаты IFN β при РС связаны со снижением уровня продукции IFN γ и TNF α , а также – индуцированной этими цитокинами экспрессии молекул антиген-

представления и адгезии, что приводит к снижению ответа Т-клеток на антигены [202, 600]. Показано, что IRF1 и IRF8, являясь медиаторами действия $IFN\gamma$, индуцируют апоптоз клеток - предшественников олигодендроглии [277]. В отличие от $IFN\gamma$, $IFN\beta$ не вызывает апоптоз олигодендроглиальных клеток.

$IFN\beta$ терапия снижает частоту клинических обострений примерно на 35% и задерживает прогрессирование расстройств [132, 562]. Однако часть больных РС (30-50%) не отвечает на $IFN\beta$ терапию [42, 290]. Это можно связать или с нарушением в сигнальном механизме IFN [324, 362, 406] или с появлением нейтрализующих антител (НАТ) к $IFN\beta$ в ходе лечения [361].

Среди основных препаратов, изменяющих течение РС (ПИТРС) (Таблица 1.4) лекарственные средства (ЛС): глатирамера ацетат (ГА), препараты $IFN\beta$ -1a/1b [39, 42, 132, 187, 189, 233, 373, 404, 465, 495, 562, 631, 674].

Таблица 1.4 – Перечень основных ПИТРС «первой линии» терапии РС, используемых в РФ

Фармакотерапевтическая группа	Международное непатентованное наименование ЛС	Торговое наименование и производитель
Иммунобиологический препарат Интерферон бета-1b	Высокодозный Интерферон бета-1b	Инфибета (Генериум) Интерферон бета-1b (Биокад)
Иммуностимуляторы. Интерфероны	Высокодозный Интерферон бета-1a	Тебериф (Биокад)
Иммуностимуляторы. Интерфероны. Интерферон бета 1a.	Низкодозный интерферон бета-1a	Синновекс (СиннаГен Ко., Иран)
Противоопухолевые препараты и иммуномодуляторы. Иммуностимуляторы. Интерфероны. Пэгинтерферон бета-1a.	Пэгинтерферон бета-1a	Плегриди (Biogen IDEC)
Иммуностимуляторы. Иммуностимуляторы другие.	Глатирамера ацетат	Тимексон (Биокад)
Иммунодепрессанты селективные	Терифлуномид	Терифлуномид (Биокад)

Новый препарат перорального применения - Tecfidera (диметил фумарат), производства Biogen Inc. (США), ранее известный как BG-12 [274], продукт метаболизма которого - монометилловый фумарат (ММФ) может активировать транскрипционного фактора (Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)) для передачи сигналов в ядра клеток [274].

Влияние $IFN\beta$ на Th1, Th2 и Th17 клетки показывает, что у людей лечение $IFN\beta$ не может быть следствием индукции Th1/Th17 на Th2 сдвиг [202, 362, 388, 427]; также через $IFN\beta$ терапию возможен TLR7-регулируемый механизм [374]; показана регуляторная роль

DC/iNK (invariant natural killer) клеток [201, 401]. IFN β является индуктором продукции фактора роста нервов (nerve growth factor (NGF)) астроцитами, что объясняет нейропротективный эффект при РС [42]. IFN β снижает число циркулирующих В-клеток памяти с помощью Fas-опосредованного апоптоза, индуцирует апоптоз дендритных клеток посредством активации каспаз 3 и 11, уменьшает Т-клеточную активацию и высвобождение воспалительных цитокинов, индуцирует экспрессию ISG, регуляторного IL10 и рецептора TLR7 [202, 229, 286, 362, 374, 563, 564, 672].

Ведущие специалисты по РС считают, что терапия иммуномодулирующими препаратами при РС должна начинаться как можно раньше и проводиться как можно дольше [20, 495]. Однако долговременная терапия препаратами IFN может приводить к побочным эффектам (локальная реакция в месте введения, гриппоподобные симптомы, повреждение печени и нарушение психики) [42, 533]. При этом часть пациентов резистентна к препаратам IFN β и глатирамера ацетат [21, 42]. При длительном применении могут появляться антитела, связывающие (САТ) и нейтрализующие IFN (НАТ) [349]. Эффективности терапии IFN β у больных РС могут препятствовать НАТ, которые появляются у 44% больных обычно между 6-18 месяцами терапии [212, 301, 492, 498, 527, 539, 585, 589, 610].

Появился новый оригинальный препарат компании BIOCAD- ТЕНЕКСИА® (МНН сампэгинтерферон бета-1a). Сампэгинтерферон бета-1a – усовершенствованная форма пегилированного интерферона длительного действия, который относится к классу «иммуномодулирующее средство». Препарат применяется для лечения ремиттирующего РС у взрослых пациентов старше 18 лет.

В России имеется альтернативный опыт применения индуктора IFN амиксина (тилорон) при РС [30, 40, 54, 451].

Перечень препаратов «второй линии» для лечения РС показан в Таблице 1.5. Финголимод (Гилениа)- модулятор сфингозин-1-фосфат (sphingosine-1-phosphate (S1P))-рецепторов, направлен на предотвращение выхода аутоагрессивных лимфоцитов из лимфоузлов и миграции в органы-мишени [261, 265]. Терифлуномид (абаджио)- пероральный иммуномодулятор, который ингибирует синтез пиримидинов с подавлением репликации Т- и В-лимфоцитов.

Таблица 1.5 – Перечень основных лекарственных средств ПИТРС «второй линии» терапии РС, разрешенных в РФ

Фармакотерапевтическая группа	Международное непатентованное наименование ЛС	Торговое наименование, производитель
Антинеопластические и иммуномодулирующие препараты. Иммунодепрессанты. Иммунодепрессанты, включая кортикостероиды. Иммунодепрессанты селективные. Натализумаб.	Натализумаб	Тизабри (Биоген)
Иммуносупрессивное средство	Финголимод	Модена (Фармасинтез) Несклер (МираксБиоФарма) Финголимод натив (Натива) Финголимод (Биокад)
Моноклональное антитело, обладающее противоопухолевым и иммуносупрессивным действием.	Алемтузумаб	Лемтрада (Sanofi)
Антинеопластические и иммуномодулирующие препараты. Иммуносупрессанты. Иммуносупрессанты селективные.	Окрелизумаб	Окревус (Roche)
Селективный иммуносупрессант.	Кладрибин	Мавенклад (Merck)
Иммунодепрессанты. Иммунодепрессанты селективные.	Сипонимод	Кайендра (Новартис)

Терапия моноклональными антителами (МАТ) приобретает большое значение в лечении РС [302, 434]. В настоящее время для лечения РС в большинстве стран мира разрешен к использованию препарат МАТ - Натализумаб (Тизабри)- (МАТ к молекуле адгезии (Very Late Antigen-4) (VLA-4) или альфа-4-интегрину) с блокированием основного механизма миграции лимфоцитов в ЦНС [22, 302, 434, 556, 588]. Алемтузумаб - моноклональное антитело к поверхностной молекуле лимфоцитов CD52 (Лемтрада) [4, 268], но зарезервирован для отдельных пациентов с высокой активностью заболевания из-за частой индукции потенциально опасных вторичных аутоиммунных явлений [434]. Препарат показал себя, как один из наиболее сильных иммуносупрессивных препаратов в лечении РС, противовоспалительный эффект

которого превосходит действие высоких доз IFN β . Обсуждается нейропротективное действие препарата [4]. Окрелизумаб (гуманизированное моноклональное антитело, предназначенное для селективного воздействия на CD20-позитивные В-клетки), лицензируется как препарат второй линии терапии у высокоактивных пациентов РС [434].

В целом, побочные эффекты МАТ ограничивают их применение [302, 434]. Новый отечественный препарат дивозилимаб зарегистрирован в РФ 24.03.2023 г., разработан учеными биотехнологической компании BIOCAD. Лекарственное средство получило торговое наименование Ивлизи® (МНН дивозилимаб). Выпуск отечественного оригинального препарата может значительно повысить эффективность терапии и качество жизни пациентов. Принцип действия дивозилимаба заключается в способности определять и связывать антиген CD20, расположенный на поверхности В-лимфоцитов, играющих ключевую роль в повреждении нервной ткани при рассеянном склерозе. Именно В-лимфоциты атакуют и вызывают повреждение миелиновой оболочки нервных клеток [298, 660]. Дивозилимаб, связывая CD20-рецепторы В-лимфоцитов, вызывает истощение пула В-клеток, что приводит к уменьшению иммуновоспалительного процесса в центральной нервной системе и, соответственно, снижению количества обострений у пациентов с рассеянным склерозом. Препарат хорош тем, что может применяться один раз в полгода, т.е. обладает пролонгированным действием, что важно для пациентов с рассеянным склерозом.

Предлагаются подходы к лечению РС с помощью нейтрализующих антител к IL17A [434]. Продолжается поиск терапевтических вакцин для экстренного применения у больных РС.

Таким образом, для терапии РС имеются следующие ЛС: ПИТРС 1й линии; ПИТРС 2й линии, разрешенные в Российской Федерации: препараты моноклональных антител; глюкокортикоиды при обострениях РС; иммуносупрессоры и цитостатики; ангиопротекторы: антиагреганты, антиоксиданты, ингибиторы протеолитических ферментов, препараты, улучшающие метаболизм мозговой ткани (в частности, витамины, аминокислоты, ноотропы). В целом, патогенетическое лечение РС направлено на купирование аутоиммунного воспалительного процесса и уменьшение скорости нарастания нейродегенеративных изменений. Существующие методы терапии позволяют стабилизировать РС на определенном неврологическом уровне и могут затормозить прогрессирование патологического процесса, особенно при рано начатом лечении.

В Европе и США для борьбы с нарушением ходьбы активно уже 10 лет используют ЛС на основе действующего вещества фампридин, обладающего способностью восстанавливать проводимость по частично прерванному нервному волокну. Разработанный российский препарат Кинезиа (АО «Валента Фарм») на основе вещества фампридин поступил в гражданский оборот с марта 2023 года.

К АИЗ относятся ревматические заболевания с преимущественным поражением соединительной ткани, особенно выраженным при ревматоидном артрите (РА).

Ревматоидный артрит

Ревматоидный артрит (РА) - аутоиммунное системное воспалительное заболевание соединительной ткани с аутоиммунным полиартритом мелких суставов [97], характеризующееся прогрессирующей деструкцией суставов и поражением внутренних органов. Полиэтиологичность РА включает генетическую предрасположенность и факторы внешней среды. Гетерогенность патогенетических механизмов РА проявляется в разнообразии фенотипов и эндотипов, что позволяет рассматривать РА как клинко-иммунологический синдром [10, 469].

Распространённость РА в мире составляет 0,5-1 % (до 5 % у пожилых) [570, 608]. В РФ в 2019 г. зарегистрировано 319 730 больных РА (показатель заболеваемости 274,3 на 100 тыс. населения) с ростом на 3% по сравнению с 2018 г. [107]. При обследовании пациентов с жалобами на боли и припухание в суставах специалистами-ревматологами, распространённость РА оказалась равной 0,61% [33], что соответствует средним эпидемиологическим оценкам в мире.

При РА образуются аутоантитела классов IgM, реже IgG, IgA и IgE против константной части Fc-фрагментов IgG (т.н. ревматоидный фактор (РФ)), против кератогиалиновых зерен (антиперинуклеарный фактор), против кератина (антикератиновые АТ) и коллагена, которые вызывают хроническое воспаление суставов. В синовиальной жидкости суставов обнаружены аутореактивные Т-лимфоциты, вызывающие воспаление с участием макрофагов, продуцирующих провоспалительные цитокины с последующим образованием гиперплазии синовиальной оболочки и повреждением хряща.

Целевая группа Европейской лиги против ревматизма (EULAR) согласовала [311] 5 принципов и 11 рекомендаций использования синтетических ЛС (метотрексат, лефлуномид, сульфасалазин); ГК; моноклональные антитела (адалimumаб, цертолизумаб) голимумаб, инфликсимаб, ритуксимаб, тоцилизумаб, сарилумаб) и целевые синтетические ЛС, а именно ингибиторы янус-киназы тофацитиниб, барицитиниб, филготиниб, упадацитиниб. Несмотря на успехи в лечении РА, поиск этиотропных ЛС продолжается.

Системная красная волчанка

Системная красная волчанка (СКВ) - аутоиммунное диффузное системное заболевание соединительной ткани, характеризующееся системным иммунокомплексным поражением

соединительной ткани и её производных, с поражением сосудов микроциркуляторного русла. Симптомы СКВ многообразны и могут быть связаны с поражением любых систем и органов. Заболеваемость СКВ в мире варьирует в пределах 0,013-7,71% [341]. В 2021 году в США показатели заболеваемости СКВ составляли 3,7-49 на 100 000 человек, в Европе - 1,5-7,4 на 100 000 человек [341]. В России показатели заболеваемости СКВ составляют 4-250 новых случаев на 100 тыс. населения в год, дебют заболевания наблюдается в возрасте от 16 до 55 лет, женщины болеют в 8-10 раз чаще, чем мужчины [12].

При СКВ образуются аутоантитела к ДНК, в том числе нативной, нуклеопротеинам, антигенам цитоплазмы и цитоскелета. Считают, что аутоантитела к ДНК появляются в результате образования ее иммуногенной формы в комплексе с IgM в эмбриональном периоде, или молекулярной мимикрии с антигенами патогенов при инфекциях или антиидиотипическими антителами, имитирующими структуру антигенов. При СКВ апоптоз клеток, под влиянием каспазы 3 приводит к разрушению нуклеопротеосомного комплекса ядра с индукцией соответствующих аутоантител. Действительно, в крови больных с СКВ резко повышено содержание антител, направленных против нуклеосом [519]. ДНК-связывающие антитела от больных СКВ обладают ферментативной ДНКазной активностью (ДНК-абзимы). Антитела, направленные к ДНК, обладают цитотоксическими свойствами, посредством рецептор-опосредованного апоптоза и катализа ДНК-абзимом [519]. В пробах сыворотки больных СКВ обнаруживаются антитела к ДНК, гистонам, нуклеосомам, экстрагируемым ядерным антигенам (Sm, U1 рибонуклеопротеину, Ro/SSA, La/SSB, рибосомальному белку Р), ядрышковым антигенам и другим клеточным структурам [57, 326].

В патогенезе СКВ принимают участие врожденный и адаптивный иммунитет с Th1 поляризацией с участием $IFN\gamma$ [426, 645]. Более чем у половины пациентов с СКВ экспрессия генов IFN типа I выявлена в мононуклеарных клетках периферической крови. $IFN\alpha$ может активировать лимфоциты, DC и NK, с воспалением суставов, почек, кожи [596].

Описание клинического наблюдения резистентной к традиционным схемам лечения СКВ и первого успешного опыта применения ингибитора IFN I типа анифролумаба в лечении СКВ с активным поражением кожи, слизистых оболочек и суставов [112].

Основное место в лечении СКВ занимают ГК, цитостатики и аминохинолиновые препараты. Аминохинолиновые препараты при отсутствии противопоказаний должны назначаться всем без исключения больным СКВ, длительный прием аминохинолиновых препаратов обеспечивает профилактику обострений, снижение активности и риск развития кардиоваскулярных осложнений. Для лечения СКВ с невысокой степенью активности и без поражения жизненно-важных органов используются низкие дозы ГК и/или аминохинолиновых препаратов. ГК используются в течение короткого времени и только у пациентов с низкой

степенью вероятности развития побочных эффектов. При недостаточной эффективности ГК или с целью уменьшения дозы возможно назначение цитостатиков (азатиоприн, мофетила микофенолат или метотрексат. У больных СКВ с высокой иммунологической и клинической активностью, без клинических признаков активного волчаночного нефрита и поражения ЦНС рекомендуется применение анти-BLyS терапии (Белимумаб) по 10 мг\кг ежемесячно (рекомендации FDA, 2011 г.). Белимумаб назначается больным СКВ с преимущественным поражением кожи, слизистых оболочек, суставов, неактивным волчаночным нефритом, с некритическим уровнем анемии, тромбоцитопении, лейкопении, с частым развитием обострений и с зависимостью от приема средних и высоких доз ГК, высоким риском развития осложнений терапии (повреждения органов), инфекций.

Болезнь Шегрена

Болезнь Шегрена (БШ) - аутоиммунное системное поражение соединительной ткани, проявляющееся вовлечением в патологический процесс желез внешней секреции, главным образом слюнных и слезных с развитием паренхиматозного сиаладенита с ксеростомией и сухого кератоконъюнктивита с гипоплазмией, и хроническим прогрессирующим течением.

В 2014 г. показатели заболеваемости БШ в мире составляли 6,92 на 100 тыс. человек [308]. Заболеваемость в мире - 0,5-1% [254]. В РФ заболеваемость БШ варьирует в диапазоне от 4 до 250 случаев на 100.000 населения, что составляет 0,004-0,25% [11].

Хроническое воспаление экзокринных желез (слюнных, слезных) с лимфоидной их инфильтрацией с последующей атрофией, может сочетаться с сухим кератоконъюнктивитом, глосситом, болями и припухлостью суставов. Ткань желез поражается вследствие аутоиммунной сенсибилизации и появления иммунных комплексов. Молекулярными диагностическими маркерами при БШ являются ревматоидный/антиядерный фактор, антитела к Ro/La ядерным антигенам [245, 254, 326]. При ИФА у 85-100% больных выявляют антитела к Ro/SS-A и La/SS-B ядерным антигенам.

Лечение проводится в зависимости от наличия железистых и внежелезистых проявлений. Для лечения железистых проявлений БШ используют увлажняющие заместители, иммуномодулирующие препараты, стимуляторы эндогенной секреции слюнных и слезных желез. Для улучшения саливации и терапии сухого кератоконъюнктивита возможно применение препаратов системного действия (малые дозы ГК и лейкерана, ритуксимаб). Для лечения системных внежелезистых проявления БШ используются ГК, алкилирующие цитостатические (лейкеран, циклофосфан), биологические (ритуксимаб) препараты. Интенсивная терапия (пульс-терапия ГК, комбинированная пульс-терапия ГК и

циклофосфаном, эфферентные методы терапии - криоаферез, плазмаферез, двойная фильтрация плазмы в сочетании с комбинированной пульс-терапией) должна использоваться при тяжелых и угрожающих жизни проявлениях БШ с целью купирования высокой иммуновоспалительной активности, изменения характера течения и улучшения прогноза заболевания. Применение МАТ ритуксимаб, направленных против В-клеток, позволяет контролировать системные внежелезистые проявления БШ и уменьшать функциональную железистую недостаточность. Ритуксимаб улучшает клиническое течение БШ без увеличения частоты побочных эффектов.

Болезнь Бехчета

Болезнь Бехчета (ББ) – мультисистемный рецидивирующий хронический васкулит с воспалением слизистых оболочек. Характерными проявлениями являются рецидивирующие изъязвления слизистой оболочки рта, воспаление глаз, язвы гениталий и поражение кожи. Болезнь Бехчета характеризуется хроническим патологическим процессом с периодическими обострениями. Для заболевания характерна следующая триада симптомов: поражение слизистой оболочки рта (стоматит), слизистой оболочки глаз (конъюнктивит), сосудистой оболочки глаз (увеит), а также половых органов. У больных образуются афты, язвы с рубцеванием. В крови обнаруживаются антитела, реагирующие с эпителием слизистой оболочки рта [13].

Наибольшая распространенность ББ отмечается в Англии и США: 0,64 и 0,33 на 100 тыс. населения, соответственно. Распространенность на территории стран бывшего СНГ — 3 на 100 тыс. Известно, что в Японии и Корее болезнь Бехчета чаще поражает женщин, в то время как в странах Среднего Востока среди больных преобладают мужчины. Наиболее часто дебют заболевания отмечается в возрасте 30–40 лет [232, 676]. Эпидемиологических данных о распространенности ББ в России нет [25].

Этиотропная терапия отсутствует. Поддерживающая терапия включает иммуносупрессивные препараты (ГК, азатиоприн, циклофосфамид или циклоспорин А).

Псориаз

Псориаз - хроническое неинфекционное АИЗ, дерматоз с поражениями кожи. Псориаз, папулосквамозное заболевание кожи, считался одним из наиболее распространенных иммуноопосредованных заболеваний [348]. Псориаз - хроническое иммуноассоциированное заболевание мультифакториальной природы с доминирующим значением в развитии генетических факторов, характеризующееся ускоренной пролиферацией кератиноцитов и нарушением их дифференцировки, дисбалансом между провоспалительными и

противовоспалительными цитокинами, с частыми патологическими изменениями опорно-двигательного аппарата [152, 238, 438].

Распространенность псориаза в мире составляет 2% - 4,6% [609]. Заболеваемость псориазом отличается в разных возрастных категориях [363], около 3% 30-летних взрослых американцев и 0,1% детей и подростков. Общая распространенность псориаза на 2019 год составила 57,8 (95% CI 55.8–59.7) на 100 тыс. населения [609]. Заболеваемость в РФ - 3,5 % населения [138]. В РФ в 2019 г. было зарегистрировано 362 881 случаев псориаза. За период 2010–2019 гг. произошел рост распространенности заболевания среди всего населения на 14%, показатель распространенности достиг 247,2 на 100 тысяч населения. Распространенность псориатического артрита составляет 0,37% [33].

В развитии псориаза значение имеют наследственная предрасположенность. Описан ряд генов (PSORS), наличие которых предрасполагает к развитию заболевания. В частности, у пациентов с псориазом чаще выявляют антигены HLA-Cw6 и HLA-DR7. При псориазе отмечены нарушения функции иммунной, эндокринной, нервной систем, а также неблагоприятное воздействие факторов внешней среды [152].

Нарушение иммунной системы является важным фактором патогенеза псориаза. Псориатические поражения - это результат взаимодействия между нарушением регуляции резидентных типов клеток кожи и врожденными и адаптивными компонентами иммунной системы [471]. Причиной псориаза является дефект регуляторных Т-клеток-супрессоров и снижение секреции или активности регуляторного, противовоспалительного IL10 [490]; цитокины TNF- α /IL23/IL17/IL22 играют важную роль в развитии псориаза [363].

При псориазе патологический процесс запускается через презентацию антигена дендритными антигенпродуцирующими клетками и последующую стимуляцию выброса Т-клетками IL12 и IL23, в результате чего происходит пролиферация и дифференцировка Т-лимфоцитов на Th1 и Th17. Данные субпопуляции Т-лимфоцитов экспрессируют гены, ответственные за синтез и последующий выброс в ткани большого числа разнообразных медиаторов воспаления. В частности, Th1 преимущественно стимулирует иммунные реакции путем избыточного выброса IL2, IFN γ , TNF α . В свою очередь, Th17 отвечает в организме как за защиту от разнообразных патогенных агентов (данное действие реализуется через выработку IL21 и IL22), так и за тканевое воспаление (соответственно – через IL17A). В результате стимуляции процессов тканевого воспаления происходит IL17A-индуцированная активация и гиперпролиферация кератиноцитов. Последние, действуя по принципу обратной связи, сами способствуют дальнейшему образованию в коже провоспалительных цитокинов и хемокинов, что приводит к апоптозу и нарушению дифференцировки кератиноцитов эпидермиса. Для

лечения ограниченных высыпаний пациентам с псориазом рекомендуются наружная терапия в виде ГК, применяемых в дерматологии [152].

Таким образом, активация иммунной системы при вирусных и бактериальных инфекциях, стрессы, действие неблагоприятных экологических факторов, нарушения иммунологической толерантности, дисбаланс клеток Th1/Th2, гиперэкспрессия клеток Th1 или Th17 – всё это может привести к развитию аутоиммунных заболеваний.

1.3 Иммуноактивные препараты

Треть заболеваний человека протекает на фоне вторичной иммунной недостаточности, определяющей тяжесть их клинического течения и прогноз [85, 133]. Вирусные эпидемии и пандемии всегда стимулируют разработку известных и открытие новых противовирусных лекарственных препаратов, которые постоянно находятся в разработке. Ianevski A с соавт. рассмотрели 7 классов противовирусных агентов: нейтрализующие антитела, нейтрализующие рекомбинантные растворимые человеческие рецепторы, противовирусные системы CRISPR/Cas, интерфероны, противовирусные пептиды, противовирусные полимеры нуклеиновых кислот и противовирусные малые молекулы. Для лечения возникающих и рецидивирующих вирусных инфекций могут быть полезными интерфероны и некоторые малые молекулы по отдельности или в комбинациях, которые обладают широким спектром противовирусной активности [578]. Однако, контроль над многими инфекционными заболеваниями с помощью этиотропных химиопрепаратов не всегда эффективен, что определяет актуальность поиска альтернативных методов, в частности основанных на модуляции иммунитета [69]. Иммуномодуляторы представляют собой лекарственные препараты для регуляции иммунного ответа организма и функционирования иммунной системы «как сети сообщающихся весов» с эффектом многогранного воздействия [179]. Они находят широкое применение в лечении различных заболеваний, особенно инфекционного характера [68]. Иммуномодуляторы (ИМ) представляют собой целый спектр иммунотропных препаратов, включая 7 групп ИМ: микробного происхождения (вакцина БЦЖ, ИРС-19, ликопид и др.), цитокины (беталейкин, IFN и др.), химически чистые (галавит, гепон, полиоксидоний и др.) и другие [179]. Препараты IFN, индукторы IFN обладают выраженными иммуномодулирующими свойствами и их главным фармакологическим свойством является противовирусный эффект [48, 139, 179, 578]. Разнообразные механизмы действия IFN помогают иммунной системе бороться с инфекциями, активируя сотни генов, участвующих в путях передачи сигналов [389]. Препараты IFN используют не только в терапии респираторных вирусных инфекций, но и при аллергических, аутоиммунных и других заболеваниях,

протекающих на фоне вторичного иммунодефицита [48, 66, 104, 179, 194, 578]. Препараты IFN обладают плейотропным воздействием на организм человека, подтверждая принцип работы иммунной системы по типу «сообщающихся весов» [179]. Для предотвращения прикрепления вирусов к клеткам и репликации используют интраназальный IFN в первые часы после появления признаков респираторной инфекции, которое позволяет избежать ее дальнейшего развития более чем в 80% случаев. Прием IFN α -2b при подтвержденном COVID-19 приводил к значительному сокращению продолжительности обнаружения вируса в верхних дыхательных путях, снижению повышенных уровней воспалительных белков в крови [409]. Изучается возможность усиления интерферонового ответа на ранней стадии COVID-19 с помощью назального аэрозоля или капель IFN. Назальный IFN γ можно рассматривать в качестве эффективного средства профилактики вирусных инфекций, в том числе и COVID-19, у взрослого населения, независимо от статуса вакцинации [140]. Показано, что однократное лечение пегилированным IFN λ индуцирует стимулированные им гены в периферических иммунных клетках, экспрессирующих IFNLR1, включая плазмоцитойдные дендритные и В-клетки [413]. Авторы предлагают вариант раннего лечения COVID-19 для амбулаторных пациентов, позволяющий повысить врожденную противовирусную защиту без ослабления адаптивного иммунитета [246, 413].

Известно, что высокая заболеваемость вирусными и бактериальными инфекциями сопровождается ослабленным иммунитетом, называемым вторичным иммунодефицитом [61, 102]. Для коррекции иммунодефицита при аллергии наиболее эффективным является препарат липосомального IFN (Реаферон-ЕС-Липинт), представляющий уникальную пероральную форму, превосходящую по эффективности препараты обычного IFN и, к тому же, более удобного в применении, что особенно актуально для детей. Реаферон-ЕС-Липинт нормализует работу иммунной системы: снижает чувствительность к естественным аллергенам (пыльца, пыль, микроорганизмы и т.д.) и повышает способность противостоять респираторно-вирусным инфекциям. Проведенные клинические исследования показали, что комплексное лечение аллергии традиционными противоаллергическими средствами, дополненное Реафероном-ЕС-Липинтом, дает стойкий результат в виде отсутствия аллергических проявлений в течение более 6 месяцев, со снижением заболеваемости ОРВИ и гриппом [166]. При аллергическом рините клиническая эффективность показана при применении Гриппферона и Аллергоферона (гриппферон+антигистаминный препарат лоратадин) [3, 164]. Препарат IFN α -2b с бетаметазоном (глюкокортикоидом местного применения для лечения аллергического ринита) существенно уменьшал глазные, назальные и респираторные симптомы у пациентов с поллинозом средней степени тяжести. Клинические наблюдения свидетельствуют об эффективности препаратов IFN (лейкинферон, виферон) в патогенетической терапии

аллергических болезней кожи у детей [161]. При бронхиальной астме у прошедших курс лечения циклофероном больных отмечается сокращение острых респираторных заболеваний и связанных с ними обострений бронхиальной астмы [65, 87]. С точки зрения иммунологии, существенной причиной аллергического процесса является повышенная активность Th2-клеток и, следовательно, что одним из направлений в иммуномодулирующей терапии этих процессов является применение препаратов, снижающих активность Th2-клеток и повышающих активность Th1-клеток. Однако пока не существует препаратов с доказанной селективной способностью изменять баланс Th1/Th2-клеток. Эффект иммуномодулирующих препаратов направлен на устранение у больных аллергическими заболеваниями инфекционных очагов и целесообразность назначения таких препаратов может способствовать повышению эффективности лечения аллергических болезней [179].

Как и при аллергических процессах, в основе этиопатогенеза аутоиммунных заболеваний лежит дисбаланс Th1/Th2-клеток с повышенной активностью Th1-клеток при РС, РА, аутоиммунном тиреоидите и др., пониженной активностью Th2-клеток при СКВ, аутоиммунных васкулитах и др. Исходя из патогенеза, следует, что иммуномодулирующая терапия при АИЗ должна включать препараты, понижающие активность Th1- и повышающие активность Th2-клеток. В настоящее время нет препаратов, разрешенных к медицинскому применению при АИЗ и обладающих способностью изменять баланс Th1/Th2-клеток. Основанием для применения иммуномодуляторов при аутоиммунных процессах, как и при аллергии, являются инфекционные процессы, осложняющие течение основного заболевания. Применение гормональных препаратов при РС, являющемся Th-опосредованным заболеванием, дает хороший клинический эффект, но не удлиняет продолжительности ремиссии. Препараты IFN I типа применяют при РА [45, 47], РС [44], они способствуют снижению заболеваемости ОРВИ [48, 50].

В современных условиях встречается всё чаще нарастающая вирусная, бактериальная нагрузка на организм человека и наличие арсенала иммуномодулирующих препаратов играет роль в коррекции иммунных нарушений. Следует отметить, что вовремя назначенное лечение в комплексе с иммуномодулирующими препаратами приводит к более быстрому клиническому выздоровлению.

Перспективным направлением в терапии больных гриппом является использование препаратов, которые стимулируют продукцию собственных эндогенных IFN, т.е. индукторов IFN. Все наиболее известные индукторы IFN разработаны отечественными учеными. Применение индукторов IFN не требует многократного введения, они не обладают антигенностью, у них отсутствуют побочные эффекты, свойственные препаратам интерферонов [48, 72. 104]. Кроме того, с помощью индукторов IFN можно добиться стимулирования

образования собственных IFN в организме человека в оптимальных концентрациях с высокой противовирусной активностью. Применение синтетических индукторов IFN рассматривается как рациональный способ регуляции врожденных противовирусных механизмов, который доказал свою состоятельность как в профилактике, так и в комплексном лечении ОРВИ [48, 69].

Таким образом, обобщая обзор литературы, отмечаем, что во всем мире наблюдается рост ИЗЗ, который связан с многими факторами, приводящими к развитию вторичного иммунодефицита на фоне вирусных, бактериальных инфекций. Рассмотрены ИЗЗ инфекционной, аллергической, аутоиммунной природы, в патогенезе которых играют роль иммунные нарушения, в том числе нарушения интерферонов. Для понимания наиболее полной картины нарушений интерферогенеза необходимо комплексное исследование системы IFN, включая молекулярно-биологические, иммунологические, культурально-вирусологические методы, для изучения экспрессии генов, продукции белков, функциональной, биологической активности IFN для устранения нарушений путем применения иммунокорректирующей терапии.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы

2.1.1 Клинический материал

Клинические образцы получены от здоровых добровольцев и пациентов с иммунозависимыми заболеваниями (Таблица 2.1) при наличии информированного согласия.

Таблица 2.1 – Заболевания и базы биоматериалов представленной научной работы

Заболевание (количество человек)	Организация	Образцы любезно предоставлены:
Респираторные вирусные инфекции (n=414); Грипп (n=250); Аденовирусная инфекция (n=7); COVID-19 (n=157).	ГБУЗ «ИКБ №1 ДЗМ»; ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России, ГКБ №57; ФГКУЗ «Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии РФ»	д.м.н., проф. Л.В.Колобухина; д.м.н. Г.Л.Осипова; заслуженный врач РФ В.И. Губань
Аллергические заболевания (n=274): Бронхиальная астма (БА, n=95); БА ассоциированная с ХОБЛ (n=49); ХОБЛ (n=11); Аллергический ринит (АР, n=26; АР совместно с БА, n=34); Атопический дерматит (n=28); Хроническая крапивница (n=31).	ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России, ГКБ №57; ГКБ №14 им. В.Г.Короленко; Центр семейной медицины; КДЦ ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова	д.м.н. проф., академик РАН А.Г.Чучалин; д.м.н. Г.Л.Осипова; д.м.н. Н.А.Черевко; Ш.М. Гайнулин; к.м.н. С.Ю.Конаныхина
Аутоиммунные заболевания (n=464): Рассеянный склероз (n=217); Ревматоидный артрит (n=68); Системная красная волчанка (n=75); Болезнь Шегрена (n=34); Болезнь Бехчета (n=10); Псориаз (n=60).	МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского, Центры по Рассеянному склерозу (МОНИКИ, Москва; РКДЦ ДЗ МЗ РТ, Казань), НИИ ревматологии, ГКБ №52 кафедры кожных и венерических болезней РУДН	д.м.н. проф. С.В.Котов; д.м.н. проф. Ф.А.Хабиров; д.м.н. Т.И. Хайбуллин; д.м.н. проф. Л.Д. Тищенко; д.м.н. проф. Р.М.Балабанова
Условно здоровые добровольцы (n=164)	ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова, ФГБУ «НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» МЗ РФ, Центр семейной медицины, РКДЦ ДЗ МЗ РТ	д.м.н. проф., академик РАН Ф.И.Ершов; д.м.н. проф., академик РАН О.А.Свитич; д.м.н. Н.А.Черевко; д.м.н. Т.И. Хайбуллин

Клинические образцы для анализа: лейкоциты крови, сыворотка крови, носоглоточные мазки, индуцированная мокрота. Группа здоровых добровольцев не имела указанных патологий респираторно-вирусного, аллергического и аутоиммунного генеза. Клинические базы: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Инфекционная клиническая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы» (ИКБ № 1), г.Москва; ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнёва ДЗМ» (городская клиническая больница (ГКБ) №57), г.Москва; кафедра госпитальной терапии педиатрического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации; Научно-исследовательский институт пульмонологии (ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России), г.Москва; ГБУЗ города Москвы Городская клиническая больница № 14 им. В. Г. Короленко Департамента здравоохранения города Москвы (ГКБ №14 им. В.Г.Короленко), г.Москва; ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой (НИИ ревматологии), г.Москва; ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (МОНИКИ), г.Москва; Центр рассеянного склероза и других нейроиммунологических заболеваний (ЦРСиНЗ) на базе МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского, г.Москва; Республиканский клинико-диагностический центр по демиелинизирующим заболеваниям Министерства здравоохранения Республики Татарстан (РКДЦ ДЗ МЗ РТ), г.Казань; ФГБУ «НИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» МЗ РФ, г.Москва; клинико-диагностический центр ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова, г.Москва; Центр семейной медицины, г.Томск; ФГКУЗ «Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации» (госпиталь Росгвардии), Московская обл., г.Балашиха. Общий Протокол исследования № 2 от 23 марта 2022 г. одобрен Локальным Советом по Этике ФГБНУ НИИВС им.И.И.Мечникова.

Для решения поставленных задач были использованы методы молекулярной биологии, иммунологии, вирусологии и статистический анализ результатов.

Респираторные вирусные инфекции

Проведено исследование клинического материала крови и респираторного тракта больных с целью подтверждения этиологии респираторного заболевания. Использовали вирусологические и серологические исследования, молекулярно-биологические методы (ОТ-ПЦР-РВ, определение продукции белков IFN, определение биологической активности IFN методом «IFN статус»). В Таблице 2.2 отражен спектр респираторных вирусных инфекций,

ключевые точки мониторинга образцов, используемые для лечения иммуноактивные препараты.

Таблица 2.2 – Клинические образцы для анализа IFN при респираторных вирусных инфекциях и с бактериальными осложнениями (отягощенные ангиной или пневмонией)

Респираторные вирусные инфекции	Период наблюдения (годы)	Ключевые точки мониторинга	Иммуноактивные препараты
Грипп (n=93) H3N2	2002-2003	4 (До лечения, 24 час, 48 час, после лечения)	Кагоцел (n=28), Плацебо (n=35), Циклоферон (n=30)
Грипп H3N2 на фоне ангины (n=68)	2002-2003	4 (До лечения, 24 час, 48 час, после лечения)	Кагоцел (n=22), Плацебо (n=26), Циклоферон (n=20)
Грипп H3N2 (n=20)	2008-2009	2 (До лечения, после лечения)	Ингавирин (n=43)
Грипп H1N1 (n=30)	2009-2010	2 (До лечения, после лечения)	
Грипп H1N1 на фоне пневмонии (n=16)	2009-2010	2 (До лечения, после лечения)	
Грипп H1N1 (n=13)	2011	2 (До лечения, после лечения)	
Грипп А (H3N2) (n=4), грипп В (n=6), аденовирус (n=7)	2015	1 (до лечения)	-
Коронавирус SARS-CoV-2, острое течение заболевания (n=110)	2021-2022	4 (До лечения, после 15 дней лечения, через 30 дней от начала заболевания, через 9-12 мес. от начала COVID-19)	Иммуновак-ВП-4 (n=60) Базисная терапия (n=50)
Коронавирус SARS-CoV-2, период реабилитации (n=47)	2021-2022	2 (До лечения, после лечения)	Иммуновак-ВП-4 (n=27) Без ВП-4 (n=20)

1) На базе ИКБ №1. В период осенне-зимних сезонов 2000-2003 гг. циркулировали три вируса гриппа: H1N1, В и H3N2, с доминированием последнего. Клинические материалы в виде мазков из носа и ротоглотки, сыворотки крови и цельной крови больных респираторными инфекциями были любезно предоставлены (n=161) (д.м.н. профессор Л.В.Колобухина). Диагнозы респираторных вирусных заболеваний подтверждены лабораторно у 80 больных (на базе лаборатории этиологии и эпидемиологии гриппа и лаборатории иммунологии НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, лаборатории ИКБ №1) методом иммунофлуоресцирующих (ИФ) антител (ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов», Санкт-Петербург) и с помощью иммуноферментного анализа

(ИФА) у 42 больных, нарастанием специфических антител в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) у 161 больного гриппом (неосложнённая форма гриппа и осложнённая бактериальной инфекцией) [88]. У 92 больных ОРВИ диагноз подтверждён в реакции ИФА – нарастанием антител к аденовирусам. У 56 наблюдаемых больных диагноз подтверждён одновременно в реакциях ИФ и ИФА. У 15 больных гриппом (9,3%) из мазков со слизистой оболочки носа изолированы вирусы гриппа, подобные эталонным штаммам А/Москва/10/99(Н3N2) и А/Панама/2007/99(Н3N2) в культуре клеток модельной клеточной линии млекопитающих Madin-Darby canine kidney (MDCK). Степень выраженности симптомов соответствовала среднетяжёлой форме заболевания. Больных с лёгкими и тяжёлыми формами гриппа в исследование не включали [88].

Больных рандомизировали по мере поступления в стационар на три группы. На фоне симптоматической терапии получали Плацебо- 61 человек, Кагоцел- 50 человек, Циклоферон- 50 человек. В первых двух группах больные получали одинаковые по виду таблетки (Кагоцел или Плацебо), в третьей группе больные получали таблетки Циклоферона. Кагоцел назначали по 2 таблетки (в одной таблетке 0,012г.) 3 раза в сутки в течение первых двух суток, затем по 1 таблетке 3 раза в сутки в течение последующих двух дней. Курсовая доза препарата составила 0,216 г. (18 таблеток). Курс лечения 4 дня. Таблетки Плацебо назначали с той же кратностью и продолжительностью. Циклоферон больные получали по схеме, утверждённой инструкцией – 2 таблетки (в одной таблетке 0,15 г.) однократно в первые, вторые, четвёртые, шестые, восьмые сутки лечения. Курсовая доза препарата составила 1,5 г. (10 таблеток). Курс лечения 8 дней [88].

В соответствии с решением Фармакологического комитета МЗ РФ от 20 апреля 2002 г. (протокол №5) клиническую эффективность и безопасность Кагоцела изучали в двойном слепом, плацебо контролируемом исследовании с использованием референс препарата – Циклоферона, разрешённого МЗ РФ для лечения гриппа и других ОРВИ (регистрационный № 2000/27/9). Группы больных формировали рандомизированно в соответствии с критериями включения и исключения. Критерии включения: больные с лабораторно подтверждённым диагнозом гриппа и других ОРВИ (парагрипп, аденовирусное заболевание) с выраженными симптомами болезни; возраст больных от 18 до 50 лет; начало лечения – не позднее 48 часов с момента начала заболевания; добровольное согласие пациента на участие в испытании. Критерии исключения: беременность, период лактации; наличие хронических заболеваний сердца, печени, почек, щитовидной железы, сердечно-сосудистой системы, центральной нервной системы; отказ пациента участвовать в клиническом испытании; несоответствие критериям включения; лица с наркотической и алкогольной зависимостью [88].

Во всех группах пациентам проводили симптоматическую терапию (1% раствор нафтизина, мукалтин, аскорутин), при этом исключали препараты, обладающие жаропонижающим действием. Больным ангиной лечили антибиотиками пенициллинового ряда в средних терапевтических дозах, местно использовали раствор фурациллина 1:5000 [88].

2) На базе ИКБ №1. Дизайн исследования (2008-2011гг): «открытое не сравнительное исследование по оценке клинической эффективности и безопасности препарата Ингавирин в дозе 90 мг в сутки для лечения гриппа А(H1N1)sw1 у взрослых" (n=79). Пациенты с гриппом H3N2 и H1N1 на фоне симптоматической терапии дополнительно получали препарат Ингавирин- 43 человека.

3) На базе ИКБ №1. В феврале-марте 2015 г. клинический материал (мазки со слизистых носа и ротоглотки, сыворотка крови и цельная кровь) предоставлен от 17 пациентов, поступивших в стационар на 1-2 сутки заболевания. Группу сравнения составили 15 практически здоровых добровольца без клинических и лабораторно подтверждённых признаков респираторных заболеваний.

Анализ носоглоточных мазков больных с острой респираторной вирусной инфекцией (ОРВИ) проводили посредством обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ). Диагноз с идентификацией возбудителя ОРВИ (вирусов гриппа А и В) подтверждён посредством ОТ-ПЦР-РВ с использованием коммерческих наборов «Амплиценс® Influenza virus A/B-FL», «Амплиценс® Influenza virus A/H1-swine-FL» и «Амплиценс® Influenza virus A-тип-FL». Другие респираторные вирусы (РНК риновирусов, респираторно-синцитиального (РС) вируса, метапневмовируса, вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, коронавирусов видов OC43, E229, NL63, HKUI, ДНК аденовирусов групп В, С и Е и бокавируса) определяли с использованием набора «ОРВИ-Амплиценс» («Амплиценс», Москва). Молекулярное типирование посредством ОТ-ПЦР-РВ выявило вирус гриппа А (H3N2) - у 4-х, вирус гриппа В – у 6 и аденовирус - у 7 больных, поступивших в стационар с острыми респираторными инфекциями.

4) На базе госпиталя Росгвардии, г.Балашиха. Клинический материал в виде образцов мазков из носа и ротоглотки, сыворотки крови и цельной крови был предоставлен от 110 пациентов в острой фазе COVID-19 среднетяжёлого течения. Критерии исключения: сопутствующие и хронические заболевания (легочные – муковисцидоз, абсцесс лёгких, эмпиема плевры, активный туберкулез; внелегочные – застойная сердечная недостаточность, острая/хроническая печеночная недостаточность, острая/хроническая почечная недостаточность (хроническая болезнь почек), злокачественные образования, иммунодефициты различной этиологии); наличие в анамнезе положительной реакции на антигены ВИЧ-инфекции

(*Human immunodeficiency virus*), гепатитов В (*Hepatitis B virus*) и С (*Hepatitis C virus*); наличие иных подтверждённых лабораторными методами острых инфекционных и/или неинфекционных заболеваний на момент включения в протокол; применение иммунодепрессантов или других иммуномодулирующих препаратов на протяжении 6 месяцев, предшествовавших исследованию; беременность или лактация.

Всем пациентам с COVID-19 проводили комплексное клиническое обследование, включавшее компьютерную томографию (КТ) органов грудной клетки, пульсоксиметрию и лабораторные тесты на наличие РНК или антигена SARS-CoV-2 («РеалБест РНК SARS-CoV-2» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск), определение уровня антител IgM и IgG к SARS-CoV-2. Применение иммуномодулирующего препарата для лечения у госпитализированных пациентов: на фоне базисной терапии введение бактериальных лигандов – поликомпонентной вакцины Иммуновак-ВП-4 -интраназально по 2 капли (1 мг) в каждую половину носа ежедневно и подкожно через день по схеме 0,05 (0,5) – 0,1 (1,0) – 0,2 (2,0) - 0,2 (2,0) – 0,3 (3,0) - 0,3 (3,0) мл (мг) с 1-го по 11-й день нахождения в стационаре (группа 1, n=30); на фоне базисной терапии введение ВП-4 перорально по 2 мл (20 мг) и по 2 капли (1 мг) интраназально в каждую половину носа ежедневно с 1-го по 10-й день нахождения в стационаре (группа 2, n=30); комплексная базисная терапия (группа контроля 3, n=50). Пациенты из группы контроля получали базисную терапию согласно тяжести течения заболевания, указанной во «Временных методических рекомендациях – профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» в РФ: фавипиравир 200 мг по схеме, эноксапарин 0,4 мг/сут подкожно, дексаметазон 8-12 мг/сут, при СРБ \geq 60 мг/л – тоцилизумаб 400 мг/сут.

В исследовании по оценке экспрессии гена IFN III типа взяты образцы пациентов с COVID-19 (n=15). Контрольная группа (n=20) представлена условно здоровыми лицами, с отрицательными ПЦР тестами на SARS-CoV-2. В качестве материала для исследования использовались мазки из верхних дыхательных путей: из носоглотки, ротовой полости (щека внутренняя поверхность), и со слюнных желез (соскоб буккального эпителия). Забор материала производили цитощеточкой типа D (Юнона, РФ) и транспортировали в лабораторию молекулярной иммунологии в пробирке на 1,5 мл в физиологическом растворе (ПанЭко, РФ).

5) На базе кафедры госпитальной терапии. Проспективное открытое контролируемое исследование в параллельных группах у медицинских работников: врачи, медсестры, младший медицинский персонал (n=47). Клинический материал (мазки из носа и ротоглотки, сыворотка крови и цельная кровь) был взят у добровольцев медиков в периоде реабилитации после перенесенной ранее новой коронавирусной инфекции от 1-го до 9 мес. По данным медицинского заключения анализировались результаты КТ, выполненной во время заболевания и в динамике. Тяжесть течения COVID-19 оценивалась, как легкая, на основании временных

методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Минздрава РФ от 26.10.20.

Применение назально-оральной схемы ВП-4 для профилактики в группе добровольцев из медицинских работников группы риска, через 1-9 мес. после болезни новой коронавирусной инфекцией и принявших участие в данном исследовании как группа постковидных из медицинского персонала. Применение бактериальных лигандов Иммуновак–ВП-4 проводили по схеме перорально по 2 мл (20 мг) и по 2 капли (1 мг) интраназально в каждую половину носа назначали добровольцам через день. Общий курс составил 20 дней (10 дней приема вакцины) согласно инструкции по применению.

Всего в период 2002-2022 гг. проведен анализ 9318 клинических образцов до лечения и в динамике лечения респираторных заболеваний.

Аллергические заболевания респираторного тракта и поражений кожи

Проведено исследование клинического материала крови и респираторного тракта больных с целью подтверждения этиологии респираторного заболевания. Использовали вирусологические и серологические исследования, молекулярно-биологические методы (ОТ-ПЦР-РВ, определение продукции белков IFN, определение биологической активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, методом «IFN статус»).

1) ГКБ №57 - клиническая база Института пульмонологии – с 2004-2007 г.г. взяты для исследования образцы крови 86 пациентов БА разной степени тяжести в динамике лечения. Диагноз БА устанавливали согласно рекомендациям ВОЗ (Глобальная стратегия лечения и профилактики БА (GINA)) на основании клинических данных, результатов аллергологического обследования, данных спирометрии. Тяжесть заболевания и тяжесть обострения характеризуют частота приступов удушья, показатели спирометрии. В зависимости от тяжести течения БА были включены базовые терапевтические препараты: недокромил натрия, топические кортикостероиды или комбинированные препараты, по требованию включали β_2 -агонисты из симптоматической терапии. Проведено открытое сравнительное проспективное 6- и 12-месячное исследование в параллельных группах [83]. Обследовано 86 пациентов с разными формами течения БА: в ремиссии: легкое течение (n=23), среднетяжелое персистирующее (n=33), тяжелое персистирующее течение (n=11); в обострении (n=19). В группе пациентов, поступивших в стационар в обострении БА на фоне ОРВЗ (n=19), идентифицировали инфекционные агенты: вирусные, микоплазменные и хламидийные. У пациентов с легким и среднетяжелым течением БА в фазе ремиссии оценивали клинко-иммунологическую эффективность применения препаратов Иммуновак-ВП-4 и индуктора IFN Циклоферон в

динамике контроля: до применения препарата, через 2 и 6 месяцев терапии [83]. В комплексной терапии пациентам БА применили иммуноактивные препараты. 23 пациента получили Иммуновак-ВП-4, 15 пациентов в фазе ремиссии и 8 пациентов в фазе обострения заболевания – индуктор IFN Циклоферон. Циклоферон при БА в ремиссии применяли перорально по 0,3 г /сут. на 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23 дни. Курсовая доза 3,0 г. Иммуновак-ВП-4 при БА в ремиссии вводили комбинированным назально-подкожным способом. Этот метод включал 3 интраназальных и 5-6 подкожных введений препарата. При интраназальном введении препарат вводили 3 дня подряд с увеличением дозы от 1-ой до 4-х капель. Через 3-5 суток переходили к подкожному введению в дозах от 0,05 до 0,2 мл, соблюдая интервал между инъекциями 3-5 суток [83].

2) На базе ГКБ №57 проведено одноцентровое поперечное сравнительное исследование 4-х групп. В период 2010-2016 гг. исследован клинический материал от 69 пациентов с бронхообструктивными заболеваниями в ремиссии, из которых 49 больных БА сочетанной с ХОБЛ (БА-ХОБЛ); пациенты с БА (n=9) и с ХОБЛ (n=11); условно здоровых добровольцев (n=9). Диагноз установлен согласно критериям GINA, GOLD (2014-2018 г.г.). У всех пациентов БА-ХОБЛ имела место аллергическая или смешанная формы астмы, которая либо дебютировала в начале болезни, либо присоединялась на определенном этапе течения ХОБЛ. Большинство пациентов в исследуемой группе являлись курильщиками со стажем в среднем 30 лет, у них отмечалось прогрессивное течение заболевания с частыми обострениями. Всем пациентам было проведено клиничко-функциональное обследование. Исследование функции внешнего дыхания (ФВД) проводили в ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России. Спирографию проводили посредством анализа кривой поток-объем на спироанализаторе «Pneumoscreen» производства «Jaeger», Германия. Сбор и обработка индуцированной мокроты выполнялась в соответствии с правилами, представленными в клинических рекомендациях [90]. Бактериологическое исследование осуществляли общепринятыми методами с использованием микробиологических и биохимических тестов [108, 184]. Образцы крови больных исследованы на определение экспрессии генов IFN I, II, III типов, IL23 и гена противовирусного белка MxA, ИФА с определением количеств белков IFN, определение биологической активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови. Индуцированная мокрота обследована на определение экспрессии генов IFN I, II, III типов методом ОТ-ПЦР-РВ, определение количества белков IFN методом ИФА. В группе пациентов БА-ХОБЛ (n=28) в ремиссии заболевания проведена идентификация инфекционных агентов: вирусных, бактериальных, грибковых.

3) На базе ГКБ №57 в период с апреля 2004 - 2007 г.г. в исследование были взяты клинические материалы от 60 пациентов с аллергическим ринитом (АР) в фазе ремиссии с длительностью заболевания порядка $16,5 \pm 9,2$ лет: АР на фоне БА (n=34) и АР (n=26), как

группа сравнения [114]. Постановка диагноза АЗ была основана на положительном аллергологическом анамнезе, наличии типичных сезонных проявлений поллиноза, положительных кожных тестах и наличием специфических IgE-АТ методом ИФА (ООО «ЦКФФ» (Россия, Ставрополь)) к аллергенам пыльцы деревьев (в соответствии с рекомендациями: аллергический ринит и его влияние на астму (ARIA, 2006), глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы (GINA, 2006)) [114]. Для исследования брали периферическую кровь от больных в динамике в период за 14 дней до приёма препарата (1 точка), через 30 дней после проведения курса лечения (2 точка) и на вторые - третьи сутки после окончания сезона цветения (3 точка). Лабораторные методики определения активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, выявление белков цитокинов методом ИФА в динамике исследования проведены Оспельниковой Т.П. с интерпретацией полученных результатов. Использовали отечественный препарат РЕАФЕРОН-ЕС (IFN α -2b) - регистрационный номер: №000642/01, 30.12.2003, 2000 МЕ. Производитель компания «Вектор-Медика» (г. Новосибирск). РЕАФЕРОН-ЕС - рекомбинантный α 2-IFN, продуцируемый рекомбинантными бактериями *Escherichia coli*, в виде пористой массы белого цвета. Растворим в воде, гигроскопичен [114].

4) На базе ГКБ №14 в период с 2009-2010 г.г. проводили набор биопроб от пациентов с АтД. Под наблюдением находилось 28 взрослых пациентов с АтД, из которых 20 - в стадии обострения, 8 - в стадии ремиссии заболевания. 15 пациентам с АтД после лечения обострения базисной терапией (антигистаминные, детоксикационные, гипосенсибилизирующие лекарственные средства) был добавлен индуктор IFN Циклоферон в инъекциях по 2,0 мл, в/м в течение 10 дней по схеме (дни инъекций 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23). Диагноз АтД ставился на основании клинических и лабораторных данных. Пациенты имели клинические проявления с раннего детства. У всех обследованных больных АтД отмечалось среднетяжелое течение заболевания (частота обострений 3-4 раза в год, длительность ремиссии 2-3 месяца). У всех пациентов дерматологический процесс имел распространенный характер (площадь поражения 46-49%), представленный эритематозно-сквамозными очагами с эксфолиациями и белым дермаграфизмом. У 85% пациентов в анамнезе были клинические проявления герпетической инфекции (Herpes simplex), на момент обследования герпетических высыпаний у пациентов не было. У 95% пациентов в клиническом анализе крови выявлена эозинофилия. Глистные инвазии исключены у всех обследуемых пациентов. Уровень IgE был повышен в сыворотке крови 70% обследуемых. В качестве контрольной группы было обследовано 14 практически здоровых мужчин и женщин, у которых в анамнезе не было указаний на аллергические проявления и отсутствовала наследственная отягощенность. В исследование брали гепаринизированную кровь и сыворотку крови от 28 пациентов с АтД в динамике исследования

и от 14 практически здоровых людей (контрольная группа) для оценки IFN статуса и цитокинового статуса. Клинические наблюдения велись в течение полутора лет.

5) На базе центра семейной медицины и КДЦ НИИВС им.И.И.Мечникова - с 2019 по 2020 г. были исследованы образцы крови от 41 взрослого человека: практически здоровые добровольцы (n=10), пациенты с диагнозом хроническая крапивница в возрасте от 21 года до 53 лет (среднее $36,4 \pm 3,4$ года) (n=31). Длительность заболевания составляла от нескольких месяцев до 12 лет (в среднем по группе $4,2 \pm 1,6$ года). У всех пациентов отмечалось часто рецидивирующее течение крапивницы (более 4 обострений в год; в среднем $5,3 \pm 0,9$ раза в год). Критерии включения в исследование: возраст старше 18 лет; хроническое непрерывное течение крапивницы. Критерии исключения из исследования: крапивница с установленной причиной инфекционного, аллергического, лекарственного или физического характера; гистологически подтвержденный уртикарный васкулит; лечение антигистаминными препаратами, глюкокортикостероидами, циклоспорином или метотрексатом в момент начала исследования или в течение последнего месяца перед исследованием. Определение концентрации белков IFN α и IFN γ проводили методами иммуноферментного анализа (ИФА), 12 белков иммунорегуляции методом 12-плексного иммунофлуоресцентного анализа; биологической активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, оценивали методом IFN статус.

Всего в период 2004- 2020 гг. проведен анализ 10093 клинических образцов до и в динамике лечения аллергических заболеваний.

Аутоиммунные заболевания (АИЗ)

1) База клинико-диагностическое неврологическое отделение МОНИКИ. В период с января 2012 по декабрь 2014 г.г. получены образцы крови от 18 человек с диагнозом РС согласно обновленным диагностическим критериям MacDonald et al. [293], в основном, с ремиттирующим типом течения (14 пациентов) и вторично-прогрессирующим течением (ВПТ) (4 пациента). Пациенты среднего возраста ($35,7 \pm 9,5$ лет), 16 женщин и 2 мужчин, с длительностью болезни ($7,2 \pm 4,1$ лет). Результаты объективного неврологического обследования оценивались по общепринятой шкале клинической оценки функционального состояния проводящих систем при этом заболевании, предложенной J.Kurtzke, и шкале инвалидизации EDSS, показатели которой составили $2,7 \pm 1,2$ балла. Лечение больных РС проводили препаратом IFN β -1a «Генфаксон» (Лаборатория «Тьютор С.А.С.И.Ф.И.А.», Аргентина), который представляет рекомбинантный IFN β человека, выделенный из трансфицированной культуры клеток яичника китайского хомячка, по стандартной схеме 22 или 44 мкг (0,5 мл) вводили подкожно, 3 раза в неделю. Каждого больного на протяжении всего периода наблюдал один

невролог для корректной оценки динамики EDSS. Забор крови проводили до применения препарата, а также через 3, 6 и 12 месяцев терапии, более 1 года и более 2 лет (13-33 месяцев). Контрольную группу составили 18 здоровых добровольцев в возрасте (41,8±14,3 лет). Проведено исследование экспрессии генов IFN I, II, III типов, продукции белков и IFN статуса в динамике лечения.

2) На базе клинико-диагностического неврологического отделения МОНИКИ в период с ноября 2004 по ноябрь 2006 г.г. проводили исследование клинической эффективности и безопасности препарата IFN β -1a «Ребиф» в дозе 22 мкг (6 млн ME) у больных РС. Для отбора больных использовались следующие критерии: клинически достоверный или лабораторно подтвержденный РС по критериям MacDonald [293]; ремиттирующее или ВПТ РС с не менее двумя обострениями, в течение последних двух лет; пациент должен иметь балл по шкале инвалидизации EDSS от 0 до 5,0; имеющиеся у больного симптомы не должны быть связаны с каким-либо другим неврологическим заболеванием; возраст 16 лет и старше; если пациент – женщина, следует исключить беременность и лактацию. В группу вошли 52 пациента РС с ремиттирующим течением в стадии ремиссии, из них 8 мужчин и 44 женщины – возрастом 16 - 46 лет. Ребиф в дозе 22 мкг (0,5 мл) назначался 3 раза в неделю подкожно. На фоне лечения оценивали динамику выраженности неврологического дефицита по шкале инвалидизации EDSS и количества обострений в течение 1 года в сравнении с исходными данными, а также содержание провоспалительных цитокинов IFN γ и TNF α , определение активности IFN методом IFN статус.

3) На базе клинико-диагностического неврологического отделения МОНИКИ в период с 1999 по 2001 г.г. обследовано 86 больных с верифицированным диагнозом РС цереброспинальной формы, согласно диагностическим критериям MacDonald [293]; в основном с ремиттирующим течением болезни – 67 пациентов, первично-прогредиентным течением (ППТ) -14 человек, ВПТ -5 человек; длительностью заболевания от 4 месяцев до 10 лет. Клинический материал от амбулаторных больных РС, со слабо выраженными нарушениями походки, сенсорными расстройствами легкой и средней степени тяжести с индексом прогрессирования заболевания EDSS (Expanded Disability Status Scale по J.Kurtzke) или ШИ (шкала инвалидизации в модификации Weiner H.L. и Ellison G.W.) - от 1 до 4 баллов. В течение 6 месяцев до первичного исследования больные получали базисную сосудистую терапию (витамин E, трентал, пирацетам) и не получали иммуномодулирующего лечения. При проведении исследования на фоне сосудистой терапии все больные РС получали дополнительные препараты: традиционное гормональное лечение преднизолоном (первая группа, n=15); комбинированная терапия гормонами с индуктором IFN (вторая группа, n=10); терапия тем индуктором IFN, к которому выявлена максимальная чувствительность лейкоцитов

периферической крови (ЛПК) больного (третья группа, n=44). Схема применения Амиксина: по 1 таблетке (0,125 г) через день в течение 1 месяца, на курс 15 таблеток + сосудистая терапия. Схема применения Неовира: 1 инъекция (0,25 г) через день в течение 1 месяца, на курс 15 инъекций + сосудистая терапия. Схема применения Циклоферона: 1 инъекция (0,25 г) через день в течение 1 месяца, на курс 15 инъекций + сосудистая терапия. Контрольная группа, которым проводили только сосудистую терапию, была представлена больными с РС цереброспинальной формы и состояла из 17 человек (женщин -11, мужчин -6) от 25 до 40 лет. У всех пациентов контролировали Ig G к ОБМ; активность IFN по 4-м показателям до и после примененных схем лечения, выявляли индивидуальную чувствительность лейкоцитов периферической крови (ЛПК) к индукторам IFN с последующей рекомендацией к применению соответствующего препарата во второй или третьей группах.

4) На базе клинико-диагностического неврологического отделения МОНИКИ и РКДЦ ДЗ МЗ РТ, г.Казань. Клинический материал в виде сыворотки крови от 28 пациентов с РС (ремиттирующая форма - у 23 пациентов, ВПТ – у 5 пациентов), после обострений заболевания, принимавших препараты рекомбинантного IFN β -1b (Ронбетал, Инфибета), IFN β -1a (Генфаксон). Все пациенты проходили лечение в неврологическом отделении МОНИКИ. Пациенты: женщины n=16, мужчины n=12, с продолжительностью болезни $7,6 \pm 4,9$ лет, легкой и в основном средней степени тяжести ремиттирующей формы (EDSS в ремиссии в среднем составила $2,96 \pm 1,14$ баллов); тяжелой степени при ВПТ (EDSS $6,2 \pm 0,27$ баллов). Исследована также сыворотка крови 33 больных РС в динамике, на препарате IFN β -1b Ронбетал (Казань). Контрольная группа состояла из 22 практически здоровых людей. Проведен мониторинг исследования сыворотки крови на определение связывающих антител (САТ) и нейтрализующих антител (НАТ).

5) На базе НИИ ревматологии набран клинический материал (сыворотка крови, цельная кровь) от ревматических пациентов с установленным диагнозом. На определение активности IFN исследованы биообразцы от 187 пациентов с ревматическими заболеваниями (РЗ): из них 68 с ревматоидным артритом (РА) и 75 с системной красной волчанкой (СКВ), 34 с болезнью Шегрена (БШ), 10 с болезнью Бехчета (ББ). У пациентов контролировали биологическую активность IFN, продуцируемых лейкоцитами крови.

6) На базе кафедры кожных и венерических болезней РУДН (ГКБ №52) набран клинический материал (сыворотка крови, цельная кровь) от пациентов с длительностью псориаза не менее 5 лет, значительной распространенностью высыпаний и частыми обострениями заболевания (не менее 2 раз в год). Дизайн исследования: открытое, сравнительное (без контроля плацебо) исследование иммуномодулирующего эффекта препарата Циклоферон в период с мая 1998 г. по май 1999 г.

Образцы крови взяты от 60 пациентов среднетяжелого течения и поступивших в отделение ГКБ; все получали базисную терапию (n=30 (10 и 20)), части пациентов вводили индуктор IFN Циклоферон в/м по 250 мг, соответствующих 2 мл (n=10) и 4 мл (n=20) на 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 день лечения (4 недели). В динамике лечения проведен мониторинг оценки активности IFN. Кроме Циклоферона пациенты получали наружное лечение в виде индифферентных мазей и кремов.

Всего в период 1998-2022 гг. проведен анализ 4283 клинических образцов до и в динамике лечения аутоиммунных заболеваний.

2.1.2 Культуры клеток

Фибробласты легких эмбриона человека (ФЛЭЧ) любезно предоставлены и взяты из Государственной коллекции клеточных культур Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени Почетного академика Н. Ф. Гамалеи Минздрава РФ. Клетки почки Африканской зеленой мартышки (Vero) любезно предоставлены и взяты из Государственной коллекции клеточных культур Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени Почетного академика Н. Ф. Гамалеи Минздрава РФ и коллекции клеточных культур Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. Клетки почки Африканской зеленой мартышки бессывороточного введения (Vero-SF) любезно предоставлены и взяты из ЦКП "Биобанк" Медико-генетического научного центра имени академика Н. П. Бочкова.

Для культивирования клеток требуются следующие материалы, реагенты, пластик: среда ДМЕМ, ДМЕМ/F12 (ООО НПП «ПанЭко», Россия); среда Гибрис-1-П (ООО НПП «ПанЭко», Россия); 10% эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС) (Gibco, Германия); L-глутамин (300 мкг/мл среды) (ООО НПП «ПанЭко», Россия); антибиотик гентамицин (40 мкг/мл) (ООО НПП «ПанЭко», Россия); культуральные флаконы 25 или 75 см² (SPL LifeSciences Co. Ltd., Корея); плоскодонные 96-луночные планшеты (SPL LifeSciences Co. Ltd., Корея); наконечники на 200 и 1000 мкл (Sartorius, Финляндия); центрифужные пробирки на 15 и 50 мл (SPL LifeSciences Co. Ltd., Корея). Перед заражением индикаторным вирусом клеточные монослои промывали от сыворотки питательной средой с антибиотиками.

2.1.3 Вирусы

Вирус болезни Ньюкасла (Newcastle Disease Virus (NDV) (номер депонирования 384); вирус энцефаломиокардита мышей (encephalomyocarditis virus (EMC)) (номер депонирования 787); вирус везикулярного стоматита (vesicular stomatitis virus (VSV), штамм Индиана. Вирусы

любезно предоставлены и взяты из Государственной Коллекции Вирусов Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Почетного академика Н. Ф. Гамалеи Минздрава РФ и коллекции вирусов Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова.

2.1.4 Используемые в работе иммуноактивные препараты

Используемые фармакологические препараты применялись пациентами в клиниках или амбулаторно по назначению и под наблюдением лечащих их докторов, биопробы пациентов исследованы в реакциях *in vitro* в лаборатории в динамике лечения. Сами препараты использованы в лаборатории в *in vitro* реакциях для определения чувствительности клеток крови к препаратам, определения нейтрализующих антител.

1) Препараты интерферонов (IFN): Препарат IFN α -2b РЕАФЕРОН-ЕС (IFN α -2b) - регистрационный номер: №000642/01, 30.12.2003, 2000 МЕ («Вектор-Медика», г. Новосибирск). РЕАФЕРОН-ЕС - рекомбинантный α 2-IFN, продуцируемый бактериальными клетками штамма *Escherichia coli*; препарат использован для профилактической схемы пациентам при поллинозе (АР) сублингвально (под язык) в разовой дозе 2000 МЕ 1 раз утром, натощак, в течение 30 дней за 30 мин до еды [113]. Препараты IFN β : Препараты IFN β -1a: Генфаксон (Genfaxon), Ребиф (Rebif). Лечение больных РС проводили препаратом IFN β -1a «Генфаксон» (Лаборатория «Тьютор С.А.С.И.Ф.И.А.», Аргентина), «Ребиф» (Мерк Сероно, Италия), который представляет рекомбинантный IFN β человека, выделенный из трансфицированной культуры клеток яичника китайского хомячка, по стандартной схеме 22 или 44 мкг/мл подкожно, 3 раза в неделю. Белковая структура препаратов (интерферон бета-1a рекомбинантный человеческий) представляет собой природную аминокислотную последовательность интерферона бета человека, полученную методом генной инженерии с использованием культуры клеток яичника китайского хомячка. Препараты IFN β -1b: (Интерферон бета-1b (ЗАО «БИОКАД», Россия), Инфибета (Генериум, Россия), Ронбетал (ЗАО «БИОКАД», Россия). Рекомбинантный IFN β -1b выделяют из клеток *Escherichia coli*, в геном которых клонирован ген человеческого IFN β , кодирующий аминокислотный остаток серина в 17-й позиции. IFN β -1b представляет собой негликозилированный белок с молекулярной массой 18500 Да, состоящий из 165 аминокислотных остатков.

2) Препараты индукторов IFN. Амиксин (тилорон) – 2,7-бис-[2-(диэтиламино)этокси] флуоренон-9-дигидрохлорид (ОАО «Фармстандарт», Россия). Фармакотерапевтическая группа: противовирусное иммуностимулирующее средство - индуктор образования интерферонов. Кагоцел – натриевая соль сополимера (1 →4) – 6 – 0 - карбоксиметил - β - D - глюкозы, (1 →4) -

) β - D - глюкозы, (21 →24) -2,3,14,15,21,24, 29,32 – октагидрокси – 23 - (карбоксиметоксиметил) - 7,10 - диметил - 4,13 – ди (2 - пропил) - 19, 22, 26, 30, 31 – пентаоксагептацикло [23, 3, 2, 216, 05,28, 08,27, 09,18, 012,17] дотриаконта – 1, 3, 5(28), 6, 8(27), 9(18), 10, 12(17), 13, 15 – декаена («Ниармедик Фарма», Россия). Препарат оригинальный, в ведущих фармакопеях мира не описан [88, 128]. Препарат относится к индукторам IFN представляет собой высокомолекулярное соединение, карбоксиметилцеллюлозы, ковалентно связанной с госсиполом (содержание модифицированных молекул госсипола в составе препарата Кагоцел не превышает 3%). Фармакотерапевтическая группа: противовирусное средство. Неовир® - Оксодигидро-акридинилацетат натрия («Фармсинтез», Россия). Фармакотерапевтическая группа: иммуностимулирующее средство. Циклоферон (меглумина акридонацетат) – низкомолекулярный индуктор IFN. Разработчик и производитель препарата: Научно-технологическая фармацевтическая фирма “Полисан” (Санкт-Петербург, Россия) [89]. Фармакотерапевтическая группа: иммуностимуляторы; другие иммуностимуляторы.

3) Препарат бактериальных лигандов Иммуновак-ВП-4. Иммуотропный препарат из бактериальных лигандов: поликомпонентная вакцина Иммуновак-ВП-4, представляющая собой комплекс из 4-х антигенов условно-патогенных микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*). Разработчик оригинального отечественного препарата проф. Н.Б.Егорова с коллегами НИИВС им.И.И.Мечникова (НПО «Микроген», Россия). Препарат не содержит консерванта и выпускается в сухом лиофилизированном виде. Препарат разрешен к применению для подкожного введения (рег.удостовер. МЗ РФ номер ЛСР-001294/10 от 24.02.2010) и назально-перорального введения (ЛСР-001293/10 от 24.02.2010). Производство вакцины ФГУП «НПО «Микроген» (Уфа, Россия). Фармакотерапевтическая группа: вакцина.

4) Ингавирин - Имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты (Imidazolyl ethanamide pentandioic acid) (витаглутам) (АО «Валента Фарм», Россия). Фармакотерапевтическая группа: противовирусное средство. Противовоспалительное средство.

2.2 Методы

Исследования, проведенные в рамках данной диссертационной работы с междисциплинарным подходом, носили многолетний и комплексный характер. Для решения поставленных задач были использованы методы молекулярной биологии, иммунологии, вирусологии и статистический анализ результатов.

2.2.1 Культивирование клеток

Клетки ФЛЭЧ культивировали в условиях $(37\pm 2)^\circ\text{C}$ в атмосфере CO_2 $(5,0\pm 0,5)\%$ и $(90\pm 5)\%$ влажности в среде DMEM, содержащей 40 мкг/мл гентамицина и 300 мкг/мл L-глутамина, 10% ЭТС в течение 1-2 суток в лунках плоскодонного 96-луночного планшета в количестве $2\cdot 10^4$ клеток/лунку. Клетки Vero сывороточного ведения выращивали в среде DMEM/F12 при тех же условиях культивирования. Для поддержания и всех манипуляций при исследовании клеток Vero-SF применяли специальную бессывороточную среду для прикрепляемых клеток «Гибрис-1-П» (ООО НПП «ПанЭко») [167].

2.2.2 Метод обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени

ОТ-ПЦР-РВ применяли для: 1) изучения экспрессии генов IFN. Выделение нуклеиновых кислот из лейкоцитов крови или из материалов респираторного тракта (носоглоточные мазки, мокрота) с применением набора "Проба-НК" производства "ДНК-технология" (Москва), РНК IFN I ($\text{IFN}\alpha/\beta$), II ($\text{IFN}\gamma$) и III ($\text{IFN}\lambda$) типов детектировали посредством обратной транскрипции с использованием набора "Reverta-L" ("АмплиСенс", Москва) с последующей ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) со специфическими праймерами и флуоресцентными зондами, выбранными на основании множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей мРНК IFN I (α/β), IFN II (γ), IFN III (λ), MxA из базы GenBank [488].

2) определения респираторных вирусов с использованием тест-систем, разрешенных приказами Росздравнадзора. Выделение суммарных нуклеиновых кислот проводили посредством лизиса клинических образцов в растворе гуанидинизотиоцианата с последующим спиртовым осаждением с использованием комплекта реагентов «Проба-НК» («ДНК-технология», Москва). Для обратной транскрипции со случайным гексамерным олигодезоксирибонуклеотидом применяли комплект реагентов «Реверта-L» производства «АмплиСенс» (Москва). Для определения РНК респираторно-синцитиального вируса (hRSv), метапневмовируса (hMPv), вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов (hPiv), коронавирусов (hCoV), риновирусов (hRv), ДНК аденовирусов групп В, С и Е (hAdv), бокавируса (hBoV) применяли набор «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL», РНК вирусов гриппа А и В (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора РФ) – набор «Амплисенс® Influenza virus A/B-FL» и РНК коронавируса SARS-CoV-2 – набор «РеалБест РНК SARS-CoV-2» («ВекторБест», Россия).

2.2.3 Метод иммуноферментного анализа

1) определение концентраций цитокинов IFN α и IFN γ с применением наборов (ЗАО «Вектор-Бест», Россия), для IFN β (“BioSource”, Япония and “pbl interferon source”, США), IFN λ (Bender MedSystem, Австрия) в соответствии с инструкциями производителей. Методом ИФА в сыворотке крови, индуцированной и спонтанной продукции клеток крови («Цитокин-Стимул-Бест», ЗАО «Вектор-Бест», Россия), индуцированной мокроте измеряли количества IFN и других ключевых цитокинов. Для измерения оптической плотности при длине волны 450 нм использовали планшетный спектрофотометр Anthos 2010 («Biochrom LTD», Англия). Концентрации IFN в пг/мл определяли по калибровочным графикам с использованием программы ADAP+ (ЗАО «БиоХимМак», Россия).

2) определение в парных сыворотках уровней IgG к вирусам гриппа А (H1N1, H3N2) и В, аденовирусу, РС-вирусу, вирусам парагриппа 1 и 3 типа и IgM к РС-вирусу (ООО «Предприятия по производству диагностических препаратов», Санкт Петербург) [83]. Диагностически достоверным результатом считалось увеличение оптической плотности на 0,3 единицы в сыворотке реконвалесцента по сравнению с сывороткой, полученной в острой фазе заболевания и взятой в том же разведении [83].

3) определение количества связывающих антител к IFN β (CAT) с помощью тест-системы «BÜHLMANN anti-IFN β BAV ELISA» (BÜHLMANN Laboratories AG, Швейцария) в соответствии с инструкциями производителей. Набор предназначен для прямого и количественного определения *in vitro* антител IgG в сыворотке крови человека к терапевтически применяемому IFN β . По инструкции производителя, образцы сывороток крови больных РС, получающих терапию IFN β , калибраторы и контроли инкубировали в лунках микропланшет, покрытых смесью различных молекул IFN β (нативный человеческий IFN β , IFN β -1a и IFN β -1b), и далее по инструкции. По протоколу CAT в сыворотке крови выражали в единицах Bühlmann Titer Units (BTU). Разведение референсного образца из набора, при котором результаты ИФА меньше отрицательного контроля, принимается за титр референсного образца, выраженный в Bühlmann Titer Units (BTU). Образцы сывороток крови здоровых доноров также были протестированы данным методом. Для уточнения результатов ИФА сывороток больных РС использовали уровни BTU здоровых добровольцев.

4) определение уровня общего IgE проводили с использованием набора реагентов для количественного иммуноферментного определения общего IgE в сыворотке крови фирмы ООО «ЦКФФ» (Россия, Ставрополь) в соответствии с инструкцией по применению [83]. За нормальный уровень общего IgE у взрослых принимали значения ниже 100 кЕ/л [83].

5) определение содержания IgE-специфических антител к аллергенам пыльцы деревьев (береза, ольха, лещина, ясень, дуб) с использованием набора реагентов фирмы ООО «ЦКФФ» (Россия, Ставрополь)) проводили с помощью метода ИФА, разработанного в лаборатории аллергодиагностики НИИВС им. И.И.Мечникова. В качестве конъюгата использовали анти-IgE-МКАТ, меченные пероксидазой хрена (ООО «Полигност», Санкт Петербург, Россия). Содержание аллергенспецифических IgE-АТ в исследуемых сыворотках определяли в классах реакции и оценивали их по значениям оптической плотности исследуемых образцов в сравнении с IgE стандартом (Dr. Fooke) [83].

6) определение содержания антител класса IgG к основному белку миелина (ОБМ) проводили при помощи разработанного в лаборатории аллергодиагностики НИИВС им. И.И.Мечникова метода ИФА [37]. В качестве маркера активности демиелинизирующего процесса в сыворотке крови больных определяли содержание антител класса IgG к ОБМ в динамике РС.

2.2.4 Иммунофлуоресцентный анализ

1) Мультиплексный иммунофлуоресцентный анализ с использованием магнитных микросфер (Unknown (X) Multi Analyte Profiling (xMAP)) применяли для определения 37 биомаркеров воспаления и 12 регуляторных цитокинов; проводили в соответствии с инструкцией к наборам «Bio-Plex Pro™ Human Inflammation Panel 37-plex» (Bio-Rad Laboratories, Inc, USA) и «Bio-Plex Pro™ Human Treg Cytokine Panel 12-plex» (Bio-Rad Laboratories, Inc, USA) с использованием анализатора «MAGPIX» (BioRad, США).

2) С помощью реакции непрямой микроиммунофлуоресценции в сыворотке крови пациентов выявляли антитела классов IgG, IgM и IgA к *Chlamydia pneumoniae*. Диагностическими титрами считали титры специфических антител к *C. pneumoniae* классов IgG $\geq 1:64$ и IgA $\geq 1:8$, либо IgM $\geq 1:8$; титры IgG $\geq 1:128$ при отсутствии IgA и IgM [83, 184]. Антитела к *Chlamydia trachomatis* определяли для исключения перекрёстных реакций между видами хламидий.

2.2.5 Метод агрегатгеммагглютинации

Методом агрегатгеммагглютинации с эритроцитами человека (группа 0(I), резус-отрицательные) после обработки глутаровым альдегидом, сенсibiliзировавшими антителами кролика к микоплазмам, определяли антигены *Mycoplasma pneumoniae*. Диагностически значимыми являлись титры антигенов микоплазм $\geq 1:8$. С помощью реакции пассивной

гемагглютинации определяли титры антител к *Mycoplasma pneumonia* в сыворотке. Диагностическое значение имеет титр $\geq 1:32$ [184].

2.2.6 Микробиологическое исследование

Микробиологическое исследование спектра микроорганизмов: *Staphylococcus* (*S.aureus*, *S.epidermidis*), *Neisseria subflavia*, *Streptococcus* (α -гемолитический, β -гемолитический), *Streptococcus pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Branhamella catarrhais*, *Enterococcus*, *Haemophilus influenza*, *Candida albicans*, *Aspergillus* spp., *Actinomyces* spp., *Clodosporium*, *Penicilium*, и других включало посеvy на стандартные питательные среды, идентификацию микроорганизмов (приказ МЗ СССР №535 от 22.04.85) [184].

2.2.7 Определение биологической активности интерферонов

Определение биологической противовирусной активности IFN_2 продуцируемых лейкоцитами крови, оценивали методом титрования интерферонов с применением жизнеспособного вируса. Определение активности IFN проводили микрометодом, используя диплоидную культуру клеток фибробластов человека (ФЛЭЧ) и клетки почки Африканской зеленой мартышки Vero сывороточного и бессывороточного ведения. На этапе пробоподготовки (питательная среда RPMI-1640, ООО НПП «ПанЭко», Россия) индуцировали *in vitro* цельную кровь вирусом болезни Ньюкасла и фитогемагглютинином (ООО НПП «ПанЭко», Россия). Далее после этапов титрования, заражения индикаторным вирусом (EMC/VSV), учета результатов, выявляли биологическую активность: циркулирующего (сывороточного) IFN ; спонтанного IFN ; индуцированных IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, в реакции *in vitro*. За титр биологической активности (ТБА) IFN принимали величину обратного разведения, при котором задерживается деструкция монослоя клеток от внесенного тест-вируса VSV или EMC, т.е. то максимальное разведение, при котором наблюдается 100 % защита клеток монослоя от ЦПД тест-вируса. Учет результатов проводится по последней лунке 100% защиты монослоя клеток, но, если в следующей лунке титрования имеется 50% защита монослоя, то берется их среднее значение. За показатели физиологической нормы $IFN_{\alpha/\beta}$ принимали значения от 640 ТБА, IFN_{γ} - от 64 ТБА, сывороточного $IFN < 2-8$ ТБА, спонтанно продуцируемого $IFN < 2$ ТБА, которые были получены в образцах от здоровых добровольцев [19, 49, 54]. По результатам многолетней работы нами предложены степени

недостаточности биологической активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови (Таблица 2.3).

Таблица 2.3 – Степени недостаточности биологической активности интерферонов I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови

Степени недостаточности IFN I и II типов (в ТБА)			
1 степень	2 степень	3 степень	4 степень
IFN I типа (α/β) (640-320, 320)	IFN I типа (α/β) (160-80,80)	IFN I типа (α/β) (40)	IFN I типа (α/β) (≤ 20)
IFN II типа (γ) (64-32, 32)	IFN II типа (γ) (16)	IFN II типа (γ) (8)	IFN II типа (γ) (≤ 4)

Индивидуальное тестирование к препаратам индукторов IFN оценивали по возрастанию титров активности IFN γ после воздействия указанных препаратов на лейкоциты периферической крови *in vitro* [131].

2.2.8 Определение нейтрализующих антител к интерферону-бета

Количественное определение нейтрализующих антител (НАТ) к IFN β проводили культурально-вирусологическим методом с использованием культуры клеток Vero и индикаторного вируса VSV. Сыворотки от пациентов с диагнозом рассеянный склероз были исследованы на наличие НАТ. Количество антител в сыворотке, нейтрализующих активность IFN β , отражено в способности сыворотки нейтрализовать активность препарата в количественном значении, определяемому по цитопатическому действию (ЦПД) индикаторного вируса VSV на клетки Vero, в сравнении с сывороткой крови человека, не принимающего препарат IFN β . Нами предложены единицы измерения количественной оценки нейтрализующих антител к препарату IFN β – нейтрализующие единицы (НЕ) [129].

2.2.9 Статистический анализ результатов

При обработке данных использовали общепринятые методы вариационной статистики (программные пакеты BioStat, Statistica и Microsoft Excel), с вычислением средней арифметической и средней геометрической величин со стандартными отклонениями, вычислением частоты встречаемости в процентах и ошибки процентов, медианы Me с интерквартильным размахом (25%, 75%), доверительного интервала для среднего значения случайной величины [145]. При нормальном распределении экспериментальных значений различия между группами оценивали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента.

Статистическая обработка результатов также проводилась с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни для независимых выборок. Различия считались достоверными, если уровень значимости не превышал 5% ($p < 0,05$). Для выявления корреляций между различными признаками использовали коэффициент корреляции Пирсона.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Комплексное исследование системы интерферонов человека в норме и при патологии

3.1.1 Оптимизация детекции РНК IFN α , IFN β , IFN γ и IFN λ человека с помощью обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени

Нарушения иммунной системы играют основную роль в иммунозависимых заболеваниях (ИЗЗ) инфекционной, аллергической и аутоиммунной природы [33, 43, 59]. Для выявления возможных нарушений врожденного иммунитета, оценки рисков вирусных, аллергических или аутоиммунных осложнений продолжаются биомедицинские исследования системы IFN и разработки подходов для терапии иммунозависимых заболеваний.

Для всестороннего изучения системы IFN применяли комплекс методов, позволяющих исследовать экспрессию генов, продукцию белков, противовирусную активность IFN, продуцируемых лейкоцитами крови. Была разработана мультиплексная система для определения экспрессии генов IFN α , β , γ и λ при помощи метода обратной транскрипции с последующей ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени [130]. Количественные оценки уровней экспрессии генов интерферонов проводили с использованием калибровочных зависимостей пороговых циклов флуоресценции (Ct) от количеств геном-эквивалентов исследуемых РНК-мишеней в реакционной смеси и с помощью уравнения Лукьянова-Матца. В результате проведенных исследований выявлена экспрессия генов IFN у практически здоровых людей, показатели которых дают возможность сравнительного анализа с экспрессией генов IFN при ИЗЗ.

Необходимость разработки и оптимизации последовательных этапов ОТ-ПЦР-РВ определялась постоянным пополнением баз нуклеотидных последовательностей новыми первичными структурами мРНК IFN от людей разных национальностей и при разнообразных патологиях, неизбежным отставанием публикаций в открытом доступе от прямого депонирования нуклеотидных последовательностей в международные банки данных и отсутствием коммерческих наборов до начала исследований.

Суммарные нуклеиновые кислоты выделяли из клеток и сыворотки крови, из индуцированной мокроты больных бронхиальной астмой и носоглоточных мазков больных респираторными инфекциями: 1) с использованием стандартного метода фенольной депротенинизации при кислых значениях рН 5,0 с последующим спиртовым осаждением; 2) с

сорбцией РНК на силикагель с последующей элюцией буферами с низкой ионной силой с применением наборов «Рибо-Сорб» («АмплиСенс», Москва) и 3) посредством лизиса в растворах хаотропного реагента - гуанидинизотиоцианата с последующим спиртовым осаждением с отмывками этанолом и ацетоном, используя набор «Проба-НК» («ДНК-технология», Москва). Показано, что применение набора «Проба-НК» обеспечивает выделение максимальных количеств РНК для последующей ОТ-ПЦР, а также превосходит другие методы по скорости процесса и стабильности РНК.

После выбора универсального метода выделения РНК из лимфоцитов, сывороток крови, мокроты и других биологических жидкостей, оптимизировали реакцию обратной транскрипции (ОТ) с ревертазой вируса лейкемии мышей (Moloney Murine Leukemia Virus (MMLV)) и случайными олигодезоксирибонуклеотидными праймерами длиной 7 нуклеотидных остатков (н.о.) или специфическими праймерами длиной 20-25 н.о., соответствующими фрагментам экзонов генов IFN трех типов при различных температурных условиях. Оптимизация условий ОТ проводилась с учетом варьирующего состава буфера и различных концентраций двухвалентных катионов (Mn^{2+} или Mg^{2+}). Для повышения чувствительности реакцию ОТ осуществляли в следующем температурном режиме: $37^{\circ}C$ в течение 30 мин., $40^{\circ}C$ в течение 15 мин., $42^{\circ}C$ в течение 15 мин, после чего фермент инактивировался при $95^{\circ}C$ в течение 3 мин. Для инициации ОТ необходимы праймеры. При использовании универсального праймера длиной 6-7 нуклеотидных остатков полученные ДНК-копии всех РНК в образце можно применять для последующей мультиплексной ПЦР с различными специфическими парами праймеров, соответствующими целевым мРНК. Однако чувствительность такого подхода со случайным олигодезоксирибонуклеотидом будет ниже по сравнению с ОТ со специфическими праймерами к одной мРНК.

Развитие методов определения нуклеотидных последовательностей геномов привело к накоплению данных о первичных структурах мРНК интерферонов человека I, II и III типов. Поскольку коммерческие наборы для детекции мРНК системы IFN человека отсутствовали, то была разработана тест-система ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в реальном времени (ПЦР-РВ) для определения мРНК для IFN α , IFN β , IFN γ и IFN λ на основании множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей GenBank [488] с использованием программного обеспечения VectorNTI. Были выбраны специфические праймеры и зонды, соответствующие консервативным участкам экзонов генов IFN α , IFN β , IFN γ и IFN λ человека. Выбор нуклеотидных последовательностей прямых и обратных праймеров, а также флуоресцентных гидролизуемых зондов определялся следующими критериями: строгое соответствие комплементарному участку мРНК, отсутствие внутренней комплементарности (шпилек), межмолекулярной комплементарности (гомодимеров) и комплементарного

взаимодействия с другими праймерами и зондами. Структуры специфических олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентных гидролизуемых зондов с 5'-концевыми флуорофорами на основе флуоресценина (FAM), родамина (ROX и R6G), а также циановых красителей Cy3 и Cy5 с 3'-концевыми тушителями флуоресценции (black hole quencher (BHQ)), соответствующих мРНК IFN α , IFN β , IFN γ и IFN λ , приведены в Таблице 3.1. Расчет температур отжига праймеров и зондов, вероятности формирования внутримолекулярных самокомплементарных двухцепочечных фрагментов и межмолекулярных взаимодействий праймеров и зондов оценивали с применением комплекса программ [403]. Условия ПЦР оптимизировали при различных концентрациях праймеров, зондов, ионов Mg²⁺ с использованием амплификаторов планшетного типа.

Дополнительно были разработаны системы ОТ-ПЦР-РВ для определения РНК интерферон-стимулируемого гена MX1, кодирующего белок MxA устойчивости к ортомиксовирусам и некоторым другим видам вирусов [638], и РНК интерлейкина IL23 человека, участвующего в иммунитете 3 типа [211, 618] (Таблица 3.1).

Одним из ISG, индуцируемым только IFN I типа, является ген MX1, который кодирует противовирусный белок Mxovirus resistance protein (MxA) с молекулярной массой 76 кДа, который принадлежит к суперсемейству гуанозинтрифосфатаз (guanosine triphosphatase (GTPase)). MxA узнаёт и захватывает нуклеокапсид-подобные структуры вирусов после их проникновения в клетки хозяина, ингибируя репликацию вирусных геномов [638]. Белок MxA обеспечивает противовирусную защиту от различных вирусов, включая вирусы гриппа, парагриппа, кори, вируса Коксаки и вируса гепатита В. Вирусы ингибируются белком MxA на ранней стадии жизненного цикла после проникновения в клетку организма-хозяина и перед репликацией вирусного генома. MxA обнаруживает вирусы, опознавая и захватывая нуклеокапсидподобные структуры. Анализ экспрессии гена MX1 может служить маркером дифференциации вирусных от бактериальных инфекций и свидетельством биодоступности IFN I типа.

Оптимальная концентрация MgCl₂ в буфере для ПЦР составляла 4-5 мМ. Для одновременной детекции мРНК IFN α , IFN β , IFN γ и IFN λ были выбраны универсальные условия ПЦР в следующем режиме (94° С – 10 сек., 60-62° С – 20 сек., 72° С – 30 сек., 45 циклов). Детекция различных флуорофоров по разным каналам флуориметрических амплификаторов позволяла проводить мультиплексную ПЦР для одновременного определения мРНК всей системы IFN.

В Таблице 3.1 отображена структура праймеров и зондов для ПЦР таких молекулярных мишеней, как IFN α , IFN β , IFN γ , IFN λ , MxA, IL23.

Таблица 3.1 – Структура праймеров и зондов для ПЦР

Молекулярная мишень (м РНК)	Прямой праймер (forward (F)) / Обратный праймер (reverse (R))	Зонд с флуорофором на 5'-конце и тушителем флуоресценции Black hole quencher (BHQ)
IFN α	5'- AAATACTTCCAAAGAATCAC -3' (20 н.о.) 5'- AAGAGAGGGGATCTCATG - 3' (17 н.о.)	5'-FAM- CTGACAACCTCCCAGGCACAAG- BHQ1-3' (22 н.о.)
IFN β	5'- GATTCTGCATTACCTGAAG- 3' (19 н.о.) 5'- AGGTAACCTGTAAGTCTG-3' (18 н.о.)	5'-Cy3-GCCTGGACCATAGTCAGAGTGG- BHQ2-3' (22 н.о.)
IFN γ	5'- GGAGACCATCAAGGAAGA- 3' (18 н.о.) 5'- GAAACAGCATCTGACTCC-3' (18 н.о.)	R6G-5'- GACTTGAATGTCCAACGCAAAGC- BHQ2-3' (23 н.о.)
IFN λ	5'- CTGCAGGTGAGGGAGCGC-3' (18 н.о.) 5'- CAGGGTGTGAAGGGGCTG-3' (18 н.о.)	5'-ROX- GAGGCTGAGCTGGCCCTGACGC- BHQ2-3' (22 н.о.)
MxA	5'-GATGCTACTGTGGCCCAG- 3' (18 н.о.)/ 5'- GAGTCAATGAGGTCGATG-3' (18 н.о.)	5'-R6G- GCACCTTCTCCTCATACTGGCTGC- BHQ2-3' (24 н.о.)
IL23	5'-ACAGTCAGTTCTGCTTGC- 3' (18 н.о.)/ 5'-CAGGGCTATCAGGGAGC- 3' (17 н.о.)	5'-Cy5- TATCCGATCCTAGCAGCTTCTCATA- BHQ2-3' (25 н.о.)

В качестве отрицательного контроля применяли деионизованную воду. В качестве положительных контрольных образцов использовали продукты ОТ-ПЦР, предварительно очищенные гель-фильтрацией на сефадексе G-50, концентрации которых определяли на спектрофотометре NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США) при длине волны 260 нм.

Количественные оценки уровней экспрессии генов ключевых цитокинов проводили с использованием калибровочных зависимостей пороговых циклов флуоресценции от количеств геном-эквивалентов исследуемых РНК-мишеней в реакционной смеси и с помощью уравнения Лукьянова-Матца.

Для количественных оценок использовали продукты ПЦР с известной концентрацией, определенной с помощью спектрофотометрии при длине волны 260 нм, с последующим расчетом геном-эквивалентов в реакционной смеси. Пример одной из калибровочных зависимостей для количественных оценок кДНК IFN α представлен на Рисунке 3.1.

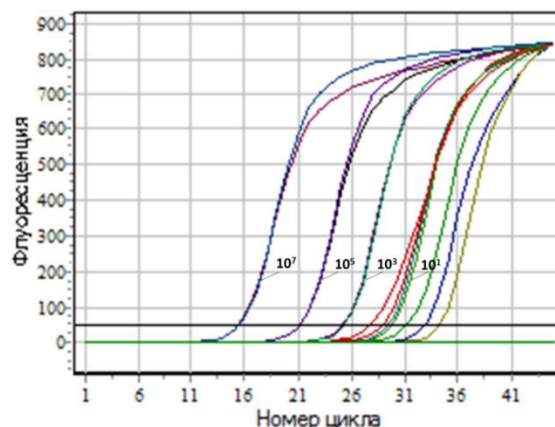


Рисунок 3.1 – Результаты ОТ-ПЦР-РВ по определению мРНК IFN α для построения калибровочной зависимости между количеством геном-эквивалентов в реакционной смеси (указаны на рисунке) и пороговыми циклами флуоресценции (threshold cycle (Ct))

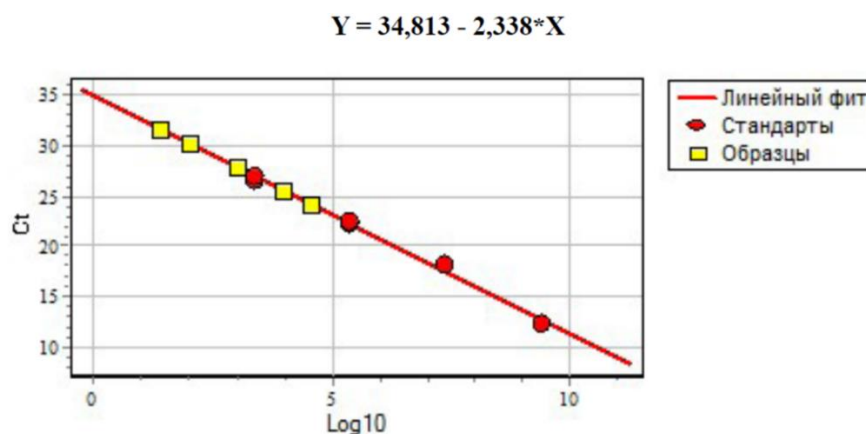


Рисунок 3.2 – Диапазон линейности ПЦР для определения количеств ДНК-копий IFN α . Стандарты (красные круги) соответствовали 10^1 геном-эквивалентов в реакционной смеси (Ct=26,6); 10^3 (Ct=22,4); 10^5 (Ct=18,4); 10^7 (Ct=12,6)

В соответствии с уравнением Лукьянова-Матца (Lukyanov-Matz equation) $N=2^{(40-n)}$, (где N – число молекул ДНК в начале амплификации, n – количество циклов ПЦР)

- 1 молекула детектируется после 40 циклов ПЦР;
- 1000 молекул – 30 циклов; 10^6 молекул – 20 циклов;
- 10^9 молекул – 10 циклов

В уравнении Лукьянова-Матца (Lukyanov-Matz equation) $N=2^{(40-n)}$ предполагается эффективность репликации ДНК равной 2 на всех этапах ПЦР. Однако в действительности, по

мере накопления продукта ПЦР, уменьшается количество субстратов и праймеров, частично инактивируется фермент и накапливается пирофосфат, поэтому коэффициент постепенно уменьшается от 2 до 1. Поэтому на практике целесообразно проводить более 40 циклов ПЦР для возможности детекции единичных копий целевой матрицы.

Таким образом, сравнение различных методов выделения РНК показало преимущества лизиса в концентрированных растворах гуанидинизотицианата с последующим спиртовым осаждением по скорости процесса, выходу и стабильности РНК. Оптимизация условий ОТ со случайным олигодезоксирибонуклеотидом длиной 6 н.о. обеспечивала возможность получения суммарных ДНК-копий всех исследуемых интерферонов. Разработан метод ПЦР для количественных оценок мРНК генов IFN 3-х типов, а также MX1 и IL23 [130]. Этот метод является необходимой частью комплексной оценки системы IFN при различных иммунозависимых заболеваниях.

3.1.2 Оптимизация количественного определения активности интерферонов

Исторически исследование многофункциональных белков IFN началось с 50-х годов прошлого столетия, с открытия IFN Isaacs A. и Lindenmann J. в 1957 году [417]. Первоначально тестирование активности IFN проводили «макрометодом» на выделенных лимфоцитах, что требовало больших количеств крови и не позволяло использовать этот метод в клинической практике [162, 532]. В 70-80-х годах прошлого столетия был предложен микрометод оценки функциональной активности IFN, преимуществом которого стало использование цельной крови пациента в минимальном количестве без выделения лимфоцитов [200, 433, 532, 552], что позволило сократить время исследования, материалы и реактивы. Также была показана возможность использования в реакции крови, взятой днём ранее и при сохранении её в холодильнике. Микрометод оказался применим для массовых исследований и особенно важен в педиатрии [627].

Однако, существовал ряд недостатков, связанных как с ведением культуры клеток, так и с дозами индикаторных вирусов. Исторически, в существующих методах оценки IFN статуса использовались дорогостоящие, чувствительные к интерферонам, диплоидные клеточные культуры (ФЛЭЧ, ЛЭЧ, ФЭЧ, М-19, М-22 и т.п.). Пригодный рабочий потенциал культуры клеток фибробластов эмбриона человека составляет ограниченное (6-14) число пассажей. Для ведения этих культур требуются питательные среды с добавлением ЭТС, качество которой варьирует от партии к партии и существует потенциальная возможность контаминации вирусами, микоплазмами и бактериями. Для изучения активности IFN нами проведен ряд экспериментов сравнения разных культур клеток, которое показало, что при титровании

активность IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, была одинаковой как в культуре клеток ФЛЭЧ, так и с использованием трансформированных клеток почки африканской зеленой мартышки Vero, культивируемых с применением сывороточных и бессывороточных питательных сред [131]. Преимущество использования клеточной культуры Vero-SF, адаптированной к бессывороточной питательной среде Гибрис-1 производства «ПанЭко», содержащей факторы роста, состоит в возможности стандартизировать метод; снижает себестоимость; не требует замены ростовой среды с 10 % ЭТС на поддерживающую среду с 2 % ЭТС. При этом чувствительность клеток Vero, культивируемых на бессывороточных средах, к IFN I и II типов сохраняется при неограниченной способности к пассированию. Предложенная нами единица измерения функциональной активности IFN – обратный титр биологической активности IFN (ТБА) – это величина обратного разведения, при котором задерживается деградация монослоя клеток от внесенного тест-вируса VSV, т.е. то максимальное разведение, при котором наблюдается 100 % защита монослоя клеток от вируса. Учет результатов проводится по последней лунке 100% защиты монослоя клеток, но, если в следующей лунке титрования имеется 50% защита монослоя, то берется их среднее значение. Для определения активности IFN установлена рабочая доза индикаторного вируса, содержащая 10 доз ТЦД₅₀/0,1 мл (при титре вируса 10⁵ ТЦД₅₀/0,1 мл).

Метод определения противовирусной активности IFN (исторически называемый как IFN статус) позволяет определить следующие основные количественные параметры в титрах биологической активности (ТБА): циркулирующий (сывороточный) IFN в сыворотке крови; уровень активности IFN α/β , продуцируемых лейкоцитами крови при стимуляции их вирусом болезни Ньюкасла (Newcastle disease virus (NDV)), *in vitro* [325]; уровень активности IFN γ , продуцируемых лейкоцитами крови при индукции их митогеном ФГА *in vitro*; уровень активности спонтанного IFN в реакции *in vitro*.

Определение активности IFN (Рисунок 3.3) включает несколько последовательных этапов: 1) инкубация образцов гепаринизированной крови с вирусом NDV и ФГА при 37 С, 5% CO₂ в течение 24-48 ч для индукции экспрессии генов IFN I и II типов, соответственно; 2) титрование надосадочных жидкостей и исследуемых клинических образцов сыворотки крови на предварительно подготовленном монослое культуры клеток Vero; 3) заражение клеток Vero после титрования тест-вирусом везикулярного стоматита (vesicular stomatitis virus, VSV) при бессывороточном ведении или вирусом энцефаломиокардита мышей (encephalomyocarditis virus, EMC) при сывороточном ведении культуры клеток; 4) учет полученных результатов визуально по защите монослоя клеток от цитопатического действия (ЦПД) тест-вируса, используя инвертированный микроскоп. Титр биологической активности (функционального) IFN (ТБА) – это величина обратного разведения, при котором задерживается деструкция

монослоя клеток от внесенного тест-вируса VSV или EMC, т.е. то максимальное разведение, при котором наблюдается 100 % защита клеток монослоя от ЦПД тест-вируса. Учет результатов проводится по последней лунке 100% защиты монослоя клеток, но, если в следующей лунке титрования имеется 50% защита монослоя, то берется их среднее значение.

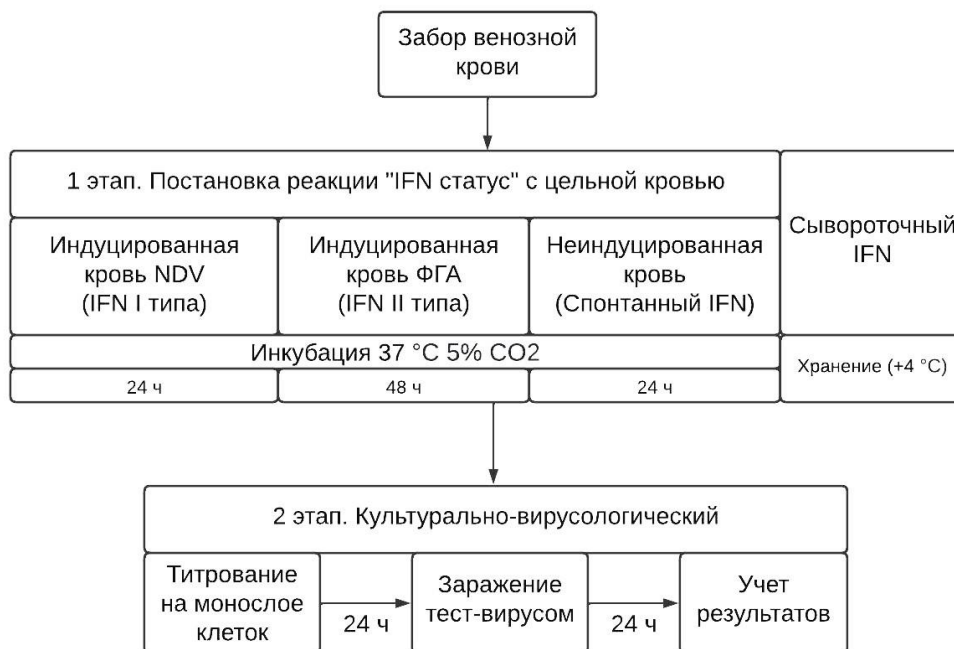


Рисунок 3.3 – Схема количественного микрометода определения активности IFN

Определение коэффициента стимуляции (K_{CT}) выработки биологически активного IFN иммуноактивными препаратами

Внедрение в медицинскую практику иммуномодулирующих препаратов требует определения их влияния на продукцию биологически активного IFN лейкоцитами крови человека [120].

Важным дополнением к определению активности IFN является разработанное нами выявление индивидуальной чувствительности клеток крови человека к препаратам индукторов IFN и иммуномодуляторам, которую оценивают по нарастанию титров IFN γ после воздействия указанных иммуноактивных препаратов (ИАП) на лейкоциты периферической крови (ЛПК) *in vitro* в сравнении с выработкой IFN II типа. Коэффициент стимуляции (K_{CT}) оценивается по нарастанию титров IFN II типа после воздействия указанных препаратов на ЛПК *in vitro* в сравнении с выработкой IFN II типа [131] по формуле:

ТБА (IFN γ +ИАП)

$$K_{Ct} = \frac{\text{ТБА (IFN}\gamma\text{+ИАП)}}{\text{ТБА (IFN}\gamma\text{)}},$$

где:

- K_{Ct} – коэффициент стимуляции - отношение титра ТБА IFN γ после стимулирования ИАП к исходному титру биологической активности IFN γ ,

- ТБА (IFN γ +ИАП) – титр биологической активности IFN γ после стимулирования иммуноактивным препаратом (ИАП),

- ТБА (IFN γ) – исходный титр биологической активности IFN γ .

Единица измерения K_{Ct} – во сколько раз меняется титр ТБА IFN γ после стимулирования ИАП к исходному.

Данный метод позволяет подобрать более активные препараты для иммунокоррекции при выявлении исходно сниженной биологической активности IFN γ . Количественная оценка способствует повышению эффективности терапии. Чувствительность/отвечаемость лейкоцитов к препаратам оценивается в зависимости от кратности увеличения титров: при более чем 4-кратном увеличении- сильно выраженная; при 2-4-кратном увеличении- выраженная; при 2-кратном увеличении титров IFN γ под воздействием препарата- слабо-выраженная; если значение IFN γ под воздействием препарата не меняется - отсутствие чувствительности к препарату.

Такая оценка выявленных изменений необходима для контроля эффективности лечения и прогноза течения заболеваний инфекционной и неинфекционной этиологии. Исследование активности IFN (IFN статус) необходимо при: острых и хронических формах вирусных инфекций; аллергических и аутоиммунных заболеваниях; рецидивирующих оппортунистических инфекциях; у часто болеющих детей, пожилых лиц; врождённых и приобретенных дефектах системы IFN; клинических испытаниях препаратов IFN, индукторов IFN и иммуномодуляторов; клиническом применении вышеназванных препаратов и оценке эффективности терапии; разработке индивидуальных схем лечения препаратами IFN, его индукторами и другими иммуномодулирующими препаратами.

Определение биологической активности IFN расширяет возможности, предоставляемые методами ОТ-ПЦР-РВ и ИФА, позволяя не только обнаружить специфические РНК и белки, но и определить функционально активные формы IFN. Определение биологической активности IFN расширяет возможности, предоставляемые методами ОТ-ПЦР-РВ и ИФА, позволяя не только обнаружить специфические РНК и белки, но и определить функционально активные формы IFN. Метод определения биологической активности в сочетании со стандартными методами молекулярной биологии ОТ-ПЦР-РВ и иммунологии ИФА и хМАР позволяет

определить активность IFN I типа без дифференцированного определения активности IFN α и IFN β . Необходимо отметить ограниченную специфичность определения активности IFN (IFN статус) без дифференцировки биологически активного противовирусного IFN при индукции эталонным индуктором NDV. В связи с тем, что интерфероны I типа, индуцируемые вирусом, имеют сходные пути активации, действия и противовирусный эффект, то возможно, что противовирусный IFN представляет собой смесь IFN α и IFN β . ФГА является эталонным индуктором для стимулирования IFN γ .

В целом, в результате оптимизации метода определения активности IFN (IFN статус) нами предложена перевиваемая культура клеток почки Африканской зеленой мартышки (Vero), культивируемая на бессывороточной питательной среде, сохраняющая чувствительность к IFN при неограниченном количестве пассажей. Также для определения активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, установлена рабочая доза индикаторного вируса, содержащая 10 доз ТЦД₅₀/0,1 мл (при титре вируса 10⁵ ТЦД₅₀/0,1 мл). Нами предложен метод определения биологической активности системы IFN, который сочетает культуральный метод титрования супернатантов индуцированных лейкоцитов крови с оценкой противовирусной защиты от цитопатического действия индикаторного вируса при помощи инвертированного микроскопа [101, 131].

3.1.3 Разработка количественного метода определения нейтрализующих антител к препаратам интерферона

В результате нарушения иммунологической толерантности, ассоциированной с процессами повторного введения антигена, развиваются антитела против потенциально иммуногенного препарата IFN β [189, 584]. Антитела к IFN β могут ослаблять или отменять клеточный ответ на IFN β , а также способны нейтрализовать терапевтический эффект IFN β , блокируя активность молекул IFN на этапе их связывания со специфическими рецепторами [279, 357, 498, 585]. Известно, что длительное применение препаратов IFN β при лечении РС может приводить к образованию антител против применяемых препаратов IFN [81, 110, 137, 189, 287, 349], что, в свою очередь, приводит к устойчивости в терапии изначально эффективными препаратами.

Разработанный нами метод количественного определения нейтрализующих антител (НАТ) к препаратам IFN в сыворотке крови у пациентов, длительно применяющих инъекционные препараты IFN, представляет собой оценку потери биологической активности IFN при воздействии индикаторным вирусом на модели «клетка-вирус» [110, 129].

Метод определения НАТ к препарату IFN β включает использование клеток Vero, культивируемых в среде с эмбриональной сывороткой теленка, или адаптированных к бессывороточному культивированию. Титр вируса, используемого для заражения монослой клеток, составлял 100 доз ТЦД₅₀ (при титре вируса 10⁵ ТЦД₅₀/0,1 мл) [129].

Метод определения НАТ многоступенчатый и состоит из нескольких этапов (Рисунок 3.4): предобработка контрольной и испытуемой сыворотки крови титрованием препарата IFN β -1a или IFN β -1b (применяемым пациентом), с их временной экспозицией в CO₂ инкубаторе; перенос этих протитрованных биопроб на предварительно подготовленный монослой культуры клеток Vero с временной экспозицией в CO₂ инкубаторе; заражение биообразцов индикаторным вирусом VSV с временной экспозицией в CO₂ инкубаторе; учёт полученных результатов при помощи инвертированного микроскопа.

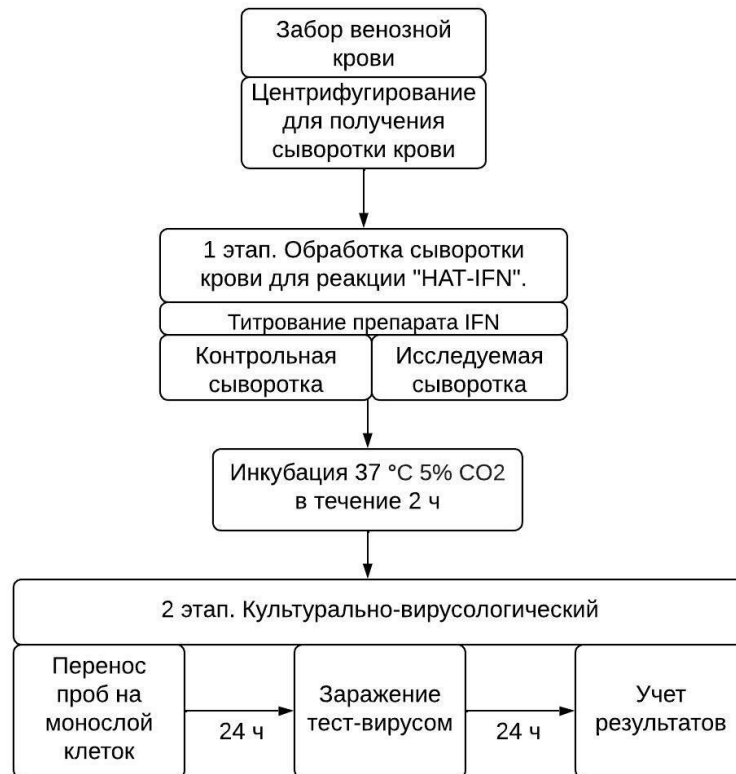


Рисунок 3.4 – Схема метода определения НАТ к препарату IFN [110]

Имеющиеся НАТ в сыворотке крови пациента блокируют активность используемого при длительной терапии препарата IFN β , при этом визуально регистрируется ЦПД индикаторного вируса на монослой культуры клеток в сравнении с параллельно протитрованными предобработанными контрольной и испытуемой сыворотками.

Разработанный метод определения НАТ к IFN [110, 111, 129] показывает очевидную экономическую выгоду в сравнении с существующими зарубежными методами выявления

НАТ, где используют тест «индукции МхА» [357, 360, 361] или тест с люциферазой [136, 391], включающие сложные молекулярные конструкции, дорогостоящее оборудование и реактивы, трудоёмкие манипуляции. В целом, метод определения количественного уровня НАТ в сыворотке крови больных, длительно получающих инъекционные препараты IFN, может помочь своевременно оценить эффективность препаратов IFN при заболеваниях, когда интерферонотерапия является одним из базисных методов лечения. При долговременном применении препаратов IFN, которые являются белками и обладают свойством иммуногенности, может развиваться резистентность к лечению этими препаратами. Определение нейтрализующих антител культурально-вирусологическим методом путем сравнения увеличения активности НАТ к препарату IFN в исследуемом образце сыворотки крови пациента относительно активности контрольного образца, предоставляет возможность получать информацию о наличии нейтрализующих антител к препарату и может свидетельствовать о возникновении возможной резистентности к лечению [110, 111, 129].

Таким образом, разработаны, апробированы и оптимизированы методы для изучения экспрессии генов и активности интерферонов, определения нейтрализующих антител к препарату IFN. Мультиплексное количественное определение экспрессии генов IFN трех типов осуществляли при помощи метода обратной транскрипции с последующей ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в реальном времени, использованием калибровочных зависимостей пороговых циклов флуоресценции (Ct) от количеств геном-эквивалентов исследуемых РНК-мишеней в реакционной смеси и с помощью уравнения Лукьянова-Матца. Для определения активности IFN использовали подобранную систему «клетка-вирус», с установлением рабочей дозы индикаторного вируса. В результате проведенных исследований выявлена экспрессия генов и активность IFN у практически здоровых людей, показатели которых дают возможность сравнительного анализа с экспрессией генов IFN и активностью IFN при ИЗЗ.

В совокупности, разработанные методы количественной ОТ-ПЦР-РВ для мультиплексного определения экспрессии генов IFN, определения противовирусной активности IFN (IFN статус) и определения антител, нейтрализующих IFN, вместе с традиционным иммуноферментным анализом (ИФА) по определению белков IFN 3-х типов и мультиплексным иммунофлуоресцентным анализом с использованием магнитных микросфер (xMAP), позволяют проводить комплексный анализ системы IFN и значимых цитокинов при инфекционной патологии, а также при аллергических и аутоиммунных заболеваниях. Такой комплексный подход оценки системы IFN с количественным анализом экспрессии генов IFN и цитокинов на основании результатов ОТ-ПЦР-РВ, а также выявление уровней белков IFN методами ИФА или

иммунофлуоресцентного мультиплексного анализа, необходимо дополнять данными о функциональной биологической активности IFN для всестороннего анализа состояния организма.

3.1.4 Определение показателей экспрессии генов IFN трех типов и активности IFN I и II типов у практически здоровых людей

Разработанные методы были применены для определения экспрессии генов IFN трех типов [130] и активности IFN I и II типов [131] у практически здоровых добровольцев, а также у пациентов с ИЗЗ. Комплексное изучение системы IFN трех типов с разработанным методом количественной оценки экспрессии генов IFN, количественным ИФА с коммерческими тест-системами отечественного и зарубежного производства, а также оптимизированным методом определения противовирусной активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, позволило определить референтные интервалы и референсные значения экспрессии генов IFN, противовирусную и удельную активность IFN у здоровых добровольцев, которые могут служить показателями сравнения при ИЗЗ.

Методом ОТ-ПЦР-РВ определяли экспрессию генов IFN в лейкоцитах крови (Таблица 3.2) и мазках носоглотки (Таблица 3.3) здоровых людей.

Таблица 3.2 – Референтные интервалы (РИ) и референсные значения (РЗ) интерферонов IFN I, II и III типов у здоровых взрослых добровольцев в крови

Референтные интервалы и референсные значения	IFN α	IFN β	IFN γ	IFN λ
Частота детекции РНК	25,1 \pm 11,6	76,1 \pm 11,4	11,1 \pm 8,4	90,0 \pm 8,0
Диапазоны пороговых циклов (Ct)	35,7-36,8	29,1-33,9	22,6	20,2-32,7
Средний Ct	36,2	31,5	22,6	26,5
Референсные значения геном-эквивалентов в 1 мл крови	840	2,17*10(4)	1,04*10(7)	6,96*10(5)
Диапазоны концентраций белка (пг/мл) (ИФА)	1,4-4,6	2,6-21,9	0,1-4,12	3,2-7
Средняя концентрация белка (пг/мл) (ИФА)	3,0	12,2	2,11	5,1
Количество молекул белка (ИФА) в 1 мл крови	9,3*10(7)	3,9*10(8)	6,1*10(7)	1,8*10(8)
Средняя концентрация белка (пг/мл) (xMAP)	4,79	76	2,33	8,1

Продолжение Таблицы 3.2

Количество молекул белка (xMAP) в 1 мл крови	1,5*10(8)	2,5*10(9)	6,7*10(7)	2,9*10(8)
Диапазоны противовирусной активности (ТБА)	320-960	320-960	32-96	-
Средние значения активности (ТБА)	510,7±85,1	510,7±85,1	54±11,7	-
Удельная активность на 1 пг белка (ИФА)	170,3	41,9	25,6	-
Удельная активность на 1 пг белка (xMAP)	106,7	6,7	23,2	-

Количественный анализ проводили с использованием калибровочных зависимостей количеств геном-эквивалентов в реакционной смеси от пороговых циклов флуоресценции и уравнения Лукьянова-Матца (раздел 3.1.1). На основании количественного ИФА с калибровочными зависимостями оптической плотности для стандартных концентраций IFN каждого типа определены диапазоны варьирования концентраций белков IFN и их средние значения, с последующим вычислением значений каждого IFN в 1 мл крови. Показаны диапазоны противовирусной активности IFN, выраженные в обратных титрах, их средние значения и определена удельная активность IFN I и II типов. Активность IFN в сыворотке крови определена как 0÷8,0 ТБА при отсутствии спонтанного IFN *in vitro*. Охарактеризована активность IFN I и II типов (510,7±85,1; 54±11,7), а также их удельная активность (170,3; 25,6), соответственно.

В мазках носоглотки здоровых взрослых (Таблица 3.3): отрицательные результаты ОТ-ПЦР-РВ свидетельствовали об отсутствии мРНК IFN α , однако РНК IFN β и IFN λ выявлены с высокими частотами и количествами геном-эквивалентов в реакционной смеси; мРНК IFN γ обнаружена в мазках 40% здоровых добровольцев. Количественное сравнение экспрессии генов IFN 3-х типов в клетках крови и носоглотки представлено в Таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Референсные значения интерферонов IFN I, II и III типов у здоровых добровольцев в клетках крови и эпителиальных клетках носоглотки

Клинические образцы		IFN α	IFN β	IFN γ	IFN λ
Кровь	Частота детекции РНК, %	25,1±11,6	76,1±11,4	11,1±8,4	90,0±8,0
	Средний пороговый цикл (Ct)	36,2	31,5	22,6	26,5
	Содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси	14	362	172951	11585

Продолжение Таблицы 3.3

Мазки	Частота детекции РНК, %	0	86,7±9,1	40,0±13,1	80,0±10,7
носоглотки	Средний пороговый цикл (Ct)	0	30,6	36,5	26,0
	Содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси	0	676	11	16384
Примечание: содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси рассчитывается по формуле Лукьянова-Матца и по калибровочной зависимости пороговых циклов					

Комплекс методов позволил определить референтные интервалы и референтные значения экспрессии генов IFN, противовирусную и удельную активность IFN у здоровых добровольцев, которые могут служить показателями сравнения при ИЗЗ. Полученные результаты показали, что референтные интервалы по количеству копий мРНК IFN α и IFN β в крови были очень малы, а для IFN λ представляли значительный разброс. Обнаружены качественные и количественные отличия экспрессии генов IFN в клетках крови и носоглотки: РНК IFN α определена в 25% образцов лейкоцитов крови здоровых взрослых и не обнаружена в мазках носоглотки; РНК IFN β и РНК IFN λ детектировали в 80-100% образцов лейкоцитов крови, а также мазках здоровых взрослых; РНК IFN γ обнаружены только в единичных образцах лейкоцитов крови здоровых взрослых; но в 40% образцов мазков. Количество молекул белков IFN α , IFN β , IFN λ превышало количества геном-эквивалентов РНК в 10(3)-10(5) раз в соответствии с каскадным усилением сигналов при трансляции РНК на рибосомах. Для IFN γ соотношение количества белок/мРНК было минимальным [101].

Таким образом, полученные результаты показателей системы IFN у здоровых добровольцев позволили в дальнейшей работе охарактеризовать врожденный иммунитет пациентов с респираторно-вирусной, аллергической, аутоиммунной патологией апробированными методами *in vitro* с образцами для определения экспрессии генов IFN трех типов, активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови.

3.2 Исследование интерферонов при респираторных вирусных инфекциях на локальном и системном уровнях

При респираторных вирусных инфекциях, таких как грипп, COVID-19 и аденовирусная инфекция, проводили комплексное изучение системы IFN.

При вирусных инфекциях в результате презентации эндогенных антигенов в комплексе с основным комплексом гистосовместимости типа 1 - МНС-1 (major histocompatibility complex) происходит индукция экспрессии эффекторных молекул. Самыми первыми продуцируются цитокины в участке инфекции и являются ответственными за местные воспалительные реакции

и некоторые системные эффекты. Респираторные вирусы проникают в клетки эпителия слизистых дыхательных путей, в которых реплицируются и поражают другие органы и ткани, вызывая повышение температуры тела, головную боль, насморк, боль в горле и кашель. Частые ОРВИ свидетельствуют о нарушениях врожденного и специфического иммунитета. На ранних стадиях инфекции цитокиновый каскад начинается с провоспалительных цитокинов, включая IFN I типа, фактор некроза опухолей (tumor necrosis factor (TNF)) α , IL1 β и др. Полифункциональные цитокины, включая IFN α , ассоциируют с лихорадочным состоянием, слабостью, сонливостью и анорексией. Среди более 300 известных респираторных вирусов наиболее серьезные осложнения вызывают вирусы гриппа А и В, а также коронавирусы [499, 621, 656].

3.2.1 Анализ экспрессии генов интерферонов, синтеза белков интерферона и оценка биологической активности интерферона при гриппе

Исследован биологический материал из респираторного тракта: мазки из носо- и ротоглотки от пациентов с установленным диагнозом грипп (неосложненный сезонный грипп H3N2; сезонный грипп H3N2, осложненный ангиной [88]; аденовирусная инфекция; неосложненный грипп H1N1 и грипп H1N1, осложненный пневмонией).

Комплексное изучение IFN трех типов у больных гриппом в острый период инфекции на 1-2 сутки заболевания проводили на уровне транскрипции РНК; продукции белков с использованием ИФА и мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа xMAP с магнитными микросферами и определением биологической активности IFN.

Были выделены суммарные РНК из клеток крови, носоглоточных мазков. Для IFN α были показаны как отличия частот детекции РНК в лимфоцитах больных гриппом ($20 \pm 13,3\%$) и здоровых людей ($26,7 \pm 11,8\%$), так и концентрации мРНК в 1 мл крови ($p < 0,05$) (Таблица 3.4). Кроме экспрессии генов IFN при гриппе определяли содержание белков IFN (Таблица Б.1). Концентрации IFN $\alpha 2$ также были достоверно выше. Содержание IFN β в сыворотке крови больных гриппом и у здоровых не отличалось. Частоты детекции РНК IFN γ (50%) (Таблица 3.4) и белка (2,9 пг/мл) (Таблица Б.1) в крови у больных гриппом и у практически здоровых добровольцев (40% и 2,1 пг/мл, соответственно) были статистически сходными. Отмечены высокие частоты (80-100%) и уровни экспрессии гена IFN λ у больных и здоровых [115].

При респираторных инфекциях, вызванных РНК-содержащими вирусами, например, гриппе, двухцепочечные (дц) репликативные формы вирусных РНК связываются со специфическими клеточными рецепторами в эндосомах и цитозоле инфицированных клеток. Поэтому индукция экспрессии генов ранних цитокинов происходит быстрее и эффективнее по

сравнению с инфекцией ДНК-содержащими вирусами и бактериями, у которых отсутствуют молекулярные мишени для РНК. Индукция врожденного и специфического адаптивного иммунитета обычно обеспечивает полную элиминацию внеклеточных вирионов и инфицированных клеток без хронизации инфекции и риска рекомбинации вирусных РНК с хромосомами клеток вследствие отсутствия ДНК-копий генома вирусов. Однако при этом повышен риск цитокинового шторма с патологическими нарушениями защитных систем организма. Взаимная адаптация вирусов и их хозяев включает взаимодействие вирусных антигенов с цитокинами или их рецепторами, что приводит к нарушениям первой линии защиты организма хозяина и развитию инфекции.

Таблица 3.4 – Частоты детекции (%) РНК и средние пороговые циклы флуоресценции (Ct) IFN и MxA в лимфоцитах крови и носоглоточных мазках у пациентов с гриппозной и аденовирусной инфекциями

		Грипп		AdV		Здоровые	
		Лимфоциты	Мазки	Лимфоциты	Мазки	Лимфоциты	Мазки
IFNα	доля (%)	20 \pm 13,3	0	62,5 \pm 15,7*	0	26,7 \pm 11,8	0
	Ct	34,8 \pm 0,1	0	39,9 \pm 4,6	0	36,8 \pm 1,3	0
	Копии в 1 мл крови	1,14*10 ² **		1*10 ¹ *		2,76*10 ¹	
IFNβ	%	0 * **	100	100	83,3 \pm 16,7	93,3 \pm 6,7	86,7 \pm 9,1
	Ct	-	28,5 \pm 3,7	27,0 \pm 1,5	46,0 \pm 8,1	29,1 \pm 1,7	30,6 \pm 8,5
	Копии в 1 мл крови	0 * **		2,56*10 ⁴		5,73*10 ³	
IFNγ	%	0	50 \pm 16,7	0	0 * **	0	40 \pm 13,1
	Ct	-	34,1 \pm 2,6	-	0	-	36,5 \pm 1,1
IFNλ	%	100	100	100	83,3 \pm 16,7	93,3 \pm 6,7	80 \pm 10,7
	Ct	23,7 \pm 1,7	25,6 \pm 4,9	20,2 \pm 1,6	29,5 \pm 4,7	20,2 \pm 1,6	26 \pm 4,8
	Копии в 1 мл крови	2,42*10 ⁵		2,74*10 ⁶		2,74*10 ⁶	
MxA	%	100	90	100	100	100	80
	Ct	30,1 \pm 3,6	33,29 \pm 7,2	29,5 \pm 2,8	31,90 \pm 8,2	32,7 \pm 2,4	34,20 \pm 6,3
	Копии в 1 мл крови	2,87*10 ³		4,34*10 ³		4,74*10 ²	

Примечания: Ct - средние значения пороговых циклов флуоресценции для образцов крови, положительных в ОТ-ПЦР-РВ; * p<0,05 – статистически значимые отличия показателей здоровых добровольцев и пациентов; ** p<0,05 – статистически значимые отличия показателей между пациентами

Проведено сравнение транскрипции мРНК IFN при инфекции РНК-содержащим вирусом гриппа и ДНК-содержащим аденовирусом. При острых респираторных инфекциях вирусами

гриппа А, В и аденовирусом у взрослых в начале заболевания выявлены РНК IFN трёх типов с качественными и количественными отличиями в носоглоточных мазках и в лимфоцитах крови. В Таблице 3.4 приведены частоты детекции и пороговые циклы флуоресценции для РНК IFN α , β , γ , λ и противовирусного IFN-стимулируемого белка МхА, выделенных из лимфоцитов крови и мазков обследованных пациентов и здоровых людей [126].

Необходимо отметить наличие экспрессии IFN и МхА в мазках со слизистой носоглотки при качественных и количественных отличиях мукозального и системного иммунного ответа. Показано отсутствие РНК IFN α в мазках здоровых людей и при гриппе и аденовирусной инфекции, при повышенных частотах ($62,5 \pm 15,7\%$) в лимфоцитах при аденовирусной инфекции и отсутствии статистически значимых отличий между больными гриппом ($20,0 \pm 13,3\%$) и здоровыми людьми ($26,7 \pm 11,8\%$). РНК IFN β отсутствовала только в лимфоцитах больных гриппом при определении в большинстве (83-100%) образцов крови и мазков больных и у контрольной группы здоровых людей. В противоположность экспрессии гена IFN α и аналогично IFN β , РНК IFN γ обнаружена при гриппе преимущественно в мазках при полном отсутствии в клетках крови. При аденовирусной инфекции экспрессии гена IFN γ не выявлено ни в одном образце. Высокие частоты (80-100%) и уровни экспрессии генов IFN λ III типа и МХ1, кодирующего противовирусный белок МхА, у больных и здоровых не отличались. В Таблице 3.4 уровни экспрессии гена IFN λ сопоставимы в группах здоровых и больных респираторными заболеваниями. Количества РНК белка МхА в лимфоцитах крови при ОРВИ приблизительно в 10 раз превышали их уровень в контрольной группе [67, 101, 126].

Необходимо отметить, что в соответствии с количественными оценками по данным ОТ-ПЦР-РВ и хМАР (Таблицы 3.4 и Таблица Б.1), содержание белков превышало количество молекул, соответствующих мРНК в единице объёма крови, что могло быть обусловлено как каскадным усилением при трансляции, так и большей стабильностью белков по сравнению с РНК. К тому же, следует отметить выраженный воспалительный процесс при респираторных вирусных инфекциях, в том числе при гриппе, что нами подтверждено исследованием маркеров воспаления (Таблица Б.1) [115].

Кроме повышенных значений в сыворотке крови IFN α ($p < 0,05$) и IFN λ при гриппозной инфекции, по сравнению с показателями у здоровых добровольцев, выявлено статистически значимое увеличение количества белков семейства TNF (Таблица Б.1), таких как APRIL/TNFSF13 ($p < 0,05$), BAFF/TNFSF13B ($p < 0,001$), их растворимые рецепторы sTNF-R1/sTNF-R2 ($p < 0,05$), а IL10 ($p < 0,001$), белок остеопонтин ($p < 0,001$). В то же время, концентрации двух маркеров: комплекса гликопротеина 130 с растворимым рецептором IL-6 gp130/sIL-6R β и матриксной металлопротеиназы MMP-1 у больных гриппом были пониженными ($p < 0,05$) по сравнению с контролем здоровых добровольцев.

Повышенные концентрации биомаркеров воспаления Th1 пути коррелировали с элиминацией вируса без последующих аллергических или аутоиммунных осложнений у больных гриппом (Таблица Б.1). Для семейства TNF характерно не только увеличение продукции собственно цитокинов APRIL и BAFF, способных к взаимодействию между собой, но и двух растворимых рецепторов sTNF-R1 и sTNF-R2. Активация цитокинов семейства TNF приводит к индукции преимущественно клеточного иммунного ответа Th1 типа, вызывает повышение проницаемости капилляров, а при избытках - повреждение эндотелия сосудов и возникновение тромбов [100, 154]. Из двух белков семейства TNF с достоверно повышенными концентрациями у больных гриппом APRIL при связывании с рецепторами способен индуцировать апоптоз. Таким образом, необходимость связывания APRIL с BAFF и со специфическими рецепторами обуславливает однонаправленность и синхронность их регуляции [241] у больных гриппом (Таблица Б.1). Статистически значимый рост концентрации полифункционального сиалопротеина остеопонтина, как известно, обеспечивает индукцию цитокинов семейства IL12 и раннюю активацию лимфоцитов по Th1 пути [459]. Увеличение концентрации регуляторного противовоспалительного цитокина IL10 свидетельствует о своевременной регуляции воспаления и может служить прогностическим маркером для больных гриппом. Достоверных изменений экспрессии генов других цитокинов Th2 пути не обнаружено.

Уменьшение концентрации комплекса гликопротеина 130 и растворимого рецептора IL-6 gp130/sIL-6R β , необходимого для активации IL6-индуцируемого каскада провоспалительных и противовоспалительных реакций наряду с активацией Th17 иммунного ответа, также свидетельствует о Th1 поляризации врождённого и адаптивного иммунитета в результате эндогенной презентации внутриклеточных антигенов вируса гриппа в комплексе с МНСI. Для оценки сбалансированности и направленности иммунного ответа определяли коэффициенты поляризации (КП) [171] как соотношение концентраций IL10 и IFN γ в сыворотке крови больных гриппом и здоровых добровольцев, которые составили 0,57 и 0,03, соответственно. Данные свидетельствуют о Th1 поляризации в результате эндогенной презентации антигенов при инфекции вирусами гриппа А и В в начале заболевания с последующей индукцией преимущественно клеточного иммунного ответа. Оценки коэффициента поляризации КП=0,57 при гриппе позволяют количественно оценить преимущественно Th1 клеточный иммунный ответ.

Уменьшение концентрации матриксной металлопротеиназы MMP-1, обеспечивающей регуляцию цитокиновой сети посредством протеолитического гидролиза мембранных рецепторов [650], вероятно, обусловлено завершением Th1 поляризации врождённой резистентности в первые часы после заражения вирусом гриппа и индукцией вирус-

специфического преимущественно клеточного иммунитета на стадии начала инфекционного заболевания.

Множественное преобладание количества молекул белков по сравнению с мРНК более чем в 10^6 раз, вероятно, обусловлено регуляцией на стадии трансляции и обеспечивает быстрое каскадное усиление биологической активности цитокиновой сети, необходимое для подавления острой инфекции и элиминации вируса гриппа в течение нескольких суток.

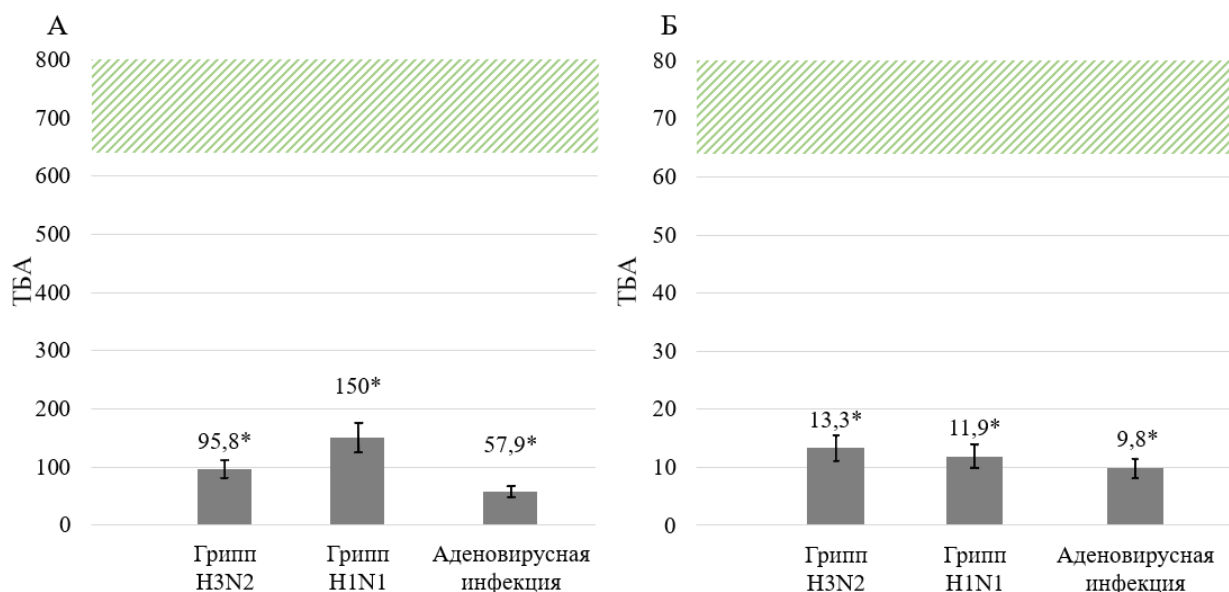
Выявлены повышенные уровни цитокинов в сыворотке крови пациентов с гриппом А Н3Н2, гриппом А Н1Н1 и гриппом А Н1Н1, осложненным пневмонией: $IFN\alpha$, $IFN\gamma$, IL6 по сравнению с практически здоровыми людьми (Таблица 3.5).

Таблица 3.5 – Цитокины в сыворотке крови (пг/мл) методом ИФА у пациентов с гриппом А (Н2Н3, Н1Н1)

Грипп А	$IFN\alpha$	$IFN\gamma$	$TNF\alpha$	IL1 β	IL6	IL8
Н3Н2	26,0 \pm 6,9*	10,8 \pm 1,9*	1,0 \pm 0,2	2,5 \pm 0,6	39,6 \pm 14,1*	22,1 \pm 1,89*
Н1Н1	6,5 \pm 2,2*	4,1 \pm 1,6	3,2 \pm 0,4	1,5 \pm 0,5	15,3 \pm 6,1*	5,4 \pm 1,4
Н1Н1 + Пневмония	7,8 \pm 3,0*	26,3 \pm 10*	0,3 \pm 0,2	1,1 \pm 0,4	21,1 \pm 3,9*	3,4 \pm 1,7
Контроль	0,4 \pm 0,2	4,12 \pm 1,1	1,7 \pm 0,1	0,19 \pm 0,1	3,6 \pm 1,2	4,1 \pm 1,6
Примечание: * $p < 0,05$ - статистически значимые отличия						

При респираторных вирусных инфекциях была определена биологическая активность IFN , продуцируемых лейкоцитами крови (IFN статус), что отражено в Рисунке 3.5. У пациентов неосложненным гриппом было отмечено статистически значимое угнетение биологической активности α/β - IFN , подавление γ - IFN -генеза, повышение содержания биологической активности IFN в сыворотке крови у 60 из 93 пациентов (64,5% \pm 4,99%), что является ответной реакцией организма на вирусную инфекцию [49], и наличия у 53 из 93 пациентов (57% \pm 5,2%) биологически активного спонтанного IFN в реакции *in vitro*.

Изменения в показателях IFN статуса при гриппе, осложненном ангиной (Рисунок 3.6), были более выражены, чем у больных неосложненным гриппом (Рисунок 3.5). Это проявлялось в более выраженном угнетении биологической активности IFN I и II типов. У большего количества больных был обнаружен биологически активный спонтанный IFN (у 41 из 68 пациентов (60,3% \pm 5,9%)). Более выраженное угнетение иммунитета у больных гриппом и ангиной, чем у больных неосложненным гриппом, вероятно, обусловлено сочетанной вирусно-бактериальной инфекцией [84, 88]. При бактериологическом и бактериоскопическом исследовании мазков с поверхности миндалин выделены *Staphylococcus spp.* 39,1%, *Streptococcus spp.* 30,3%. Активация сапрофитной стафилококковой флоры обычно происходит в результате нарушения защитных механизмов на слизистой оболочке ротоглотки, обусловленное повреждающим действием респираторных вирусов [84, 88].



Примечание: * $p < 0,05$ - статистически значимые отличия по сравнению с показателями физиологической нормы (интервал зеленого цвета). По оси абсцисс- респираторно-вирусные заболевания. По оси ординат- показатели активности IFN в титрах биологической активности (ТБА)

Рисунок 3.5 – Показатели активности IFN I (А) и II (Б) типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при гриппе, аденовирусной инфекции

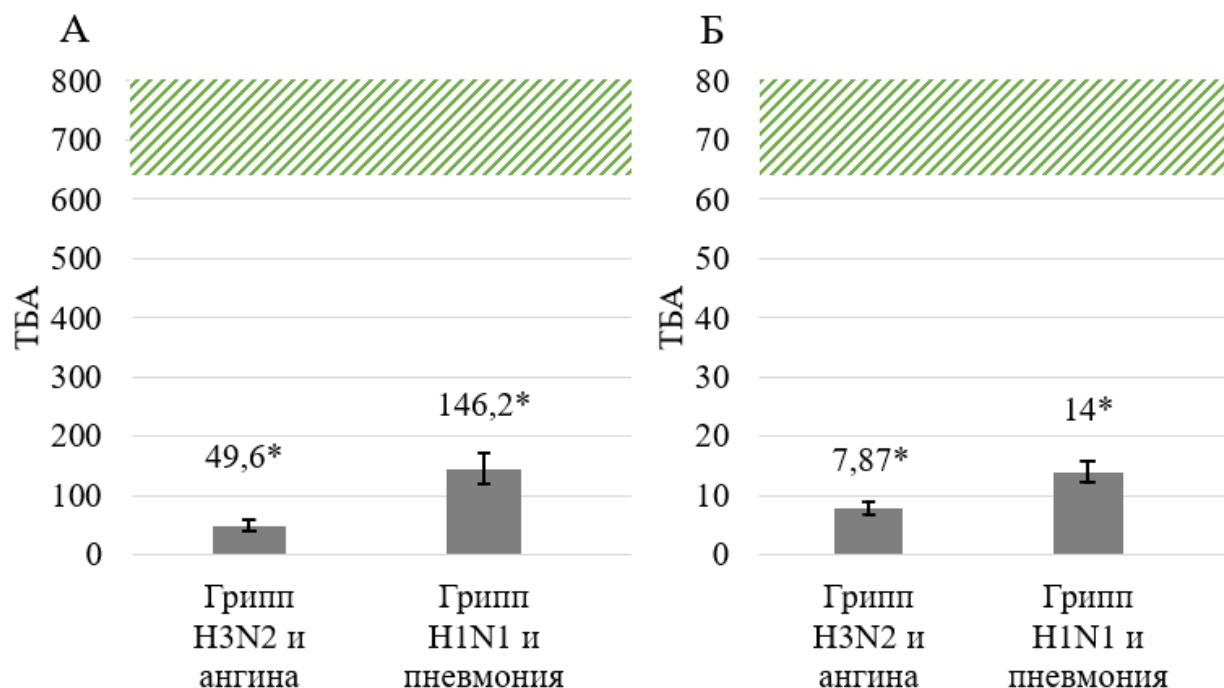


Рисунок 3.6 – Показатели активности IFN I (А) и II (Б) типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при осложненном гриппе. * $p < 0,05$ - статистически значимые отличия по сравнению с показателями физиологической нормы (интервал зеленого цвета)

В реакции *in vitro* пациентов неосложнённым H1N1 гриппом (Рисунок 3.5), гриппом, осложненным пневмонией (Рисунок 3.6), было также отмечено угнетение интерфероногенеза I

и II типов, повышение содержания сывороточного биологически активного IFN, наличия у определённого количества больных биологически активного спонтанного IFN.

3.2.2 Анализ экспрессии генов интерферона, синтеза белков интерферона и оценка биологической активности интерферона при новой коронавирусной инфекции

Вспышки коронавирусных инфекций были в 2002-3, 2012-13, наряду с высокими частотами встречаемости серопозитивных лиц (~80% населения с антителами против коронавирусов), которые свидетельствуют о потенциале коронавирусов по созданию пандемии; пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, в 2019-21 г.г. Возможные механизмы передачи коронавирусов включают воздушно-капельный, воздушно-пылевой, фекально-оральный и контактный.

Известно, что входными воротами вируса SARS-CoV-2 в первую очередь являются клетки респираторного тракта верхних дыхательных путей, поэтому целесообразно было оценить мукозальный врожденный иммунитет на уровне слизистых оболочек (носо-ротоглотка) и системный врожденный иммунитет (кровь) через экспрессию IFN λ 3 (IL-28B).

При инфекции коронавирусом SARS-CoV-2 определена сниженная экспрессия IFN λ в мукозальном иммунитете ($p < 0,05$) (Таблица 3.6) по сравнению с практически здоровыми добровольцами и повышенная экспрессия гена IFN λ в лейкоцитах крови (Таблица 3.7) по сравнению с исходными данными до лечения; наряду с увеличением концентраций белков IFN α , IFN γ и IFN λ , снижением концентрации IFN β в сыворотке крови и значительным угнетением активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови ($p < 0,05$) [19].

В острой фазе COVID-19 отмечен сниженный мукозальный противовирусный иммунитет ($p < 0,05$) по показателю экспрессии гена IFN λ 3 по сравнению с группой условно здоровых добровольцев (Таблица 3.6). Достоверное увеличение экспрессии IFN λ 3 в крови на фоне лечения с бактериальными лигандами (Таблица 3.7) выявлено в группе лиц с тяжелым течением заболевания COVID-19 на 15 сутки после лечения относительно дебюта заболевания. Отмечено, что при COVID-19 развивается дисбаланс иммунного ответа на вирус с недостаточным синтезом IFN в начале заболевания (Таблица 3.6) и последующей гиперпродукцией провоспалительных цитокинов (глава 3.2.2), что служит причиной активного воспаления в легочной ткани [214, 262, 399, 646]. При COVID-19 отмечен сниженный в $10 \cdot 10^4$ раз мукозальный противовирусный иммунитет ($p < 0,05$) по показателю экспрессии гена IFN λ 3 по сравнению с группой условно здоровых добровольцев (Таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Значения экспрессии IFN λ 3 III типа (IL28B) у пациентов с COVID-19 до лечения в эпителиальных клетках

		1	2	3
Здоровые	Средний пороговый цикл (Ct)	22,3 \pm 1,0	20,9 \pm 2,6	17,1 \pm 2,6
	Содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси	2,13*10 ⁵	5,62*10 ⁵	7,83*10 ⁶
Тяжелое течение COVID-19	Средний пороговый цикл (Ct)	21,9 \pm 4,3	21,6 \pm 2,6	22,0 \pm 3,0
	Содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси	2,81*10 ⁵	5,24*10 ⁵	2,62*10⁵ *
Реабилитация	Средний пороговый цикл (Ct)	32,5 \pm 1,1	32,7 \pm 1,3	31,3 \pm 1,9
	Содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси	1,81*10² *	1,58*10² *	4,26*10² *
Примечание: эпителиальные клетки мазков из носоглотки (1), ротоглотки (2) и слюны (3). *p<0,05 – статистически значимые отличия по сравнению с практически здоровыми				

В Таблице 3.7 показаны уровни экспрессии гена IFN λ 3 III типа (IL28B), полученные на клиническом материале крови больных COVID-19 в динамике лечения.

Таблица 3.7 – Значения экспрессии гена IFN λ 3 на уровне системного иммунитета при COVID-19 в динамике лечения

	Кровь	COVID-19	COVID-19	постCOVID-19
		Базисная терапия	Базисная терапия+ВП-4	Терапия ВП-4
До лечения (исходно)	Средний пороговый цикл (Ct)	25,86 \pm 0,46	25,98 \pm 0,38	25,2 \pm 0,37
	Содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси	1,81*10 ⁴	1,66*10 ⁴	2,85*10 ⁴
Сразу после лечения (15 день)	Средний пороговый цикл (Ct)	23,68 \pm 0,35	22,26 \pm 0,5	24,68 \pm 0,35
	Содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси	8,18*10 ⁴	2,19*10⁵ *	4,09*10 ⁴
После лечения (30 дней)	Средний пороговый цикл (Ct)	22,87 \pm 0,52	26,63 \pm 0,48	18,73 \pm 0,32
	Содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси	1,43*10⁵ *	1,03*10 ⁴	2,53*10⁶ *
Примечание: У здоровых - Ct=26,5; Содержание геном-эквивалентов в реакционной смеси= 1,16*10 ⁴ *p<0,05 – статистически значимые отличия по сравнению с исходными данными в динамике лечения				

При COVID-19 развивается иммунный ответ на вирус с недостаточным синтезом IFN в начале заболевания и последующей гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, что приводит к воспалению в легочной ткани [214, 262, 399, 646]. Показано также, что при тяжёлых формах этого заболевания наблюдаются высокие уровни IFN без снижения вирусной нагрузки

[508, 653], что согласуется с нашими результатами (Таблица В.1). Среди патогенетических механизмов COVID-19 важная роль принадлежит нарушениям регуляции иммунных реакций, индуцированных IFN I: несостоятельность раннего ответа с участием этих соединений коррелирует с тяжестью течения болезни [387]. Все это согласуется с полученными нами результатами относительно глубокой недостаточности (дефицит) биологической активности IFN I и II в биопробах лиц, перенесших инфекцию в среднетяжёлой и тяжёлой формах [19, 96]. Известно, что действие IFN на ранних стадиях патологического процесса связано с противовирусной защитой, но позднее может приобретать провоспалительную направленность. Возможно, подобный эффект обусловлен IFN-индуцированной активацией рецептора SARS-CoV-2 – ангиотензинпревращающего фермента 2 (angiotensin-converting enzyme 2, ACE2) – в эпителии дыхательных путей. Кроме того, хотя патогенные коронавирусы блокируют передачу опосредуемых IFN сигналов, они могут активно стимулировать другие провоспалительные пути, способствующие прогрессированию возникающих нарушений. В частности, белки NSP9 и NSP10 вируса SARS-CoV-2 обладают способностью индуцировать продукцию IL6 и IL8, что вносит вклад в развитие цитокинового шторма у пациентов с COVID-19 [386], что также согласуется с нашими результатами выявления повышенного содержания 29 биомаркеров воспаления ($78,4\% \pm 4,2\%$) из 37 исследованных (Таблица В.1).

Новая коронавирусная инфекция COVID-19 вызывает гиперактивацию провоспалительных факторов, повышение уровней экспрессии генов сигнальных белков с их каскадной сверхпродукцией, приводящей к цитокиновому шторму ключевых медиаторов воспаления (IL6, IL1 β , TNF α и др.), снижению IFN и, как следствие, к множественным нарушениям защитных систем организма и полиорганным патологиям [96, 284, 387, 571, 591, 599, 614]. Внедрение SARS-CoV-2 в организм обуславливает гиперактивацию провоспалительных факторов, повышение уровней экспрессии генов сигнальных белков с их каскадной гиперпродукцией [297, 591]. Новый коронавирус SARS-CoV-2 ингибирует экспрессию клеточных генов (в т.ч. генов врождённого иммунитета) [243], оказывает негативное влияние на систему IFN полной блокировкой трансляции рецепторов RIG-I и ISGs *in vitro* [243, 591]. Результатом является отсутствие индукции экспрессии цитокинов (включая IFN I типа, необходимого для противовирусной защиты) Th1 типа. Нами выявлено снижение уровня FN β в сыворотке крови пациентов в остром периоде заболевания COVID-19 (Таблица В.1) и глубокий дефицит биологической активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови (Рисунок 3.7) [19, 96]. Данная цепочка необходимых сигналов отражает механизм снижения противовирусного ответа макроорганизма на инфекцию.

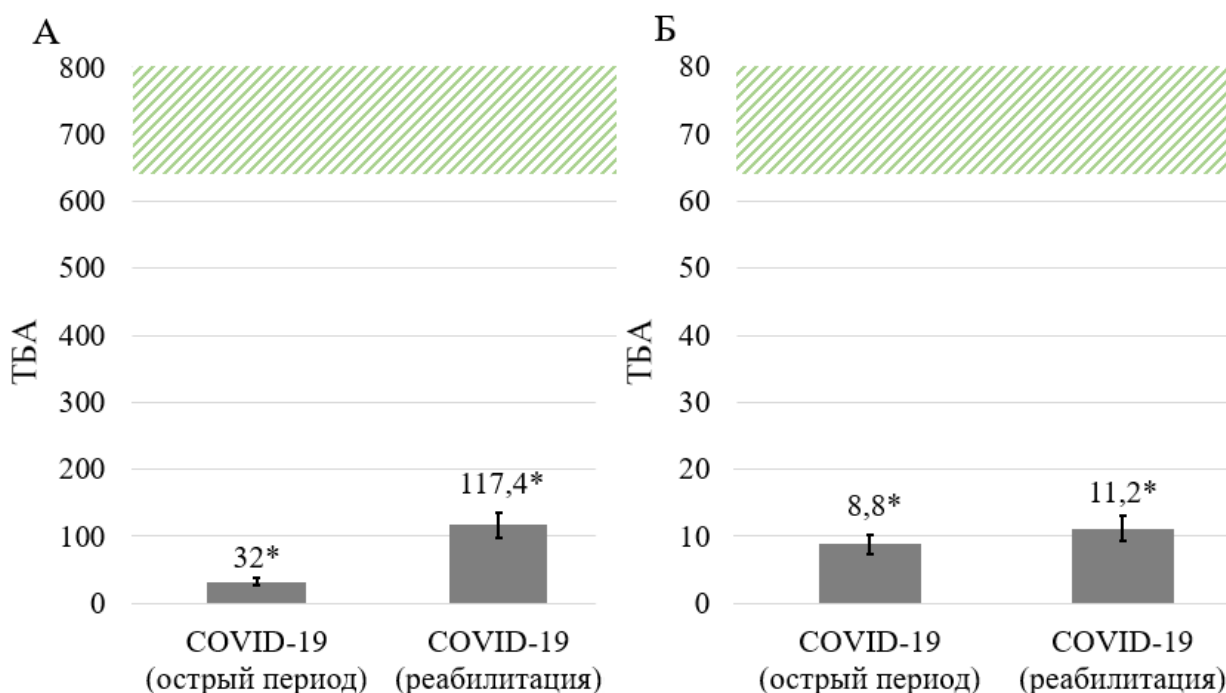
Х. Lei и соавт. [262] показали, что SARS-CoV-2 вызывает явные, но отсроченные ответы, опосредуемые IFN I типа. Путём скрининга 23 вирусных протеиновых структур исследователи

обнаружили, что белки SARS-CoV-2, такие как NSP, ORF3, ORF6, а также белок М ингибируют вирусиндуцированную активацию промотора IFN- β (согласуется с нашими данными в Таблице В.1). Работы С.Ж. Neufeldt и соавт. показали, что подавление вирусом SARS-CoV-2 системы IFN (вероятно, через NSP3 на IRF3) эффективно регулирует воспалительные реакции через путь cGAS-STING, коррелируя с иммунопатиями, вызванными нарушением интерфероновой регуляции. Такая дисрегуляция усугубляется при тяжёлом течении COVID-19 [568].

В пробах гепаринизированной крови пациентов с COVID-19 острого периода и периода реабилитации в реакции *in vitro* определена биологическая активность IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови. На Рисунке 3.7 и Таблице 3.8 отражены выявленные нами показатели биологической активности IFN I и II типов при COVID-19 ($p < 0,05$) в острой стадии и в постковидном периоде [19, 96, 125, 158, 603].

Так, в группе с острым периодом заболевания практически у всех пациентов выявлено значительное угнетение биологической активности IFN I и II типов ($p < 0,05$), которое можно отнести к выраженной недостаточности 3 и 4 степени. Более того, у части обследуемых выявили глубокий дефицит («следовые» количества) биологической активности IFN: 67 человек ($60,9\% \pm 4,7\%$) – 4 степени по IFN I типа и 40 ($36,4\% \pm 4,6\%$) – II типа. При острой стадии зарегистрировано повышение биологической активности IFN в сыворотке крови у 12 пациентов ($10,9\% \pm 2,9\%$). Обращает внимание выявленное токсическое воздействие сыворотки крови пациентов на монослой культуры клеток у 20 больных ($18,2\% \pm 3,7\%$). Наконец, в 4 ($3,6\% \pm 1,8\%$) пробах неиндуцированной крови *in vitro* обнаружено наличие спонтанного IFN, не образующегося в физиологических условиях.

Течение постковидного периода отличалось менее выраженной степенью угнетения противовирусной активности (Рисунок 3.7).



Примечание: * $p < 0,05$ – статистически значимые отличия по сравнению с физиологическими значениями (интервал зеленого цвета)

Рисунок 3.7 – Показатели биологической активности IFN I (А) и II (Б) типов, продуцируемых лейкоцитами крови, в острой стадии новой коронавирусной инфекции и в постковидном периоде

Таблица 3.8 – Результаты оценки IFN статуса у пациентов в острой стадии COVID-19 и в постковидном периоде

Степени недостаточности IFN I и II типов (абс. кол-во человек / %)		
	острый период (n=110)	период реабилитации (n=47)
1 степень		
- IFN I типа (α/β) (320)	1 (0,9%)	3 (6,4%)
- IFN II типа (γ) (32)	7 (6,4%)	3 (6,4%)
2 степень		
- IFN I типа (α/β) (80-160)	7 (6,4%)	24 (51,1%)
- IFN II типа (γ) (16-32)	8 (7,3%)	13 (27,7%)
3 степень		
- IFN I типа (α/β) (40)	35 (31,8%)	19 (40,4%)
- IFN II типа (γ) (8)	55 (50%)	21 (44,7%)
4 степень		
- IFN I типа (α/β) (≤ 20)	67 (60,9%)	1 (2,1%)
- IFN II типа (γ) (≤ 4)	40 (36,4%)	10 (21,3%)

В ходе реабилитации имелась тенденция к восстановлению активности IFN I и II типов по сравнению с острой стадией болезни с преобладанием значений, соответствовавших 2 и 3 степени недостаточности системы IFN. Так, 2 степень недостаточности биологической активности IFN отмечена у 27 человек (51,1%±7%) (I типа) и у 13 человек (27,7%±6,6%) (II

типа); 3 степень – у 19 человек ($40,4\% \pm 7,2\%$) (I типа) и у 21 человека ($44,7\% \pm 7,73\%$) (II типа). Однако у 10 человек ($21,3\% \pm 6\%$) обследованных сохранялось угнетение γ -звена системы IFN 4 степени без тенденции к восстановлению на указанный период времени (1-3 мес) в фазе реабилитации. На протяжении этого временного отрезка повышенные уровни биологической активности IFN в сыворотке крови зарегистрированы у 10 лиц ($21,3\% \pm 6\%$). Кроме того, в 2-х ($4,3\% \pm 2,9\%$) образцах неиндуцированной крови *in vitro* также присутствовал спонтанный IFN. Токсического действия сыворотки на клеточную культуру в постковидный период не отмечено.

Перенесшие ранее COVID-19 были представлены преимущественно пациентами с лёгкой формой заболевания, у 34% больных отмечалось среднетяжёлое течение. Важно подчеркнуть, что в сроки от 1 до 7 мес. после заболевания имела место лишь тенденция к восстановлению показателей IFN статуса, что свидетельствует о необходимости более длительного временного промежутка восстановления/реабилитации для достижения физиологических значений активности.

При COVID-19, по сравнению с гриппом, имеет место существенно более значительное угнетение биологической активности IFN, отражающее степень поражения вирусом SARS-CoV-2 системы IFN как естественной противовирусной защиты организма (Рисунки 3.5, 3.6, 3.7). Можно видеть, что в острой стадии заболевания значения ТБА для IFN I типа кратно отличаются от физиологических показателей: при нижней границе нормы в 640 ТБА средние значения составили < 32 (резкое угнетение в ≥ 20 раз) ($p < 0,05$). По активности IFN II типа при нижней границе нормы 64 ТБА отмечено снижение в 7,3 раза ($p < 0,05$). Полученные результаты наглядно демонстрируют степень угнетения биологической активности IFN I и II типов при COVID-19 (особенно в острой фазе заболевания) по сравнению со значениями физиологической нормы. Угнетение активности IFN в острой фазе новой коронавирусной инфекции отличается от иммунопатологической картины при остром гриппе: в последнем случае также выявлено снижение биоактивности IFN относительно нормы в несколько раз, однако оно не столь выражено по сравнению с таковым при COVID-19 (Рисунки 3.4, 3.5, 3.6). Был выявлен дефицит активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, сниженный при гриппе в 6,7 раз и 4,8 раз; при аденовирусной инфекции в 11,1 раз и 6,5 раз; при острой коронавирусной инфекции в 20 раз и 7,3 раз; в постковидном периоде в 5,5 раз и 5,7 раз; соответственно ($p < 0,05$), по сравнению с показателями физиологической нормы [125].

В постковидный период (в данной работе период наблюдения от начала заболевания составил преимущественно от 1 до 3 мес.) происходила постепенная тенденция к восстановлению биологической активности IFN. Этот процесс протекает крайне медленно; по нашим данным, функциональная биологическая активность не восстановилась до нормальных значений ни у одного пациента, перенесшего COVID-19. При этом восстановление активности

IFN I типа осуществляется быстрее, чем IFN γ , репарация иммунной системы в целом требует значительного времени (Рисунок 3.7).

В Государственном докладе 2024 года отмечено, что в 2023 году в Российской Федерации в целом сформировался уровень коллективного иммунитета (постинфекционного и поствакцинального) к вирусу SARS-CoV-2, способный обеспечить защиту большинства инфицированных от тяжелого течения заболевания. Об этом свидетельствует доминирование легких и бессимптомных форм заболевания на фоне роста заболеваемости, обусловленного появлением новых геновариантов возбудителя [106].

Таким образом, результаты настоящего исследования подтверждают гипотезу о превалирующей роли вызванного вирусом SARS-CoV-2 нарушения интерферогенеза в иммунопатогенетических механизмах COVID-19. Научная новизна работы заключается в возможности комплексной оценки IFN, как потенциала противовирусной защиты организма против новых форм вируса, открывая перспективы лечения новой коронавирусной инфекции препаратами IFN и аналогичными иммуноактивными средствами. IFN I и III типов определяют клеточное состояние устойчивости к вирусам, а также активируют адаптивные противовирусные ответы. Введение иммуноактивных препаратов при COVID-19 может привести к потенциальному положительному эффекту, связанному с их противовоспалительными и противовирусными свойствами. В этой связи необходимо отчётливое понимание баланса противовирусных и воспалительных программ врождённого иммунитета, которые могут иметь важное значение для разработки эффективных биомаркёров и препаратов при диагностике и лечении COVID-19.

3.2.3 Иммунокоррекция нарушений системы интерферонов при гриппе и COVID-19

В настоящее время в медицинской практике лечения ОРВИ эффективно используются препараты IFN в виде растворов для инъекций, мазей, гелей, суппозиториев, капель в нос. Препараты IFN α , сочетающие в себе свойства ингибитора вирусной продукции и повышения иммунной защиты организма успешно применяются как при сезонном гриппе, так и при пандемическом гриппе А [48]. Под действием IFN повышается эффективность иммунного распознавания антигена, усиливаются фагоцитарная и цитолитическая функции, направленные на элиминацию возбудителя или антигенно измененных клеток, а также коррекция других вторичных иммунодефицитов, развивающихся вследствие патологического процесса. Был выявлен дефицит активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, сниженный при гриппе в 6,7 раз и 4,8 раз; при аденовирусной инфекции в 11,1 раз и 6,5 раз; при острой

коронавирусной инфекции в 20 раз и 7,3 раз; в постковидном периоде в 5,5 раз и 5,7 раз; соответственно ($p < 0,05$), по сравнению с показателями физиологической нормы.

Выявленные нарушения при респираторных вирусных инфекциях в виде угнетения активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, показывают необходимость применения иммунокорригирующей терапии. В таблице 3.9 отражен уровень снижения провоспалительных цитокинов у пациентов с гриппом А H3N2, гриппом А H1N1, гриппом А H1N1, осложненным пневмонией, в процессе получения терапии препаратом ингавирином.

Таблица 3.9 – Цитокины в сыворотке крови (пг/мл) методом ИФА у пациентов с гриппом (H2N3, H1N1), получавших терапию Ингавирином

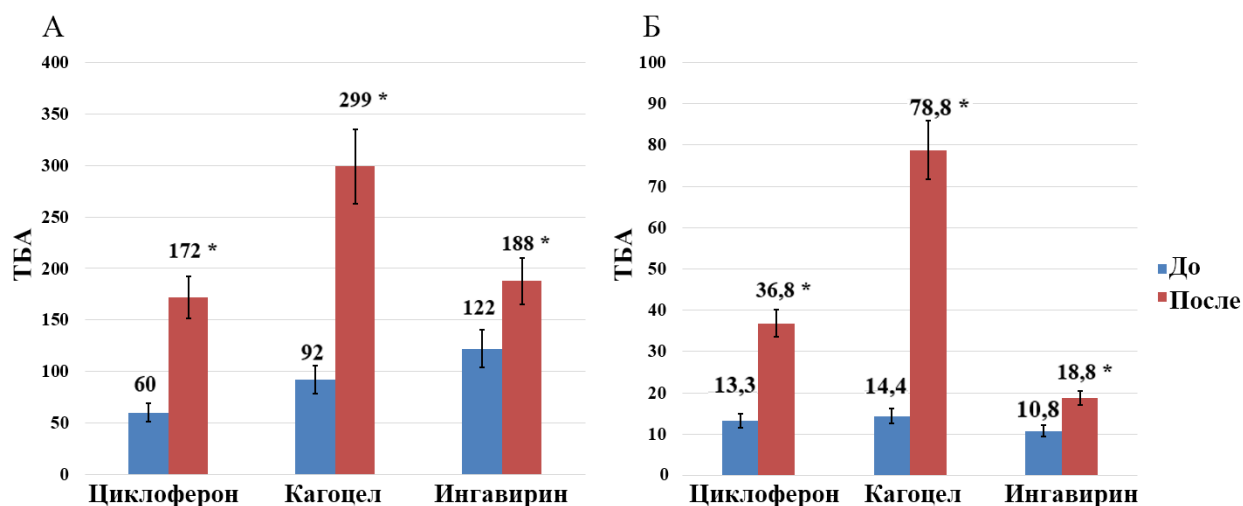
Грипп	IFN α	IFN γ	TNF α	IL1 β	IL6	IL8	IL17	IL4
H3N2 до	26,0 \pm 6,9	10,8 \pm 1,9	1,0 \pm 0,2	2,5 \pm 0,6	39,6 \pm 14,1	22,1 \pm 1,8	1,4 \pm 0,7	0,2 \pm 0,1
H3N2 после	7,8\pm3,7 *	3,7\pm1,3 *	1,4 \pm 0,6	1,5\pm0,4 *	6,2\pm2,2 *	20,7 \pm 3,4	1,6 \pm 0,6	0,1\pm0,0 *
H1N1 до	6,5 \pm 2,2	4,1 \pm 1,6	3,2 \pm 0,4	1,5 \pm 0,5	15,3 \pm 6,1	5,4 \pm 1,4	0,4 \pm 0,4	0,3 \pm 0,3
H1N1 после	1,2\pm0,7 *	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,3	0,6 \pm 0,2	7,1 \pm 5,0	9,5 \pm 4,0	0,2 \pm 0,2	0,4 \pm 0,4
H1N1+ пневмония до	7,8 \pm 3,0	26,3 \pm 10	0,3 \pm 0,2	1,1 \pm 0,4	21,1 \pm 3,9	3,4 \pm 1,7	0,3 \pm 0,2	0
H1N1+ пневмония после	5,7 \pm 3,2	0,8\pm0,4 *	10,8 \pm 10,8	1,2 \pm 0,4	2,6\pm0,6 *	27,7 \pm 16	12 \pm 11,9	1,0 \pm 0,9
Примечание: * $p < 0,05$ – статистически значимые отличия до и после лечения.								

Следует отметить выраженное влияние препарата ($p < 0,05$) на снижение в сыворотке крови белков цитокинов воспаления IFN α , IFN γ , IL6, IL1 β (Таблица 3.9). К тому же, отмечено иммуномодулирующее действие препарата, связанное с увеличением функциональной активности IFN [191, 192].

Полученные нами результаты исследования IFN статуса пациентов с гриппом, COVID-19 выявили разной степени выраженности снижение биологической активности IFN, при более тяжелых состояниях даже угнетение функциональной активности IFN II, особенно IFN I типа (Рисунки 3.5, 3.6, 3.7). В связи с угнетением физиологической биологической активности IFN при ОРВИ, вызванных вирусами гриппа и COVID-19, возникает необходимость усиления естественного противовирусного ответа с применением иммуноактивных препаратов (IFN, индукторы IFN, иммуномодуляторы) для увеличения противовирусного потенциала организма при помощи индукции биологической активности IFN ответа [135]. В качестве таких препаратов были применены в комплексной базисной терапии иммуномодулирующие

препараты, такие как циклоферон, кагоцел, ингавирин, бактериальные лиганды (Иммуновак-ВП4).

При гриппе были применены иммуноактивные препараты циклоферон, кагоцел, ингавирин [60, 168, 191, 192]. На Рисунке 3.8 отражено увеличение биологической активности IFN после лечения пациентов с гриппом иммуноактивными препаратами, способными усилить противовирусную защиту организма.



Примечание: * $p < 0,05$ - статистически значимые различия показателей после лечения с показателями до лечения

Рисунок 3.8 – Изменение показателей биологической активности (ТБА) IFN I типа (А) и IFN II типа (Б) при лечении сезонного гриппа H3N2 препаратами Циклоферон, Кагоцел, Ингавирин

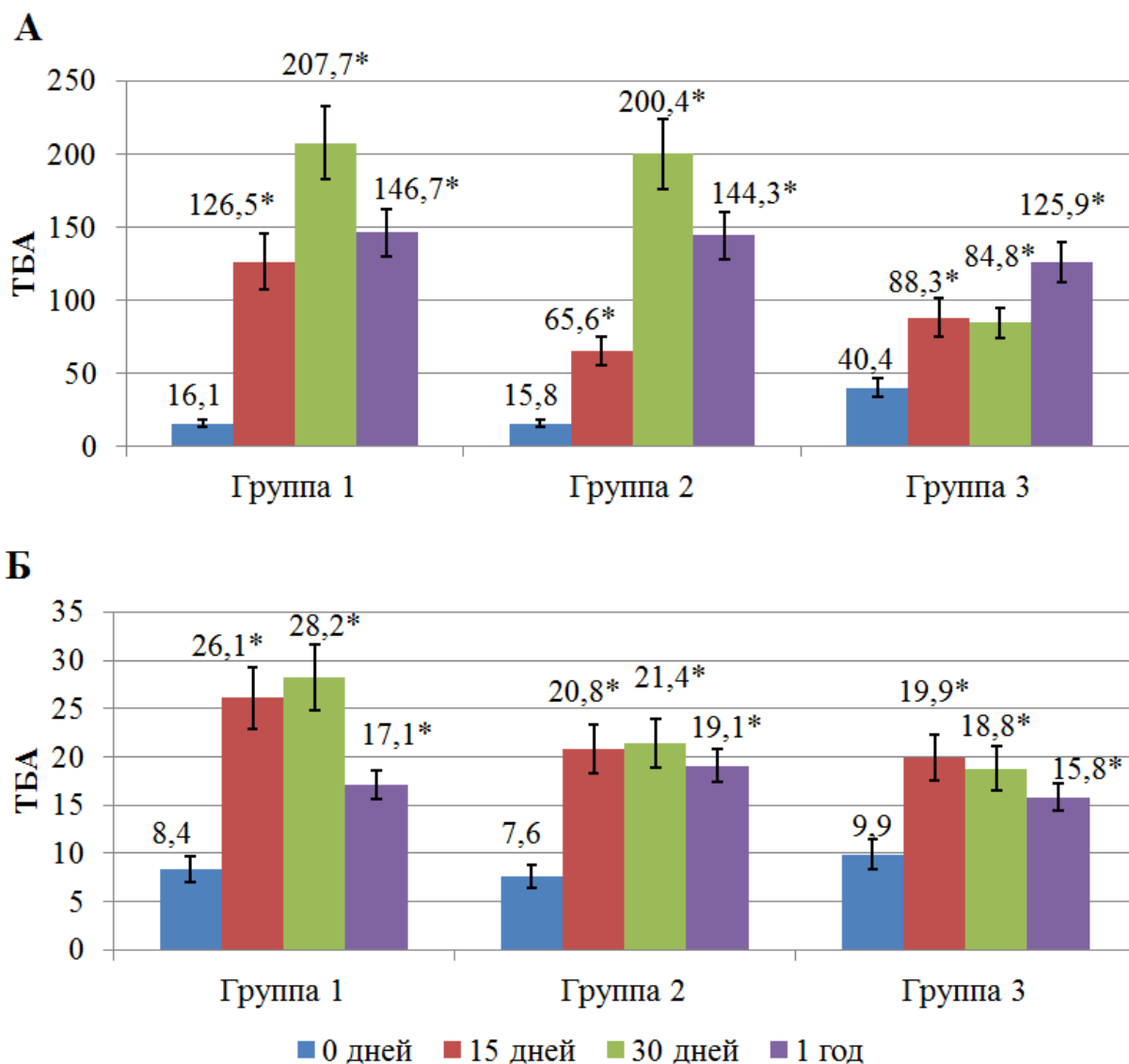
Индукторы IFN циклоферон и кагоцел применили в сравнительном плацебо-контролируемом исследовании при гриппе А H3N2, согласно схемам, изложенным в главе 2. По окончании лечения произошла нормализация показателей IFN статуса в большей степени у больных, получавших испытываемые препараты. Так, противовирусная активность IFN α восстановилась у 25 (90% \pm 5.8%) больных, получавших кагоцел, у 24 (80% \pm 7,4%) – циклоферон ($p < 0,05$). Показатели IFN γ нормализовались у 24 (85% \pm 6,9%), 12 (60% \pm 9,1%), соответственно ($p < 0,05$). Показатели IFN в сыворотке крови нормализовались у 18 (65% \pm 9,2%), 29 (97% \pm 3,2%), соответственно ($p < 0,05$) [88]. Применение препарата ингавирин также показало нормализацию показателей IFN статуса ($p < 0,05$). Повышение биологической активности IFN I и II типов сочеталось со снижением биологической активности IFN в сыворотке крови и снижением белков IFN α и IFN γ .

Таким образом, при лечении индукторами IFN кагоцелом и циклофероном отмечено благоприятное влияние препаратов на течение неосложнённого гриппа. Это выражалось в более быстром снижении температуры, исчезновении симптомов интоксикации и катаральных

явлений у больных, принимавших кагоцел и циклоферон. По клинической эффективности кагоцел и циклоферон существенно не отличались. Вызванная вирусом гриппа иммунодепрессия корригировалась кагоцелом и циклофероном. Полученные результаты клинической эффективности подтверждались положительной динамикой показателей IFN статуса. Кагоцел и циклоферон способны восстанавливать сниженную индуцированную биологическую активность IFN I и II типов. При лечении кагоцелом отмечено повышение содержания IFN в сыворотке крови через 24 часа, и именно в это время отмечалось улучшение самочувствия у большинства больных в этой группе. К окончанию курса лечения кагоцелом и циклофероном показатели IFN в сыворотке крови нормализовались, что также является критерием выздоровления. Существенных различий в воздействии кагоцела и циклоферона на состояние системы IFN не отмечалось [88]. Те же тенденции можно отметить и в отношении препарата ингавирин.

При COVID-19 в остром периоде заболевания были апробированы и применены 2 схемы лечения с назальным использованием в комплексной базисной терапии поликомпонентной вакцины Иммуновак-ВП-4: интраназально-подкожное введение ВП-4 (группа 1, n=30); интраназально-пероральный прием ВП-4 (группа 2, n=30). Группой контроля служили пациенты, также поступившие на лечение в стационар и получавшие только базисную терапию (группа контроля 3, n=50). К тому же, в группе постковидных добровольцев, n=47, через 1-9 мес. после заболевания COVID-19, для профилактики использовали ВП-4 в виде удобной комбинированной назально-оральной схемы применения [15, 96].

На представленных ниже Рисунках – наглядное отражение изменения биологической активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, на этапах лечения (Рисунок 3.9) или профилактики (Рисунок 3.10) в исследуемых группах. Следует отметить исходно низкие значения показателей биологической активности в исследуемых группах, особенно в группах с острой инфекцией (Рисунок 3.9 - группы 1,2,3).

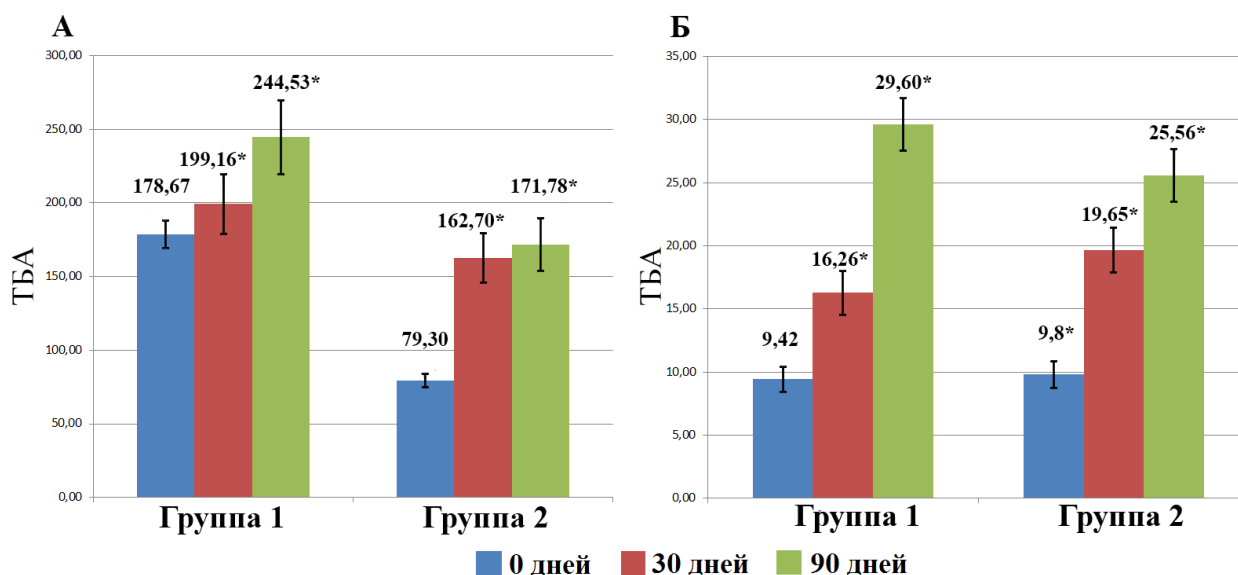


Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с исходными показателями до лечения

Рисунок 3.9 – Изменение показателей противовирусной активности IFN I типа (А) и IFN II типа (Б) в процессе лечения пациентов в острой фазе COVID-19 (группы 1,2,3)

Мониторинг показателей биологической активности IFN I и IFN II типа в процессе лечения показал значительное увеличение ($p < 0,05$) IFN в группах (1 и 2) с добавлением в базисную терапию вакцины Иммуновак-ВП-4 сразу после проведенного курса лечения (15 дней) и дальнейшее увеличение уровней IFN через месяц после заболевания (30 дней) в сравнении с группой контроля (3), пациенты которой получали только базисную терапию (Рисунок 3.9). Следует отметить и неплохой отдаленный эффект по истечении 12 мес. после начала заболевания (1 год). Полученные данные по увеличению функциональной биологической активности IFN сочетались с улучшением других лабораторных характеристик, а также с клинической эффективностью.

В группе реабилитации (добровольцы. n=47), биоматериал которых исследовали через 1-9 мес. после заболевания COVID-19, для профилактики использовали ВП-4 в виде удобной комбинированной назально-оральной схемы применения (Рисунок 3.10).



Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с показателями до лечения

Рисунок 3.10 – Изменение показателей биологической активности IFN I типа (А) и IFN II типа (Б) в процессе профилактики добровольцев в период реабилитации после COVID-19

На Рисунке 3.10 отмечены показатели биологической активности IFN в двух сопоставимых группах реабилитации 1 и 2 после перенесенного ранее COVID-19 добровольцами. В этих группах можно отметить сходство по длительности от начала инфекционного процесса и тяжести течения заболевания. В группе 1, добровольцы которой принимали профилактически комплекс бактериальных лигандов Иммуновак-ВП-4, длительность периода от начала заболевания составила в среднем 6 мес. у 83% обследуемых, в группе 2, где переболевшие медицинские сотрудники не принимали ВП-4, сроки от начала заболевания - от 1-го до 6 мес. у 95% обследуемых, причем, заболевание легкой степени тяжести перенесли 75% и 70% добровольцев, соответственно. В ходе профилактического приема выявлено не только улучшение лабораторных показателей, но и клиническая эффективность препарата ВП-4, которая сопровождалась снижением количества ОРВИ у добровольцев группы 1, по сравнению с группой 2 [15, 96].

Таким образом, изучена оценка противовирусной защиты организма против нового коронавируса SARS-CoV-2 при применении иммуотропного препарата бактериальных лигандов - поликомпонентной вакцины Иммуновак-ВП-4. Было показано, что разные схемы применения ВП-4 приводят к положительным лечебно-профилактическим эффектам, связанным с иммуоактивными свойствами бактериальных лигандов. Оценена перспективность

противовирусной защиты организма против COVID-19 препаратом ВП-4 с индукцией биологической активности IFN I и II типов. Следует отметить иммунологическую целесообразность и клиническую перспективность использования препарата из бактериальных лигандов (вакцина Иммуовак-ВП-4) в комплексном лечении и профилактике новой коронавирусной инфекции COVID-19.

Показано, что усилить естественный противовирусный ответ возможно применением препарата Иммуовак-ВП-4 для увеличения индукции IFN ответа [135]. В целом, влияние Иммуовак-ВП-4 на коррекцию параметров показателей врожденного и адаптивного иммунитета приводит к улучшению клинической картины заболевания [15]. Показано, что индуцированный иммунитет слизистых, после интраназального применения ВП-4, важен в предотвращении респираторных инфекций, особенно в постковидном периоде.

Ряд исследователей отмечает, что у лиц с умеренно выраженными симптомами COVID-19 при применении IFN β [481], IFN α -2b или сочетания IFN с арбидолом происходили индукция образования IFN и активация фагоцитов [409]. При комплексной терапии с включением IFN определялось существенное снижение уровней С-реактивного белка, IL6. Рост продукции последнего при новой коронавирусной инфекции иногда ассоциируют с развитием острого респираторного дистресс-синдрома, поэтому возможно применение IFN α -2b наряду с блокированием IL6 моноклональными антителами. Ограничение воспалительной реакции в лёгочной ткани у пациентов с COVID-19 предотвращает полиорганную патологию [280, 409].

Во многом благодаря тому, что IFN занимают ведущее место среди медиаторов противовирусного иммунитета [419, 671], терапевтические средства на их основе имеют преимущество перед другими противовирусными препаратами, обладая биологической активностью в отношении практически всех вирусов и запуская в клетках программу синтеза антивирусных белков. В дополнение к этому на уровне организма IFN вызывает стимуляцию процессов врождённого и адаптивного противовирусного иммунитета, формируя единую защитную реакцию против вирусных агентов. Выраженность естественного противовирусного ответа может быть усилена применением иммуномодулирующих препаратов (иммуномодуляторы, индукторы IFN) для увеличения индукции IFN-опосредованного ответа [508].

Основываясь на данных настоящего исследования, можно заключить, что SARS-CoV-2 обладает способностью не только снижать абсолютное количество IFN I и II типов в сыворотке крови, как это описано ранее [214, 262, 399, 646], или индуцировать высокие уровни IFN I при тяжёлых формах инфекции без снижения вирусной нагрузки [653], но и вызывать снижение функционального состояния IFN в виде резкого угнетения её биологической активности (Рисунок 3.7). Последнее относится к IFN как I (α/β), так и II типа (γ), ответственному за

клеточный иммунитет; его супрессия оказывается столь же выраженной, как и IFN I. Указанный факт свидетельствует о том, что рассматриваемый инфекционный агент поражает все уровни интерфероногенеза, а не только IFN I и III типов с их преимущественным противовирусным действием.

Снижение абсолютного количества IFN I (α и β), III типов (λ) на ранней стадии COVID-19 отмечено во многих работах [214, 262, 399, 646]. При тяжёлых формах могут определяться высокие уровни этих белков, однако снижения вирусной нагрузки в подобных случаях не наблюдается [653]. Гораздо менее изучено изменение содержания IFN II типа (γ), отвечающего за клеточный иммунитет [62]. В большинстве исследований определялось абсолютное содержание IFN разных типов в сыворотке крови [214, 262, 399, 646]. Однако указанный параметр не всегда отражает уровень противовирусной защиты [49]. В связи с этим сохраняется актуальность комплексного изучения системы IFN и биологической активности IFN в смоделированной *in vitro* системе клетка–вирус. Эти сведения необходимы в первую очередь для оценки противовирусного потенциала макроорганизма [49].

В качестве основного фактора иммунопатогенеза COVID-19 в публикациях разных исследователей рассматривается дисбаланс иммунного ответа по отношению к возбудителю с недостаточным синтезом IFN в начальном периоде заболевания и с последующей гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, служащей причиной чрезмерно интенсивного (гиперергического) воспаления в лёгочной ткани, поражения лёгких и острого респираторного дистресс-синдрома [214, 262, 399]. В работе I.E. Galani и соавт. [646] сформулирована так называемая центральная парадигма иммунитета: при вирусных инфекциях провоспалительным реакциям обычно предшествуют IFN-опосредованные противовоспалительные процессы. Последние тем самым оптимизируют защиту макроорганизма и уменьшают побочные действия, развивающиеся вследствие инфицирования. Однако, как сообщают исследователи [646], в отношении COVID-19 эта парадигма применима не полностью. Ими показано, что у пациентов с COVID-19 средней и тяжёлой степени продукция IFN I (α и β) и III типов (λ) уменьшалась, а образование провоспалительных цитокинов, таких как TNF, IL6 и IL8, напротив, опережало по времени синтез IFN, персистируя на протяжении длительного периода. Более того, у ряда лиц содержание провоспалительных агентов стремительно возрастало, что приводило к явлениям цитокинового шторма. Эти данные согласуются с полученными нами результатами (Таблица В.1, Рисунок 3.7), предполагая персистенцию вируса в постковидном периоде.

Таким образом, выявлены нарушения системы IFN различной степени выраженности при гриппе и COVID-19. Изученные особенности экспрессии генов IFN показали важность их изучения в клетках слизистых и клетках крови. Показано отсутствие экспрессии генов IFN β и IFN γ в клетках крови. При гриппе и острой стадии COVID-19 выявлено увеличение

концентраций белков IFN, провоспалительных цитокинов и других маркеров воспаления, вплоть до цитокинового шторма; дефицит активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови; снижение удельной активности по сравнению с показателями здоровых добровольцев ($p < 0,05$) [125] (по IFN α в 26,6 раз (6,4 и 170,3), IFN β в 5,6 раз (1,2 и 6,7), IFN γ в 15 раз (1,7 и 25,6), соответственно). Введение иммуноактивных препаратов при респираторных вирусных инфекциях (грипп, COVID-19) приводит к положительному клиническому эффекту, связанному с их противовирусными, противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами. Следует отметить иммунологическую целесообразность и клиническую перспективность использования иммунокорректирующих препаратов (индукторы IFN, иммуномодуляторы, бактериальные лиганды) в комплексном лечении и профилактике гриппа и новой коронавирусной инфекции COVID-19. Лекарственные препараты на основе рекомбинантных IFN α , IFN β , IFN γ , IFN λ , как известно, являются мощными средствами патогенетической иммуноориентированной терапии, обладают как прямым замещающим, так и различными индуктивными действиями, что дает основание для широкого применения их в лечении инфекционных, онкологических и других заболеваний человека.

3.3 Индукция и развитие осложнений аллергических заболеваний при респираторных вирусных инфекциях

Респираторные вирусы проникают в клетки эпителия слизистых дыхательных путей и затем реплицируются в других органах и тканях. Частые ОРВИ свидетельствуют о нарушениях врожденного и специфического иммунитета. Высокие частоты смешанных ОРВИ у пациентов с БА могут свидетельствовать об иммунодефицитах [294]. Респираторные вирусы могут вызывать хроническое воспаление, множественные нарушения врожденного иммунитета и обострения хронических заболеваний [18, 213, 432, 544, 653]. Дисбаланс цитокинов может вызывать аллергические и аутоиммунные заболевания [455].

Для выяснения связи между респираторными вирусными инфекциями и обострениями АЗ проведено исследование клинических материалов из респираторного тракта (мазки со слизистой носоглотки и мокроты), а также сыворотки крови от 19 пациентов с диагнозом «бронхиальная астма (БА)» [83, 150, 545]. У большинства пациентов (68%) обострения БА начались в течение 1-ой недели от начала заболевания острой респираторной инфекцией. У остальных пациентов (32%) тяжесть обострений БА нарастала постепенно на фоне замедленной элиминации респираторной инфекции. Хотя они поступили в стационар через 2-4 недели от появления симптомов респираторной инфекции, у них сохранялись симптомы ринита и фарингита [83].

Для детекции и идентификации респираторных вирусов проводили ОТ-ПЦР-РВ для нуклеиновых кислот, выделенных из респираторного тракта пациентов, и ИФА. У 5 пациентов была выявлена ДНК аденовирусов, у 2 – РНК вируса гриппа А (Таблица 3.10).

Таблица 3.10 – Результаты ОТ-ПЦР-РВ и ИФА для определения респираторных вирусных и бактериальных инфекций у больных БА

Возбудители респираторных инфекций	Частота детекции у больных БА (%±m%) (ОТ-ПЦР-РВ)	IgG к респираторным вирусам (%±m%) (ИФА)
Аденовирус	26,3±10,4	15,7±8,6
Вирус гриппа А	10,5±7,2	26,3±10,4
Вирус гриппа В	0	15,7±8,6
Респираторно-синтициальный вирус	0	10,5±7,2
Вирус парагриппа типа 1	0	15,7±8,6
Вирус парагриппа типа 3	0	15,7±8,6

При исследовании парных сывороток методом ИФА у 73,7±10,3% выявили IgG на вирусы гриппа А и В, РС-вирус, аденовирусы, вирусы парагриппа типа 1 и типа 3, в том числе у 1 пациента высокий уровень IgM к РС-вирусу (5,2±5,2%) (Таблица 3.10). У обследованных пациентов с обострением БА при исследовании парных сывороток выявили антигены *Mycoplasma pneumoniae* (78,9±9,6%) со средними геометрическими титрами 1:8 при следовых значениях антител у некоторых пациентов; выявили антитела против *Chlamydia pneumoniae* (21,1±9,6%). В совокупности внутриклеточные вирусные и микоплазменная инфекции подтверждены у (89,5±7,2%) пациентов в обострении БА [83].

Наличие вирусной инфекции, связанной во времени с обострением БА, по данным ИФА и ОТ-ПЦР-РВ подтверждено у (73,7±10,3%) пациентов: инфицирование гриппом А выявлено у (26,3±10,4%) пациентов, аденовирусом – у (31,6±10,9%) пациентов; РС- вирусом, вирусом гриппа В, вирусом парагриппа 1 типа и вирусом парагриппа 3 типа было инфицировано по 3 человека. При повторном исследовании мазков из носа и глотки через 2 недели у 3-х пациентов выделили те же вирусы, что и в первый раз: в двух случаях - аденовирус, в одном случае – вирус гриппа А, что свидетельствовало о затяжном течении вирусной инфекции [83].

Подавляющее большинство обострений атопической БА ассоциировано с сочетанными инфекциями (78,9±9,6%); вирус-микоплазменными – 63,2±11,4%; вирус-вирусными – 36,8±11,4% (Рисунок 3.11) [83].

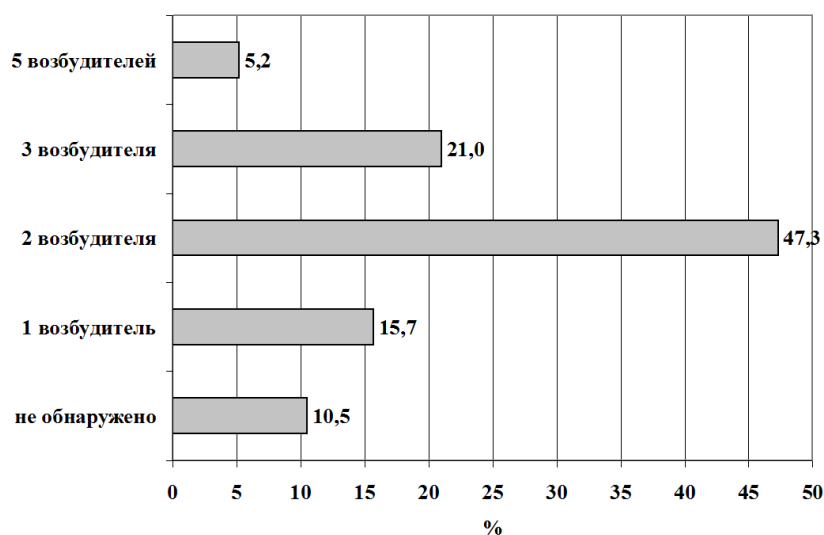


Рисунок 3.11 – Сочетание острых респираторных инфекций при обострениях БА

Проведен анализ связи между наличием респираторных инфекций и тяжестью обострений БА. При тяжелых обострениях БА две и более острых респираторных инфекции зарегистрированы у 7 из 8 пациентов ($87,5 \pm 12,5\%$), при обострениях средней степени тяжести – у 7 из 11 пациентов ($63,6 \pm 15,2\%$). Как правило, отмечали вирус-вирусные или вирус-микоплазменные ассоциации. При тяжелых обострениях чаще сочетались парагриппозная или РС-вирусная инфекция с аденовирусной и микоплазменной. В сыворотках 4-х пациентов (21,1%), причем, у 3-х с тяжелыми обострениями, исследуя парные сыворотки методом непрямой микроиммунофлуоресценции, выявили антитела против антигенов *S. pneumoniae* класса IgG с титрами в диапазоне 1:128 – 1:256 и класса IgA с титрами 1:8 – 1:16 при отсутствии IgM. Для исключения перекрестных серологических реакций с другими видами близкородственных хламидий определяли антитела против *S. trachomatis* (серотип L2). Методом ИФА антитела против *S. trachomatis* (серотип L2) не обнаружены [83].

Таким образом, по данным ИФА в сыворотке крови и ОТ-ПЦР-РВ в материалах из респираторного тракта у (73,7%) пациентов в обострении БА подтверждены вирусные инфекции. Преобладали вирусы гриппа А и аденовирусы. У (78,9%) пациентов в исследованных парных сыворотках выявлен антиген *M. pneumoniae* в титре 1:8 при наличии следовых количеств антител у некоторых пациентов, что позволяет предполагать наличие у них острой микоплазменной инфекции. В общей сложности, респираторные инфекции, включая вирусные и микоплазменные, выявлены у (89,5%) пациентов, подавляющее большинство обострений атопической формы БА ассоциировано со смешанными инфекциями (78,9%). При тяжелых обострениях чаще сочетались парагриппозная или РС-вирусная инфекция с аденовирусной и микоплазменной. Была отмечена положительная корреляция между инфицированием *S. pneumoniae* и наличием тяжелого обострения БА ($r = 0,34$) [18, 28, 83, 123].

Также для анализа наличия респираторных вирусных инфекций в период ремиссии бронхиальной астмы проведено исследование клинических материалов из респираторного тракта, сыворотки крови от 28 больных в состоянии ремиссии с диагнозом «БА-ХОБЛ» (Таблица 3.11).

Таблица 3.11 – Детекция РНК или ДНК респираторных вирусов в образцах индуцированных мокрот больных БА-ХОБЛ методом ОТ-ПЦР-РВ

Вирус	Частота детекции у больных БА-ХОБЛ (%±m%)	Пороговые циклы флуоресценции (threshold cycles (Ct)) (вирусные нагрузки)
Риновирусы	28,6±8,7	15,86-36,1 ($10^3 - 10^9$ копий в 1 мл мокроты)
Респираторно-синтициальный вирус	3,6±3,6	45 (10^2 копий в 1 мл мокроты)
Аденовирусы групп В, С и Е	3,6±3,6	30 (10^5 копий в 1 мл мокроты)
Вирусы парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов	0	-
Коронавирусы видов OC43, E229, NL63, HKUI	0	-
Метапневмовирус	0	-
Бокавирус	0	-

В 28,6±8,7% образцах индуцированной мокроты пациентов выявили риновирусы, которые могут приводить к осложнениям БА [124, 423, 514]. Известно, что пациенты с БА более восприимчивы к риновирусной инфекции из-за повышенной экспрессии гена белка межклеточной адгезии (intercellular adhesion molecule (ICAM-1)), который является рецептором риновируса А [339]. Помимо этого, вирусы гриппа А и В, парагриппа и аденовирусы также могут способствовать развитию и обострению БА [199, 223]. Единичные геном-эквиваленты РС-вируса в реакционной смеси были детектированы только у 1 из 28 (3,6±3,6%) обследованных пациентов в форме смешанной инфекции с риновирусом и микоплазмами, что приводило к тяжелой форме заболевания БА-ХОБЛ. Аденовирусы (10^5 копий в 1 мл мокроты) в форме моноинфекции также детектирован у 1 из 28 пациентов (3,6±3,6%) со средней формой заболевания. Показано, что РС-вирус и аденовирус оказывают наибольшее сенсibiliзирующее действие, вызывая длительный и стойкий реактивный ответ. Другие возбудители ОРВИ (вирусы парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, коронавирусы видов OC43, E229, NL63, HKUI, метапневмовирус, бокавирус) в мокротах не обнаружены.

Помимо респираторных вирусов в крови больных БА в ремиссии выявлены антигены *M. pneumoniae* в 20 из 28 образцов (71,4±8,7%) с детекцией специфичных антител класса IgG в 4-х

сыворотках крови ($14,3 \pm 6,7\%$). Статистически значимые ($p < 0,001$) отличия частот детекции антигенов микоплазм и антител к ним позволяют предположить персистенцию микоплазм в отсутствии специфических иммуноглобулинов. Антитела к *S. pneumonia* обнаружены у 5 из 28 ($17,9 \pm 7,4\%$) пациентов, что соответствовало низким частотам детекции антител к микоплазмам. Следует отметить, что у ($28,6\% \pm 8,7\%$) обнаружены смешанные инфекции: вирус-микоплазменная, вирус-микоплазменно-хламидийная. Повышенные частоты детекции возбудителей ОРВИ и, особенно, риновирусов, в мокроте больных с фенотипом «БА-ХОБЛ» и высокие частоты заболеваемости респираторными заболеваниями, могут быть обусловлены как нарушениями в системе врожденного иммунитета (интерферондефицит), так и отсутствием специфических антител. В анамнезе пациентов при сочетанной патологии БА-ХОБЛ респираторные заболевания были более частыми, составляя, в среднем, 3-4 раза в год, в то время как при ХОБЛ - 2-3 раза/год, при БА - 2 раза/год. Следует отметить наличие персистирующей герпес-вирусной инфекции 1-2 типа в анамнезе у 61,1% больных.

Известно, что бактериальная и вирусная колонизация слизистых оболочек, связанная с воспалением в дыхательных путях, может вносить вклад в патогенез и прогрессирование обструктивных воспалительных заболеваний, являясь индукторами воспалительного процесса и способствуя переключению иммунитета с Th1- на Th2-хелперный ответ [546, 550, 577].

В результате изучения микробиологических особенностей биообразцов пациентов БА-ХОБЛ, был выделен спектр следующих микроорганизмов: *Staphylococcus* (*S.aureus*, *S.epidermidis*), *Neisseria subflavia*, *Streptococcus* (α -гемолитический, β -гемолитический), *Streptococcus pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Branhamella catarrhais*, *Enterococcus*, *Haemophilus influenza*, *Candida albicans*, *Aspergillus* spp., *Actinomyces* spp., *Clodosporium*, *Penicilium*, и др. [91].

Из носовой полости пациентов БА-ХОБЛ выявлено 15 видов микроорганизмов, из которых наиболее значимые: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Neisseria subflavia*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterococcus* spp. Из ротоглотки БА-ХОБЛ высеяно 18 видов: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Aspergillus* spp., *Streptococcus* spp. (α -гемолитический, β -гемолитический), *Streptococcus mutans*, *Neisseria subflavia*, *Candida albicans*, и др. Из мокроты высеяно 19 видов: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* spp, (α -гемолитический, β -гемолитический), *Streptococcus mutans*, *Neisseria subflavia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenza*, *Candida* spp. и др. При развитии патологического состояния, как, например, бронхообструкция, происходит нарушение состояния гомеостаза в виде преобладания бактериальной или грибковой микрофлоры от значений нормы, или выявление их присутствия при отсутствии в норме. В целом, более

выраженное количественное содержание и более разнообразный микробный пейзаж приводит к более тяжелому течению заболевания при сочетании БА и ХОБЛ [91, 92, 198].

Показано, что респираторные вирусы являются индукторами обострений БА, приводят к утяжелению бронхообструктивных процессов у человека.

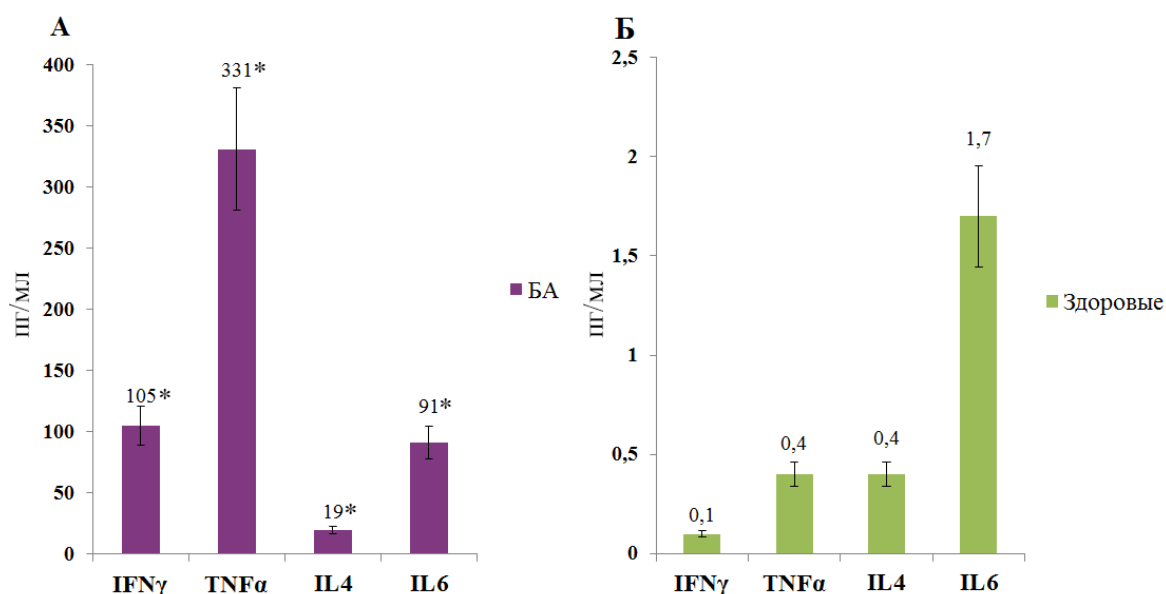
3.4 Исследование системы интерферонов при аллергических заболеваниях

3.4.1 Особенности системы интерферонов при аллергических заболеваниях дыхательной системы (бронхиальная астма)

К иммунозависимым заболеваниям относят все аллергические заболевания (АЗ), обусловленные Th2 поляризацией врожденного иммунитета и продукцией иммуноглобулинов класса IgE (глава 1.2.2). Известно, что Th2 клетки ответственны за развитие иммунного ответа гуморального типа и повышенную продукцию IL4, IL10, IL13 при всех АЗ [424, 466]. Выше показана связь между вирусными инфекциями и аллергопатологиями (глава 3.3 Таблица 3.10, 3.11); вирусные инфекции могут вызывать развитие БА и приводить к обострениям хронического заболевания.

В экспериментальной работе с кровью больных БА в ремиссии был показан сниженный уровень экспрессии генов системы IFN, а также генов апоптоза. Так, у половины больных выявлены дефекты активности генов IFN α , дсРНК-зависимой протеинкиназы. Также при БА обнаружен Fas дефицит у 7 из 9 (78%) больных, в то время как у здоровых добровольцев показано его наличие. Как известно, Fas дефицит в организме человека предрасполагает к системным АИЗ [613]. Интересным фактом оказалось одновременное выявление дефектов как экспрессии генов системы IFN, так и генов системы апоптоза у 2-х из 9 пациентов, которые сочетались с высокими уровнями индуцированной продукции IL8, IL4 и IL10 их клетками крови, снижением индуцированной продукции IFN α ; высокими титрами IgG *S. pneumoniae* (1/128), определением антигенов *M. pneumoniae* в диагностическом титре без образования антител, рецидивирующей герпетической инфекцией, респираторными заболеваниями 1-3 раза в год и, как итог, количеством обострений основного заболевания у этих пациентов 2-4 раза в год.

Методом ИФА в сыворотке крови пациентов с обострением БА были определены значительно повышенные ($p < 0,05$) концентрации основных провоспалительных цитокинов и IL4, как ключевого цитокина Th2-пути, ответственного за аллергизацию (Рисунок 3.12).



Примечание: * $p < 0,05$ – статистически значимые отличия всех представленных цитокинов в обострении БА (А) по сравнению с группой здоровых (Б)

Рисунок 3.12 – Концентрации цитокинов в сыворотке крови при БА в обострении

При обострении БА уровень белков IFN γ в сыворотке крови составил $100,8 \pm 23$ пг/мл, IL4 – $18,6 \pm 16,8$ пг/мл, общего IgE – 607 ± 173 кЕ/л, что статистически значимо ($p < 0,05$) превышало уровень общего IgE у пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания вне обострения (Таблица 3.12). Причём, при обострении БА повышенный уровень общего IgE отмечался у 18 ($94,7\% \pm 5,3\%$) пациентов, что было чаще встречаемости повышенного уровня общего IgE у пациентов вне обострения заболевания ($p < 0,05$). При обострениях БА выявлены повышенные концентрации IgE по сравнению с пациентами со среднетяжелым и тяжелым течением БА вне обострения ($p < 0,05$). Вместе с тем, отмечена более частая встречаемость повышенного уровня общего IgE ($94,7\% \pm 5,3\%$) по сравнению с больными вне обострения ($56,7\% \pm 6,1\%$) ($p < 0,05$) [83].

Таблица 3.12 – Повышенные уровни спонтанного, сывороточного IFN и общего IgE (количество случаев (абсолютное $\% \pm m\%$))

БА разной степени тяжести	Сывороточный IFN > 8 ТБА	Спонтанный IFN ≥ 2 ТБА	Общий IgE > 100 кЕ/л
БА, лёгкое течение, ремиссия, n=23, (1)	7($30,4\% \pm 9,8\%$)	6($26\% \pm 9,4\%$)	17($73,9\% \pm 2,2\%$)
БА, среднетяжелое течение, ремиссия, n=33, (2)	10($30,3\% \pm 8,1\%$)	7($21,2\% \pm 7,2\%$)	18($54,5\% \pm 8,8\%$)
БА, тяжелое течение, ремиссия, n=11, (3)	6($54,5\% \pm 15,7\%$)	6($54,5\% \pm 15,7\%$)*	3($27,2\% \pm 14,1\%$)*
БА, обострение, n=19, (4)	1($5,2\% \pm 5,2\%$)*^#	3($15,8\% \pm 8,6\%$)#	18($94,7\% \pm 5,3\%$)*^#
Всего	24($27,9\% \pm 4,8\%$)	22($25,5\% \pm 4,7\%$)	56($65,1\% \pm 5,2$)

Примечание: * - статистически значимые различия между группами 1-3, $p < 0,05$; ** - 1 и 4, $p < 0,02$; ^ - статистически значимые различия между группами 2 и 4, $p < 0,01$; # - статистически значимые различия между группами 3 и 4, $p < 0,05$.

В группах с разной тяжестью течения БА более высокий уровень общего IgE отмечен в группе больных с лёгким течением БА по сравнению с группой больных с тяжелым течением БА вне выраженного обострения и более частое наличие активного IFN у больных с тяжелым персистирующим течением БА по сравнению с группой больных со среднетяжелым течением заболевания ($p<0,05$) (Таблица 3.13).

Проведено сравнение биологической активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, для следующих групп больных БА: 1) лёгкое течение БА, ремиссия, 2) среднетяжелое течение БА, ремиссия, 3) тяжелое течение БА, ремиссия, 4) обострение БА (Рисунок 3.13) в сравнении со здоровыми добровольцами (значения физиологической нормы).

В группах больных БА, независимо от тяжести и фазы заболевания, отмечена сниженная биологическая активность IFN по сравнению с контрольной группой здоровых людей ($p<0,05$): дефицит 2-3 степени IFN α/β и IFN γ , при этом показатели активности IFN значимо не отличались между группами больных БА разной тяжести. Следует отметить более низкие показатели биологической активности IFN в фазе обострения заболевания по сравнению с больными вне обострения (Рисунок 3.13).

Таблица 3.13 – Результаты анализа крови, определения активности IFN и IgE у больных БА

Группа пациентов	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Эозинофилы (%)	Лимфоциты (%)	Моноциты (%)	Сыв. IFN ТБА	IFN α , ТБА	IFN γ , ТБА	IFN γ , пг/мл	Общий IgE, кЕ/л
БА, лёгкое течение, ремиссия, $n=23$ (1)	$5,93 \pm 0,42$	$2,4 \pm 0,67$	$35,1 \pm 4,8$	$6,6 \pm 0,94$	$8,86 \pm 1,42$	$126,1 \pm 21,3$	$14,34 \pm 1,58$	$143,4 \pm 59$	$572,7 \pm 153$
БА, среднетяжелое течение, ремиссия, $n=33$ (2)	$6,13 \pm 0,35$	$3,0 \pm 0,58$	$35,0 \pm 1,78$	$4,95 \pm 0,66$	$9,27 \pm 1,57$	$143,9 \pm 24,2$	$11,36 \pm 2,14$	$62,3 \pm 9,5$	$468,3 \pm 130$
БА, тяжелое персистирующее течение, $n=11$ (3)	$7,13 \pm 0,81$	$4,25 \pm 2,1$	$32,37 \pm 3,57$	$5,7 \pm 1,53$	$12,54 \pm 2,58$	$186,3 \pm 53,7$	$23,27 \pm 8,92$	$113,6 \pm 33,9$	$254,5 \pm 176,2^*$
БА, обострение, $n=19$ (4)	$12,6 \pm 1,1^{**\wedge\#}$	$1,25 \pm 0,14^*$	$25,9 \pm 1,68^{**\wedge}$	$7,0 \pm 0,95$	$4,73 \pm 0,7\#$	$121,5 \pm 19,5$	$10,7 \pm 1,77$	$100,8 \pm 23$	$607 \pm 173^{\wedge\#}$
Примечание: * $p<0,05$ - статистически значимые различия между группами 1-3; ** $p<0,05$ - статистически значимые различия между группами 1 и 4; \wedge $p<0,05$ - статистически значимые различия между группами 2 и 4; $\#$ $p<0,05$ - статистически значимые различия между группами 3 и 4									

В целом, при БА биологическая активность $IFN\alpha/\beta$ была снижена ($p<0,05$), в среднем, в 4-5 раз от нижней границы значения физиологической нормы, $IFN\gamma$ – в 5-6 раз ($p<0,05$). Следует отметить сильную корреляционную связь между ОФВ1 и активностью $IFN\alpha/\beta$ в биологическом тесте «IFN статус» ($r=0,97$).

При обострениях БА средние значения сывороточного IFN составили $4,73\pm 0,7$ ТБА, что было ниже этого же показателя пациентов с тяжелым персистирующим течением заболевания вне выраженного обострения [83]. Причём, повышенная активность IFN в сыворотке крови при обострениях БА была выявлена только у 1 из 19 пациентов (5,2%), что было реже встречаемости повышенного уровня сывороточного IFN у пациентов вне обострения ($p<0,05$). Выявлена более низкая биологическая активность $IFN\alpha/\beta$, продуцируемого лейкоцитами крови ($121,5\pm 19,5$ ТБА) и $IFN\gamma$ ($10,7\pm 1,77$) ТБА по сравнению с пациентами вне обострения. Биологическая активность спонтанного IFN в реакции *in vitro* при обострении БА выявлена у 3 из 19 пациентов ($15,7\%\pm 8,6\%$) (Таблица 3.12, 3.13).

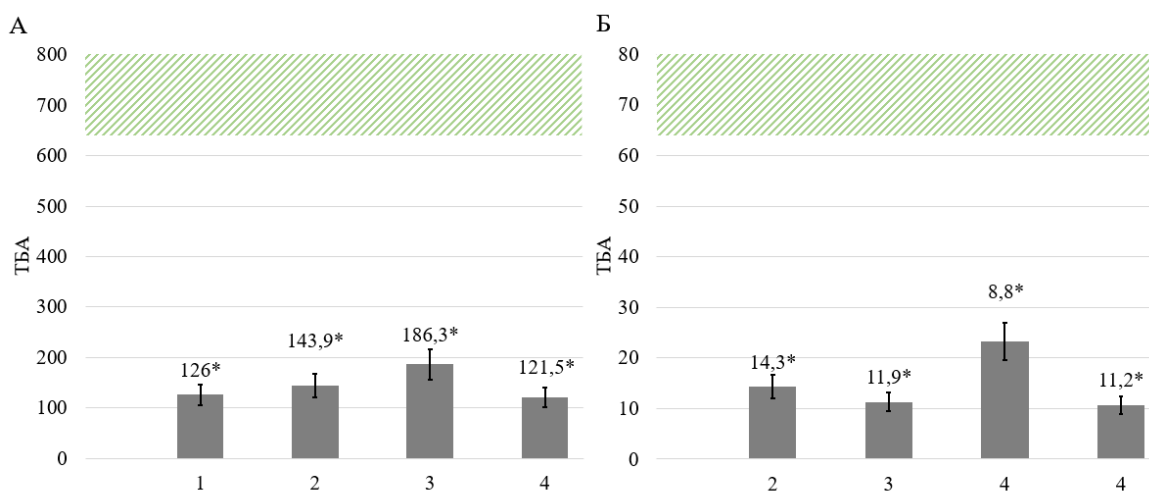


Рисунок 3.13 – Показатели биологической активности $IFN\alpha/\beta$ (А) и $IFN\gamma$ (Б), продуцируемых лейкоцитами крови, в норме и при БА различной степени тяжести. * $p<0,05$ – статистически значимые отличия по сравнению с физиологическими значениями (интервал зеленого цвета)

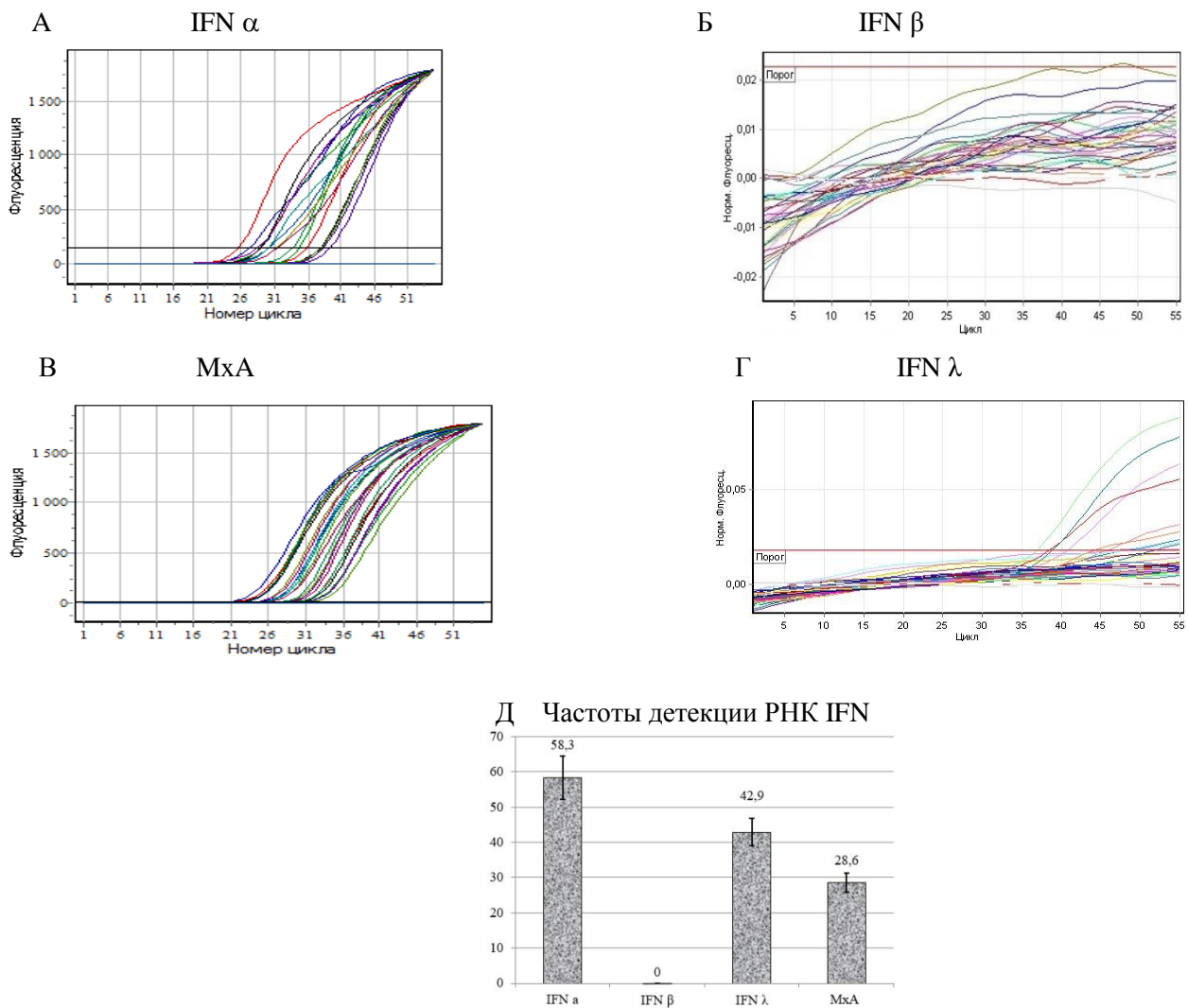
3.4.1.1 Изменения цитокинов при сочетанной аллергопатологии бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких

Вследствие общих молекулярных механизмов АЗ часто регистрируют сочетанные аллергопатологии [109, 528, 549]. В частности, БА диагностируют не только как самостоятельную нозологию, но и в сочетании БА-ХОБЛ. Оценка распространенности сочетанных проявлений БА-ХОБЛ в общей популяции в настоящее время варьирует от 1,8% [521] до 2,7% [295]. У 26 больных ХОБЛ была диагностирована через $13,3\pm 2$ лет после дебюта

БА, а в 23 случаях к предшествующей ХОБЛ через $4,5 \pm 2,6$ года присоединялась БА. В исследуемой группе больных БА-ХОБЛ по продолжительности преобладает изолированно протекавшая БА по сравнению с изолированно протекавшей ХОБЛ в 3 раза.

Проведен анализ системы IFN клинических материалов респираторного тракта и крови пациентов с атопической БА в ремиссии и при обострениях, а также БА-ХОБЛ в ремиссии (Рисунок 3.14) [127].

Определение экспрессии IFN проводили методом ОТ-ПЦР-РВ в образцах мокроты пациентов с фенотипом «БА-ХОБЛ» (Рисунок 3.14. А, Б, В, Г, Д). В 58,3% образцов детектировали РНК IFN α (10^3 - 10^6 копий РНК в 1 мл мокроты; Рисунок 3.14 А, Д) и в 42,9% - РНК IFN λ (10^6 - 10^9 молекул РНК в 1 мл мокроты; Рисунок 3.14 В, Д), но отсутствовала РНК IFN β (Рисунок 3.14. Б, Д).



Примечание: А – IFN α ; Б – IFN β ; В – IFN λ ; Г - MxA; Д - частоты детекции РНК IFN.

Рисунок 3.14 – Детекция РНК IFN и противовирусного белка MxA в образцах мокроты больных БА-ХОБЛ методом ОТ-ПЦР-РВ

Методом ИФА в 100% образцов индуцированной мокроты пациентов БА-ХОБЛ выявлены IFN γ (Таблица 3.14), у 41% \pm 7,9% больных выявлена продукция IFN α . В группе больных ХОБЛ и БА представлены повышенные концентрации IFN α [30(6;423)], [15(6;900)] и IFN γ [80(27;219)], [100(9;176)], соответственно. При увеличении концентрации IFN γ в мокроте наблюдается достоверное ($p < 0,05$) снижение ОФВ1 ($r = 0,97$). Регуляторный IL10 обнаружен в образцах мокроты 23,1% \pm 6,8% больных БА-ХОБЛ и более выражен при сочетанной патологии. Показана корреляция связи БА и выявления риновируса человека ($r = 0,4$) и респираторно-синтициального вируса ($r = 0,6$).

Таблица 3.14 – Концентрации цитокинов в образцах мокроты больных с бронхообструкцией: БА-ХОБЛ, БА, ХОБЛ

Цитокины	БА-ХОБЛ Медиана и мекквартильный размах 25%; 75% (пг/мл)	ХОБЛ Медиана и мекквартильный размах 25%; 75% (пг/мл)	БА Медиана и мекквартильный размах 25%; 75% (пг/мл)
IFN α	13(6;540)	30(6;423)	15(6;900)
IFN γ	105(12;207)	80(27;219)	100(9;176)
IL10	0(0;104)	0(0;39)	0(0;18)

В сыворотке крови пациентов с бронхообструктивными заболеваниями концентрации IFN α и IFN γ имели сходные значения с группой здорового контроля (Таблица 3.15), за исключением повышенных значений в единичных случаях.

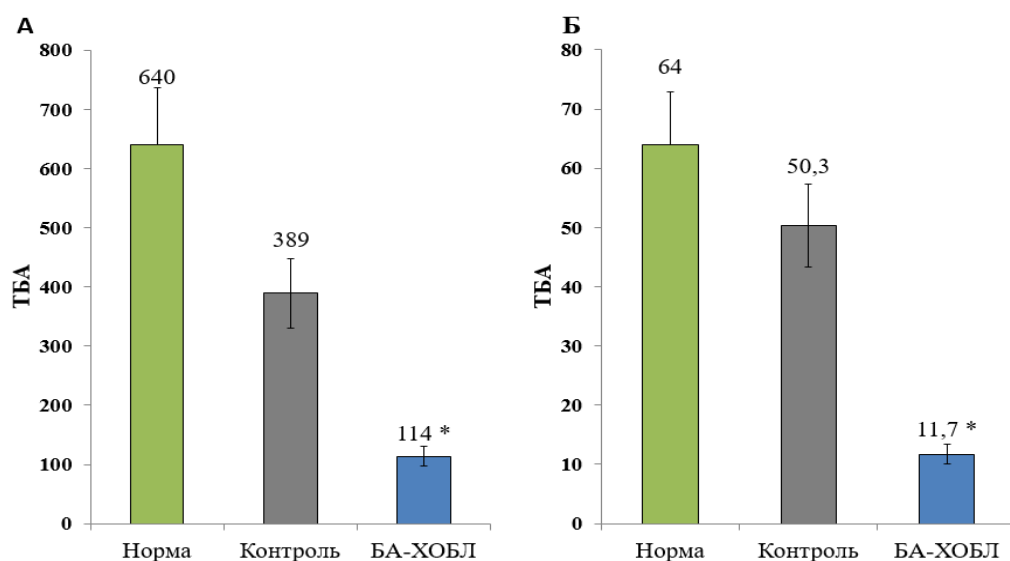
Таблица 3.15 – Концентрации цитокинов в сыворотке крови больных БА-ХОБЛ, БА, ХОБЛ

Цитокины	БА-ХОБЛ Медиана и мекквартильный размах 25%; 75% (пг/мл)	ХОБЛ Медиана и мекквартильный размах 25%; 75% (пг/мл)	БА Медиана и мекквартильный размах 25%; 75% (пг/мл)	Условно здоровые добровольцы
IFN α	0,6(0;159)	1,5(0;22)	0	0(0;0,24)
IFN γ	0,63(0;20)	0,9(0;14)	0(0;6,8)	0
IL10	0,3(0;35)	0	0(0;8,5)	8,2 (4,9;9,2)
IL8	40,5(3;311)	38(7;230)	4,8(2,3;67)	10,3 (5,9;15,4)
TGF β	8786(1975;4816 0)	11340(4227;44700)	6080(3760;31500)	12940(10140;31740)

Полученные результаты при различных формах обструктивной патологии показывают: в сыворотке крови отмечены высокие концентрации IL8, указывающие на системный нейтрофильный характер воспаления у больных с ХОБЛ и БА-ХОБЛ. Следует отметить, что количество TGF β , ответственного за индукцию клеток Th17 для элиминации внеклеточных

патогенов и воспаления тканей, было уменьшено в сыворотке крови у пациентов с обструктивной патологией. У больных БА в сыворотке крови выявлена недостаточность содержания $TGF\beta 1$ [6080(3760;31500)] по сравнению со здоровыми добровольцами [12940(10140;31740)]. $TGF\beta 1$ относится к иммуносупрессорным цитокинам, может контролировать Th1 дифференцировку через регуляцию $IFN\gamma$ -продуцирующие NK-клетки [446]. Было показано, что эффекты $TGF\beta$ зависят от его концентрации. Только в низких дозах он индуцирует дифференцировку Th17, в то время как высокие дозы $TGF\beta$ ингибируют развитие Th17 и стимулируют T-регуляторные лимфоциты [602]. Острое или хроническое альвеолярное/бронхиальное воспаление при БА и ХОБЛ является ключевым фактором в развитии патогенеза с привлечением в легочную ткань и активацией цитокин-продуцирующих воспалительных клеток. При БА воспалительные изменения характеризуются эозинофильной инфильтрацией, активацией тучных клеток, увеличением количества Th2 хелперов, продуцирующих провоспалительные цитокины. При утяжелении течения заболевания с развитием необратимой бронхообструкции усиливается инфильтрация слизистой оболочки бронхов нейтрофилами и наблюдается активация Th1- и Th17- клеток, свойственная ХОБЛ [229]. По-видимому, воспалительные фенотипы перекрывают патогенетические механизмы астмы и ХОБЛ [530].

Помимо дисбаланса экспрессии генов и продукции белков цитокинов у больных с фенотипом «БА-ХОБЛ» выявлен дефицит биологической активности $IFN\alpha/\beta$ ($114,1\pm 72,7$) и $IFN\gamma$ ($11,7\pm 4,6$) по сравнению с условно здоровыми добровольцами ($388,6\pm 75,9$) и ($50,3\pm 8,4$), соответственно ($p<0,05$) (Рисунок 3.15).



Примечание: * $p<0,05$ – статистически значимые отличия по сравнению с контролем практически здоровых людей

Рисунок 3.15 – Определение биологической активности $IFN\alpha/\beta$ (А) и $IFN\gamma$ (Б) ($p<0,05$) у больных БА-ХОБЛ

С утяжелением воспалительного процесса при БА, ассоциированной с ХОБЛ, наблюдается прямая зависимость низких значений ОФВ1 в основном с низкими значениями активности $IFN\alpha$ от 40 до 120 ТБА ($r=0,95$).

Таким образом, комплексный подход к определению РНК и белков IFN , наряду с их противовирусной активностью, позволяет сделать заключение о нарушениях в системе IFN при бронхообструктивных заболеваниях [124].

3.4.1.2 Особенности врожденного иммунитета сочетанной аллергопатологии бронхиальная астма и аллергический ринит

С учётом известных общих механизмов ГНТ 1 типа, часто диагностируют «атопическую триаду»: сочетание БА, АР и АтД. Первое обследование пациентов БА с АР и АР проводили весной в период ремиссии при отсутствии признаков заболевания ОРВИ: определяли количество цитокинов в сыворотке крови пациентов в период ремиссии, за месяц до предполагаемого клинического обострения (цветения) у обследуемых 2-х групп [114]. Выявили наличие провоспалительных ($IFN\gamma$, $TNF\alpha$) и противовоспалительных ($IL4$, $IL5$) цитокинов. В Таблице 3.16 показаны частоты детекции исследуемых цитокинов в группах больных с АР. Следует отметить повышенные частоты детекции $IFN\gamma$ в обеих исследуемых группах БА-АР и АР.

Таблица 3.16 – Частоты детекции цитокинов ($\% \pm m\%$) методом ИФА в сыворотке крови пациентов с БА-АР и АР

Группы	$IFN\gamma$	$TNF\alpha$	$IL4$	$IL5$
БА-АР (n=34)	13 (38%±8,4%)	8 (24%±7,4%)	11 (32%±8,1%)	12 (35%±8,3%)
АР (n=26)	15 (58%±9,9%)	6 (23%±8,4%)	8 (31%±9,2%)	10 (38%±9,7%)
Всего	28 (46,7%±6,4%)	14 (24,3%±5,5%)	19 (31,7%±6,1%)	22 (36,7%±6,3%)

У всех пациентов выявлена сниженная биологическая активность IFN I и II типов *in vitro* (Таблица 3.17), которая в среднем в 5 раз ниже физиологических значений нормы ($p<0,05$). Показатели биологической активности IFN в сыворотке крови были в пределах нормы. Спонтанная биологическая активность IFN , продуцируемых лейкоцитами крови, у части пациентов выявлялась при отсутствии его в норме.

Таблица 3.17 – Показатели активности IFN у пациентов с БА-АР и АР за месяц до начала клинических проявлений и до лечения

Группы	IFN статус (ТБА)			
	IFN α	IFN γ	Сывороточный IFN	Спонтанный IFN
БА-АР	126,5 \pm 88,7*	10,2 \pm 6,4*	3,9 \pm 3,1	1,3 \pm 0,97
АР	123,1 \pm 75,0*	11,3 \pm 6,4*	4,2 \pm 4,1	0,5 \pm 0,9
Здоровые	642,3 \pm 15,8	64,8 \pm 18,4	5,0 \pm 2,3	0

Примечание: *p<0,05 - отличия показателей при патологии от практически здоровых

В группе БА-АР повышенный уровень IgE составил 298,6 \pm 543,3 кЕ/л, в группе с АР - 143,4 \pm 140 кЕ/л, при норме <100 кЕ/л, что может служить дополнительным доказательством Th2 поляризации с индукцией преимущественно гуморального иммунного ответа при дефиците Th1 цитокинов, включая все IFN.

3.4.2 Аллергические заболевания поражений кожи (атопический дерматит, хроническая крапивница)

3.4.2.1 Исследование системы интерферонов при atopическом дерматите

Аллергические триады включают сочетанные заболевания дыхательной системы и поражения кожи. Однако в данной работе АЗ кожи рассмотрены отдельно от заболеваний дыхательной системы для сравнительного анализа особенностей. Методом ИФА в сыворотке больных АтД не был обнаружен IL4, в следовых количествах выявлен регуляторный IL10 у 1 пациента (6,7%), IL13 у 3 пациентов (20%). Этот феномен может быть следствием взаимозаменяемости функций цитокинов. При этом разные цитокины могут обеспечивать одинаковый или сходный эффект. В результате продукции нескольких цитокинов с синергичным, аддитивным или противоположным действием формируется цитокиновая сеть. Биологические эффекты зависят от наличия и концентрации многих цитокинов [322, 411, 421].

При отсутствии и низких частотах детекции цитокинов IL4 и IL13, типичных для АЗ (глава 1.3), методом ИФА выявлено повышенное содержание провоспалительных цитокинов, особенно IL8 (p<0,05), в меньшей степени IL6, у больных АтД по сравнению с практически здоровыми добровольцами (группа контроля) и, вместе с тем, снижение IL2 (p<0,05) (Рисунок 3.16). Пациентам с АтД необходима иммунокоррекция иммуномодуляторами или индукторами IFN для устранения дисбаланса цитокинов и увеличения сниженной активности интерферонов (Таблица 3.18). Для иммунокоррекции применяли циклоферон совместно с базисной терапией. Из 15 пациентов, находящихся в группе базисной терапии с циклофероном, у 5 значения IL8 в

сыворотке крови превышали 100 пг/мл, достигая 575 пг/мл. TNF α в сыворотке крови при АтД выявлен у 3-х (20%), IL1 β - у 5-и пациентов из 15 (33,3%).

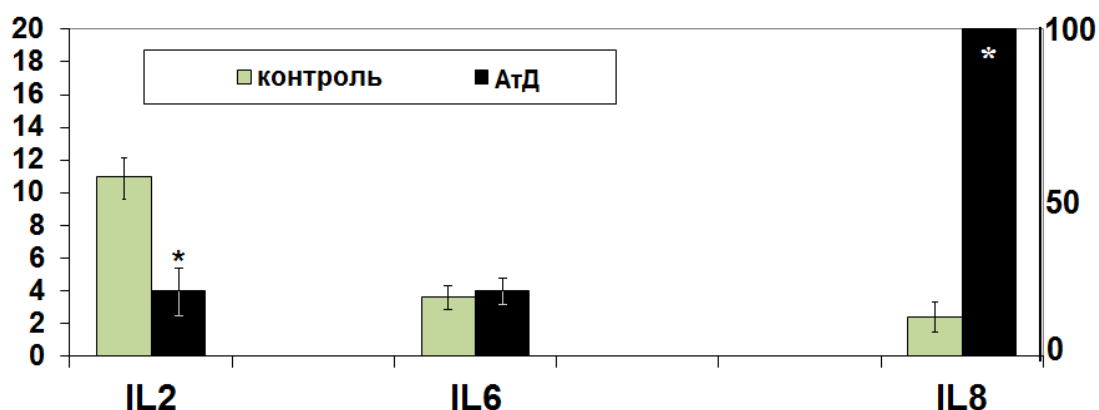


Рисунок 3.16 – Содержание цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови у больных АтД

Необходимо также отметить, что в сыворотке крови больных АтД не удалось выявить белки IFN α и IFN γ . Способность лейкоцитов больных АтД к спонтанной и индуцированной продукции белков IFN γ снижена по сравнению с практически здоровыми добровольцами (Рисунок 3.17).

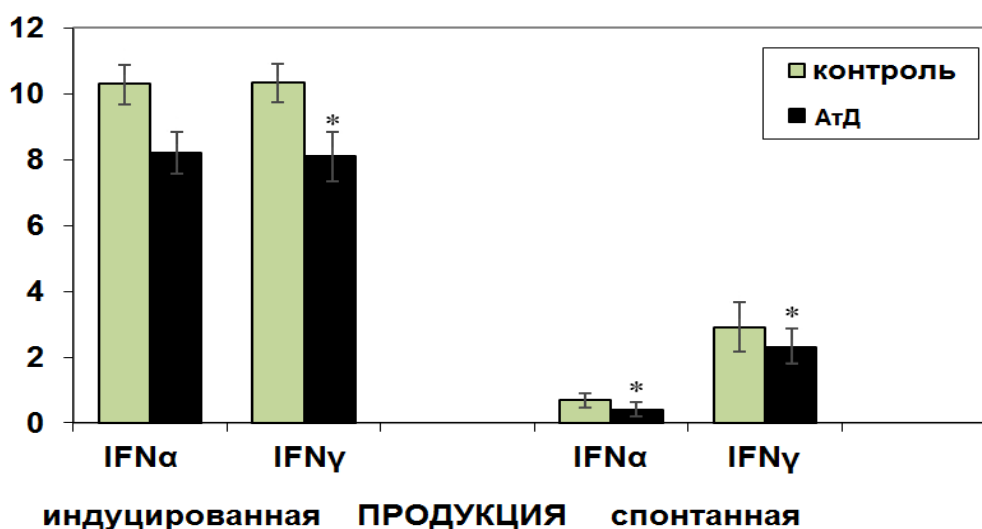


Рисунок 3.17 – Уровень индуцированной и спонтанной продукции белков IFN α и IFN γ (пг/мл) лейкоцитами крови у больных АтД (шкала log₂)

При исследовании системы IFN биологическим методом выявлены статистически значимые различия в показателях между противовирусной активностью АтД и контрольной (условно здоровые) группами ($p < 0,05$). У пациентов с АтД выявлена недостаточность системы

IFN по биологической активности IFN α/β и IFN γ , продуцируемых лейкоцитами крови, 1-2 и 2-3 степени, соответственно.

При сравнении полученных показателей между пациентами АтД, находящимися в стадии обострения и ремиссии, следует отметить, что существенных отличий не выявлено (Таблица 3.17). Обнаружен повышенный уровень активности IFN в сыворотке крови у 8 из 28 пациентов (28,6% \pm 8,7%) и наличие «следов» спонтанного IFN у 6 пациентов из 20 (30% \pm 10,5%) в стадии обострения при отсутствии его в условиях физиологической нормы. Как отмечено ранее, несмотря на молодой возраст от 18 до 25 лет, пациенты имели длительный хронический характер заболевания (с раннего детства) с периодическими обострениями процесса [35, 36, 320].

Таблица 3.18 – Противовирусная активность IFN при АтД на разных стадиях процесса

Группы	IFN статус, ТБА	
	IFN I	IFN II
Обострение (n=20)	165 \pm 14,35 *	13,4 \pm 0,93 *
Ремиссия (n=8)	175 \pm 15 *	12 \pm 1,06 *
Практически здоровые добровольцы	448 \pm 7,8	48 \pm 4,2

Примечание: *p<0,05 – статистически значимые отличия по сравнению со здоровыми добровольцами; (M \pm m)

АтД является многофакторным хроническим и рецидивирующим воспалительным АЗ кожи, характеризующимся зудом, лихеноидными папулами, лихенификациями, обусловленное ГНТ 1 типа.

Выявлена совокупность нарушений иммунной системы с недостаточной функциональной активностью IFN I и IFN II типов, продуцируемых лейкоцитами крови пациентов с АтД, что предполагает возможную коррекцию иммуноактивными препаратами.

3.4.2.2 Исследование системы интерферонов при хронической крапивнице

Методом мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа с магнитными микросферами xMAP в сыворотке крови определяли концентрации 12 биомаркеров T-регуляторных цитокинов (IL28A/IFN λ 2, IL29/IFN λ 1, IL2, IL10, IL12(p40), IL12(p70), IL19, IL20, IL22, IL26, IL27, IL35), уровни которых показаны на Рисунке 3.18, а также определяли концентрации IFN α и IFN γ методом ИФА [117].

В сыворотке крови пациентов с ХК (n=21) и практически здоровых (n=10) не выявлены белки IFN I (α) и II (γ) типов, однако обнаружен IFN III (λ) типа (Рисунок 3.18). Так, наличие

IFN λ 2 выявлено в сыворотке крови у 6 пациентов ХК (28,6%±10,1)) и, особенно, IFN λ 1 (85,7%±7,8)) – в сыворотках 18 из 21 пациента. Повышенные уровни IFN λ предполагают связь ХК с хроническим воспалительным процессом. Так, продукция IFN λ 1 выявлена в 85,7% образцов сыворотки крови, IFN λ 2 - у 28,6% пациентов с ХК. Следует отметить значительно повышенные концентрации белков Treg в сыворотке крови 3-х пациентов.

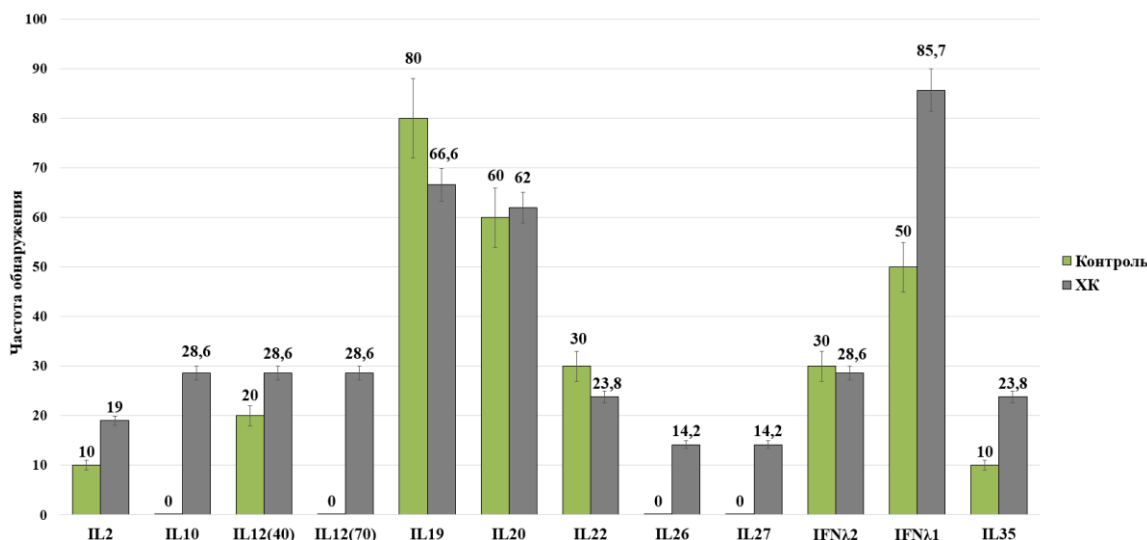


Рисунок 3.18 – Частоты детекции Т-регуляторных цитокинов в сыворотке крови у пациентов с ХК и контроле (практически здоровые добровольцы)

Th2 цитокины, IL25 (IL17E, относящийся к Th17 пути), IL33, стимулирующий продукцию IL4, IL5 и IL13, и стромальный лимфопоэтин тимуса, алармины оказывают влияние на тучные клетки и участвуют в патогенезе ХК [646]. Волдыри у пациентов с ХК содержат значительно больше клеток, экспрессирующих гены IL5, IL33 и стромального лимфопоэтина тимуса, по сравнению с неповрежденной кожей [303].

Уровни IL4 повышены в сыворотке пациентов с ХК, а уровни IL4-экспрессирующих клеток повышены в коже пациентов с ХК. Поэтому препарат дупилумаб (моноклональные антитела против субъединицы рецептора IL-4 α) эффективен при терапии ХК [647].

IL5, помимо действия на тучные клетки, может вносить вклад в патогенез ХК, привлекая эозинофилы и базофилы к участкам пораженной кожи, где они часто обнаруживаются в больших количествах. Бенрализумаб (моноклональные антитела против рецептора IL5), а также меполизумаб и реслизумаб (антитела против IL5), в 2020 г. проходили клинические исследования для лечения ХК [647].

В цитокиновом статусе пациентов с ХК преобладают IL9, который стимулирует развитие хронического аллергического воспаления и аутоиммунные заболевания (АИЗ), IL22, который обеспечивает защиту эпителиальных барьерных органов, таких как кожа и легкие, а также IL10 [558]. Согласно другим данным эксперимента, в котором изучалась роль IL10 в патогенезе ХК,

авторы выявили избыточную экспрессию IL10 и ингибирование пути JAK/STAT, показав, что IL10 способствуют развитию ХК посредством активации сигнального пути JAK / STAT [558].

Оценка функциональной биологической активности IFN выявила сниженные показатели биологической активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, у больных ХК ($p < 0,05$) (Рисунок 3.19).

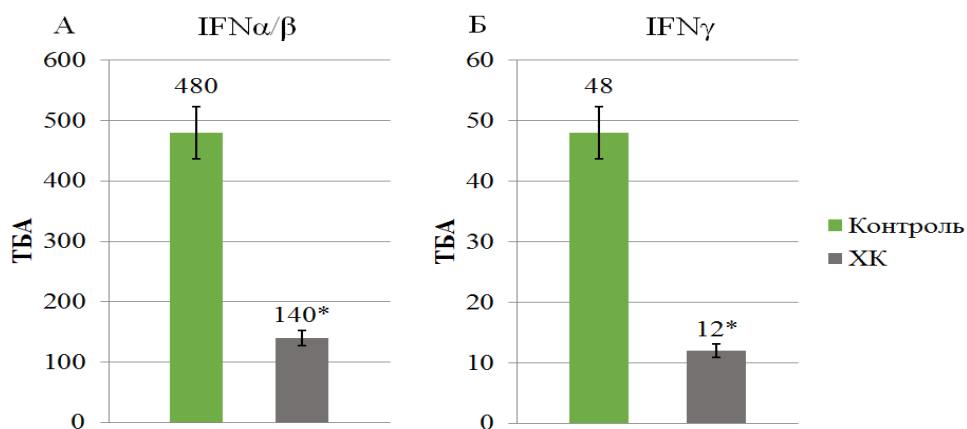


Рисунок 3.19 – Биологическая активность IFNα/β и IFNγ, продуцируемых лейкоцитами крови, при ХК. * $p < 0,05$ - статистически значимые различия показателей по сравнению с практически здоровыми

При ХК отмечен дефицит биологической активности IFN, на фоне которого могут чаще возникать обострения ХК: выявлено снижение активности IFN I и II типов у больных ХК по сравнению с нижней границы нормы в 4,6 раз и 5,3 раза, соответственно, ($p < 0,05$) (Рисунок 3.19). Таким образом, исследование T-регуляторных IL и IFN показало, что при ХК имеется нарушение синтеза регуляторных цитокинов с высокой частотой детекции IL10, IL12, IL35, особенно IL29 (IFNλ1) ($85,7\% \pm 7,8\%$), а также дефицит биологической активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови.

В целом, сравнительный анализ показал, что при аллергопатологиях выявлено снижение активности ($p < 0,05$) IFN α/β в 4,9 раз (от 3,8 до 5,6) и IFN γ в 5,5 раз (от 4,4 до 6,3) по сравнению с физиологической нормой. Отмечено и снижение ($p < 0,05$) удельной активности по сравнению с показателями здоровых добровольцев (по IFNα в 1,7 раз (98,6 и 170,3), по IFNγ в 128 раз (0,2 и 25,6), соответственно). Ряду пациентов проведена иммунокоррекция и отмечена эффективная нормализация показателей активности IFN I и II типов ($p < 0,05$), подтвержденная клинически в виде снижения заболеваемости ОРВИ и частоты обострений астмы.

3.4.3 Применение иммуноактивных препаратов при аллергических заболеваниях

3.4.3.1 Применение перорального препарата IFN α -2b при аллергическом рините

Опыт применения инъекционной формы IFN α -2b в комплексной терапии atopических заболеваний, а также в качестве сопутствующей терапии при специфической десенсибилизации больных аллергией показал положительный клинический эффект, с возможными гриппоподобными симптомами и аллергическими реакциями [89, 114]. Введение IFN α -2b на слизистую оболочку ротоглотки имеет преимущества из-за локального мукозального иммунитета, отличного от системного иммунитета. Помимо фибробластов и эпителиальных клеток слизистых оболочек, клеточные элементы включают макрофаги, тучные и плазматическими клетки, межэпителиальные лимфоциты, представленные в основном Т-клетками хелперного типа [26]. Показана сходная терапевтическая эффективность сублингвального введения IFN α -2b в низкой дозе 1000 международных единиц (МЕ) и его парентеральное введение в высокой дозе 1×10^6 МЕ [470]. Сублингвальное применение IFN α приводит, предположительно, к активации клеточного иммунитета в лимфоидной ткани полости рта с избирательным снижением количеств Th2-лимфоцитов [470].

При АР (поллиноз) в сочетании с пыльцевой БА (n=31) проведено контролируемое исследование с группой плацебо (n=11) по изучению безопасности и клинической эффективности применения препарата IFN α -2b низкой дозы сублингвально [114]. Были определены ключевые моменты для динамики анализов: 1) за месяц до предполагаемого обострения и сразу перед началом терапии препаратом IFN α -2b, 2) после приема препарата IFN α -2b, но еще до цветения деревьев, 3) после сезона цветения. Во время исследования пациенты принимали IFN (n=20) сублингвально (под язык) в разовой дозе 2000 МЕ 1 раз утром, натощак, в течение 30 дней за 30 мин до еды [114].

У всех пациентов, в дополнение ко всем стандартным клинико-лабораторным исследованиям, проводили мониторинг уровней белков цитокинов, активности IFN: до назначения IFN сублингвально, после последнего приема препарата (до палинации) и после сезона цветения деревьев [114].

Определение цитокинов в сыворотке крови проводили в динамике лечения. Так, за месяц до начала клинических проявлений и до лечения у пациентов 1-ой подгруппы отмечен баланс Th1/Th2-лимфоцитов. После проведенного лечения IFN α -2b и последующего периода наблюдения (окончания сезона цветения деревьев) выявлено преобладание IFN γ , вырабатываемых Th1-лимфоцитами. У пациентов 2-ой подгруппы (далее на плацебо) выявлено постоянное подавление Th1 звена на фоне повышения выработки цитокинов Th2-лимфоцитами

за месяц до начала клинических проявлений, непосредственно перед началом клинических проявлений и последующего их снижения после окончания сезона цветения деревьев, приводящего к балансу Th1/Th2- лимфоцитов, что свидетельствует о прекращении аллергенной нагрузки на организм. Таким образом, назначение IFN α -2b пациентам с поллинозом в качестве профилактической терапии за месяц до предполагаемого клинического обострения, статистически значимо изменяет цитокиновый профиль в сторону дифференцировки Th1-лимфоцитов [114]. Методом ИФА выявлено: после профилактической сублингвальной терапии IFN α -2b в начале периода предполагаемого обострения АР в сыворотке крови выявлено снижение концентрации IL5 и увеличение концентрации IFN γ . После сезона цветения деревьев IFN γ продолжает нарастать на фоне снижения IL4.

Определяли активность IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови у больных, которая до лечения была в 4,8 раз ниже значений физиологической нормы. После курса терапии и после сезона цветения деревьев биологическая активность IFN α увеличивалась ($p < 0,05$) с нормализацией показателей у 15% пациентов (Таблица 3.19).

После 1 месяца лечения IFN α -2b сублингвально отмечено уменьшение выраженности симптомов пыльцевого аллергического риноконъюнктивита ($p < 0,05$), по сравнению с группой плацебо-контроля [114], что проявилось в снижении частоты применения симптоматической терапии β 2-агонистами после лечения в основной группе ($3,25 \pm 4,12$ дней), в группе с плацебо – ($7,82 \pm 7,78$ дней); снижении количества дней обострения заболевания. Клиническая эффективность у пациентов, принимающих сублингвально препарат IFN α -2b, составила 95%; из них в 25% случаев наблюдалось полное устранение симптомов поллиноза [114].

Таблица 3.19 – Показатели биологической активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, в динамике лечения (ТБА)

Заболевание	IFN α / IFN γ	до лечения	после лечения, до цветения	после цветения
БА+АР (n=20) (IFN α -2b)	IFN α	136 \pm 86,2	134 \pm 83,1	316\pm161*
БА+АР (n=20) (IFN α -2b)	IFN γ	12 \pm 8,5	33,3\pm22,7*	16,2 \pm 11,1
БА+АР (n=11) (плацебо)	IFN α	134,6 \pm 103,2	109,1 \pm 50,9	196,4 \pm 82,9
БА+АР (n=11) (плацебо)	IFN γ	10,9 \pm 5,1	21,8\pm10,2*	18,2 \pm 7,2
АР (n=18) (IFN α -2b)	IFN α	120 \pm 69,6	173,3\pm107,2*	245,6 \pm 116,8
АР (n=18) (IFN α -2b)	IFN γ	12,4 \pm 7,9	27,6\pm14,9*	17,1 \pm 14,5
АР (n=7) (плацебо)	IFN α	137,1 \pm 89	125,7 \pm 42,8	205,7 \pm 78,1
АР (n=7) (плацебо)	IFN γ	12,6 \pm 4,3	18,3 \pm 6,0	12,6 \pm 4,3

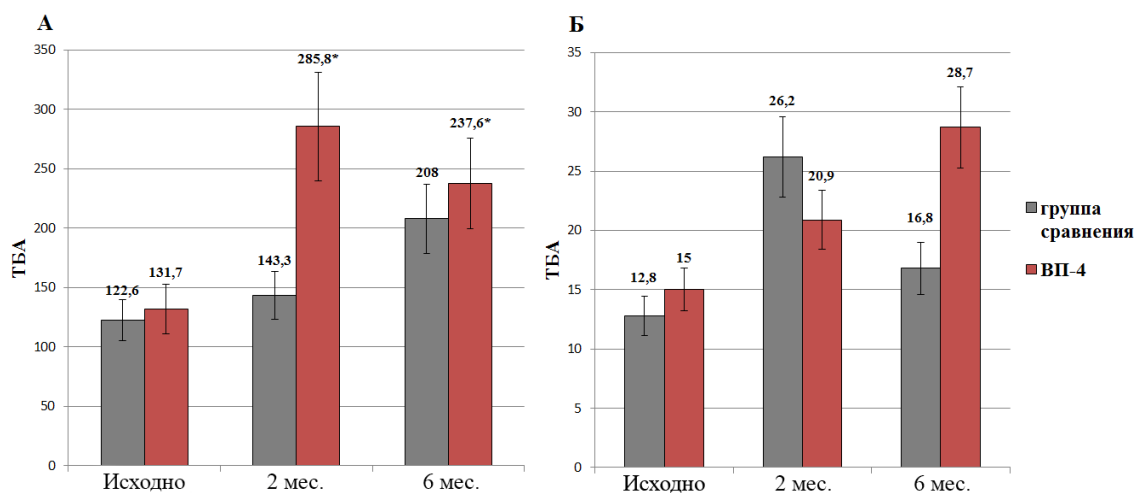
Таким образом, при изолированном АР и БА+АР выявлено снижение биологической активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови. Сублингвальное применение низких доз IFN α -2b у больных АР и АР в сочетании с пыльцевой БА, за месяц до предполагаемого клинического обострения, приводит к повышению уровней IFN, как антагонистов Th2 цитокинов, поэтому воспалительный процесс уменьшается [458].

3.4.3.2 Применение иммуноактивных препаратов при бронхиальной астме

Исследована эффективность отечественных препаратов (поликомпонентная вакцина ВП-4 и низкомолекулярный синтетический индуктор IFN циклоферон) у больных атопической формой БА лёгкого и среднетяжелого течения [65, 159]. В период с 2004 по 2006 гг. проведено клинико-лабораторное обследование 53 больных с лёгким и среднетяжелым течением атопической БА в фазе ремиссии, получавших базисную терапию топическими ГК, недокромил натрия или только β 2-агонисты по требованию. На фоне базисной терапии 23 пациента с БА получали ВП-4, циклоферон - 15 пациентов, контрольную группу составили 15 пациентов на базисной терапии [83].

Клиническая эффективность лечения препаратом ВП-4 оценивалась по частоте обострений БА и объёму базисной лекарственной терапии через год после лечения. В течение ½ года проводили мониторинг аллергологических показателей, показателей IFN статуса, уровня белков IFN γ и IL4 в сыворотке крови, показателей функции внешнего дыхания (ФВД). Основными критериями эффективности препаратов являлись уменьшение количества обострений заболевания в течение 1 года после иммуномодулирующей терапии, улучшение показателей IFN статуса.

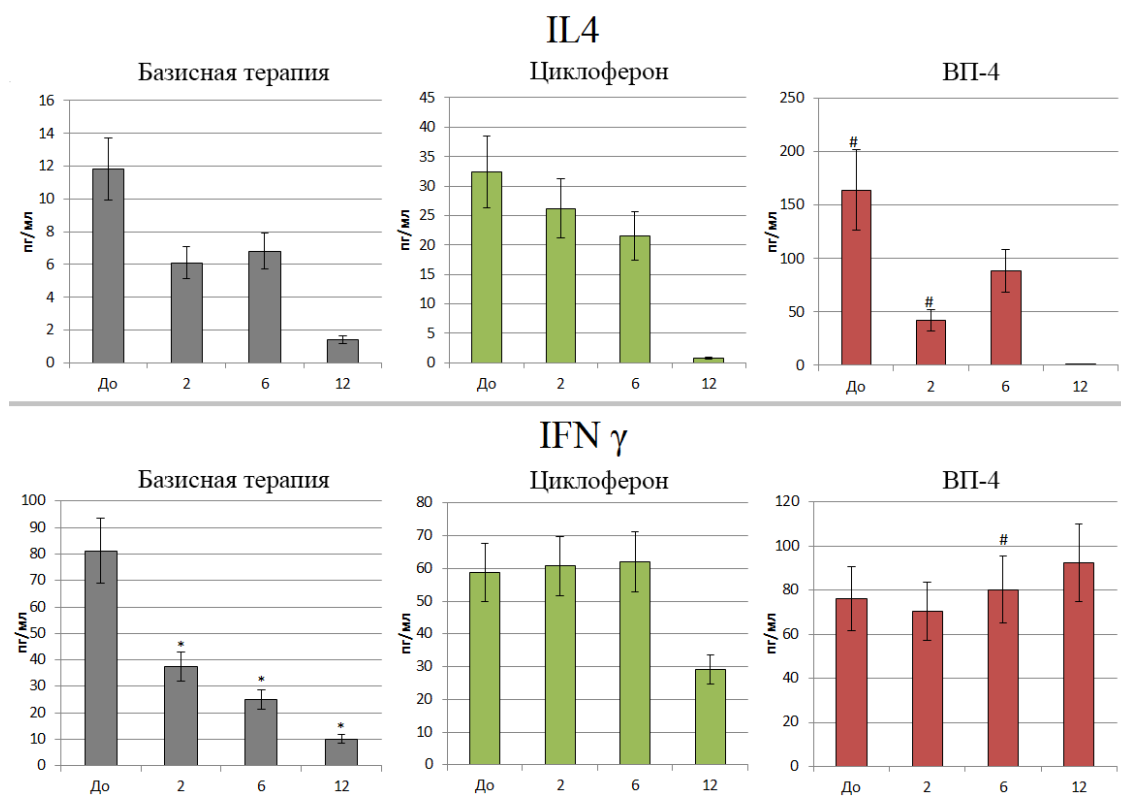
Перед применением ВП-4 биологическая активность IFN α/β составила $131,76 \pm 25,7$ ТБА, IFN γ – $15 \pm 3,5$ ТБА, сывороточного IFN - $6,9 \pm 1,4$ ТБА, спонтанного IFN ≥ 2 ТБА у 2 (11.76%) пациентов (Рисунок 3.20).



Примечание: * $p < 0,05$ - статистически значимые различия показателей по сравнению с исходными данными внутри группы

Рисунок 3.20 – Динамика продукции биологически активных $IFN\alpha/\beta$ (А) и $IFN\gamma$ (Б) лейкоцитами крови у вакцинированных пациентов и пациентов группы сравнения на базисной терапии

Уровень белков $IFN\gamma$ в сыворотке крови методом ИФА составил $69,8 \pm 16,8$ пг/мл, $IL4$ – $92,6 \pm 39,7$ пг/мл (Рисунок 3.21). Общий IgE был в пределах 596 ± 195 кЕ/л [83]. В группе пациентов, принимающих ВП-4, и в группе сравнения клинические показатели, данные общего анализа крови, иммунологические показатели исходно были сопоставимы, за исключением уровня $IL4$, который изначально был выше ($p < 0,05$) в группе пациентов на ВП-4. После вакцинации отмечено повышение по сравнению с исходными данными биологически активной продукции $IFN\alpha/\beta$ лейкоцитами: через 2 месяца – со $131,76 \pm 25,7$ до $285,88 \pm 74,6$ ТБА ($p = 0,009$), через $\frac{1}{2}$ года – до $237,6 \pm 47,7$ ТБА ($p = 0,027$) (Рисунок 3.20). В группе сравнения отмечено через 2 месяца кратковременное повышение ($p < 0,05$) активности $IFN\gamma$ лейкоцитами с $12,8 \pm 2,3$ до $26,2 \pm 8,31$ ТБА (Рисунок 3.20). В группе сравнения активность $IFN\alpha/\beta$, продуцируемых лейкоцитами крови, за время наблюдения статистически значимо не изменялась. Через $\frac{1}{2}$ года наблюдения уровень сывороточного $IFN\gamma$ в группе вакцинированных пациентов составил $80,2 \pm 17,7$ и был выше, чем в группе сравнения ($p = 0,008$). Статистически значимых изменений общего IgE, $IL4$ за $\frac{1}{2}$ года наблюдения как в группах ВП-4, так и в контрольной группе, не выявлено (Рисунок 3.21). При сравнении степени сенсibilизации грибковыми и бактериальными аллергенами вакцинированных пациентов и пациентов группы сравнения исходно, через 2 и через 6 месяцев наблюдения статистически значимых различий не получено [83].



Примечание: по оси абсцисс: до лечения, через 2, 6 и 12 мес. после лечения.

Рисунок 3.21 – Цитокины IL4 (верхняя панель) и IFNγ (нижняя панель) в сыворотке крови больных БА в ремиссии в динамике лечения базисной терапией (1), Циклофероном (2), ВП-4 (3)

Через 2 месяца у пациентов, применяющих ВП-4, по сравнению с группой сравнения было отмечено статистически значимое снижение дневных приступов удушья с $1,76 \pm 0,56$ до $0,63 \pm 0,41$ в неделю ($p = 0,021$) и ночных приступов удушья с $0,27 \pm 0,09$ до $0,05 \pm 0,05$ в неделю ($p = 0,002$). После вакцинации у больных через 2 месяца по сравнению с их исходными данными отмечено снижение количества ОРВИ до $0,11 \pm 0,05$ /месяц у человека ($p = 0,002$) и обострений заболевания до $0,05 \pm 0,04$ /месяц у человека ($p = 0,002$). Через 6 месяцев у вакцинированных пациентов отмечено снижение количества ОРВИ по сравнению с исходными данными до $0,13 \pm 0,03$ /месяц у человека ($p = 0,002$) и обострений заболевания до $0,09 \pm 0,03$ /месяц у человека. В группе сравнения по сравнению с исходными данными отмечено снижение количества обострений через 2 месяца наблюдения до $0,1 \pm 0,05$ ($p = 0,03$) и их увеличение через $\frac{1}{2}$ года наблюдения до $0,81 \pm 0,66$ ($p = 0,02$).

Через 1 год проводилось сравнение только клинических данных. В группе вакцинированных пациентов было отмечено достоверное снижение ночных приступов удушья до $0,02 \pm 0,02$ в неделю по сравнению с исходными данными ($p = 0,016$). Через 1 год после вакцинации у пациентов было отмечено достоверное снижение количества ОРВИ до $0,14 \pm 0,02$ /месяц у человека по сравнению с исходными данными ($p = 0,001$) и по сравнению с данными пациентов группы сравнения ($p < 0,025$). Через год после вакцинации ОРВИ

отсутствовали или отмечались 1-2 ОРВИ/год у 14 (82,2%) пациентов, в то время как в группе сравнения это отметили только у 4 (26,6%) пациентов. Различия были статистически значимы ($p = 0,0018$). В группе сравнения 3-4 и более ОРВИ в год отмечено у 11 (73,3%) пациентов, что было статистически значимо выше, чем в группе вакцинированных пациентов. Также через год после вакцинации у пациентов отмечено снижение количества обострений БА до $0,05 \pm 0,01$ /месяц у человека по сравнению с исходными данными ($p = 0,0006$) и по сравнению с данными пациентов группы сравнения ($p < 0,025$). Через год после вакцинации у 9 (52,9%) пациентов обострения БА отсутствовали, в то время как в контрольной группе это отметили только у 2 (13,3%) пациентов. Различия были статистически значимыми ($p = 0,012$).

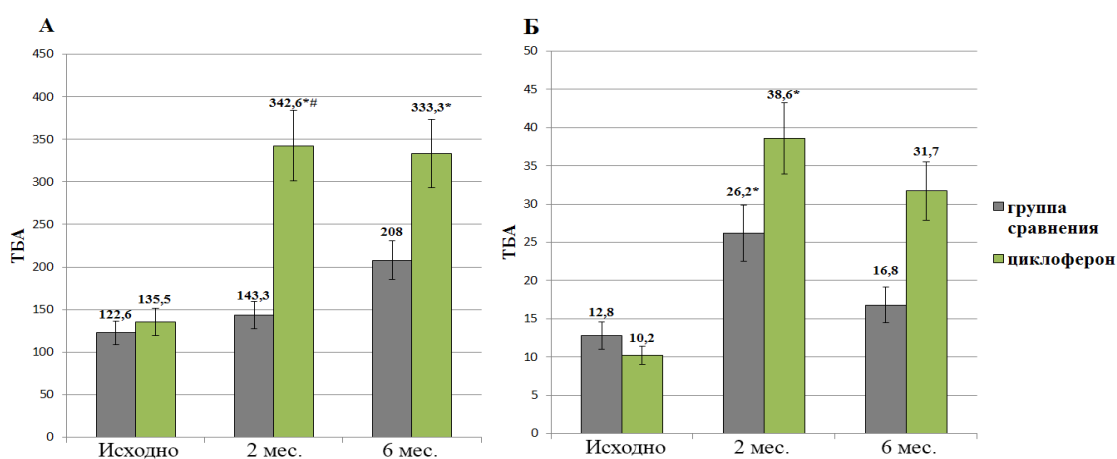
При перерасчете заболеваемости ОРВИ на 100 человек/год в группе вакцинированных больных получено уменьшение заболеваемости ОРВИ с 486 случаев до 200 случаев на 100 чел/год, т.е. на 59%. В то же время в группе сравнения отмечено увеличение заболеваемости ОРВИ с 366 случаев до 420 случаев на 100 человек/год, т.е. на 14%. При перерасчете частоты обострений БА в группе вакцинированных больных на 100 человек/год получено уменьшение частоты обострений с 334 до 80 случаев на 100 чел/год, т.е. на 76%. В группе сравнения отмечено снижение частоты обострений с 346 до 240 случаев на 100 человек/год, т.е. на 31%. Снижение заболеваемости ОРВИ и частоты обострений в течение года у вакцинированных пациентов было большим, чем в группе сравнения ($p < 0,05$).

Таким образом, в группе пациентов на терапии бактериальными лигандами (ВП-4) по сравнению с исходными данными имело место статистически значимое повышение биологической активности $IFN\alpha/\beta$, продуцируемой лейкоцитами крови, отмечаемое в течение всего периода наблюдения. В группе сравнения за время наблюдения выявлено кратковременное повышение активности $IFN\gamma$, продуцируемой лейкоцитами крови. Через $\frac{1}{2}$ года наблюдения уровень $IFN\gamma$ в сыворотке был выше в группе вакцинированных пациентов ($p < 0,05$), чем в группе сравнения. Через 2 месяца у вакцинированных пациентов по сравнению с группой сравнения отмечено снижение количества дневных и ночных приступов удушья ($p < 0,05$). Через год после вакцинации у пациентов отмечено уменьшение количества ОРВИ ($p < 0,05$), в среднем на 59% на 100 человек/год, и уменьшение количества обострений БА в год, в среднем на 76% на 100 человек/год. Снижение заболеваемости ОРВИ и частоты обострений в течение года у вакцинированных пациентов было большим, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). В течение года после вакцинации у 9 (52,9%) пациентов отсутствовали обострения БА.

Следует отметить, что проведение терапии бактериальными лигандами (вакцина ВП-4) может быть рекомендовано лечащими врачами при соблюдении следующих условий: только в период ремиссии БА; при отсутствии клиники ОРВИ; под контролем пикфлоуметрии; под

контролем врача; оценке показателей IFN статуса [83]. При купировании респираторной инфекции возможно продолжение терапии с ВП-4 [64, 83].

Лечение циклофероном проведено у 15 пациентов с atopической формой БА лёгкой и средней степени тяжести в фазе стойкой и нестойкой ремиссии. Исходно перед лечением индуктором IFN на фоне базисной терапии (IFN статус): активность IFN в сыворотке крови составила $10,4 \pm 2,8$ ТБА, наличие спонтанного $IFN \geq 2$ ТБА *in vitro* было выявлено у 5 (33,3%) пациентов, активность $IFN\alpha/\beta$, продуцируемая лейкоцитами крови, составила $135,3 \pm 43,5$ ТБА, активность $IFN\gamma$ – $10,26 \pm 2,17$ ТБА (Рисунок 3.22). Уровень белков (Рисунок 3.21) $IFN\gamma$ в сыворотке крови был в пределах $58,75 \pm 14$ пг/мл, IL4 – $32,4 \pm 31,5$ пг/мл, общего IgE – $442,8 \pm 176$ кЕ/л [83].



Примечание: *- достоверность различий между показателями внутри групп, $p < 0,05$; #- достоверность различий между показателями разных групп, $p < 0,05$.

Рисунок 3.22 – Биологическая активность IFN I (А) и IFN II (Б), продуцируемых лейкоцитами крови больных в ремиссии БА, получающих циклоферон, и больных группы сравнения

Все представленные клинические данные, данные общего анализа крови, иммунологические показатели были сопоставимы с данными пациентов группы сравнения. В течение ½ года после курса лечения циклофероном проводился мониторинг аллергологических показателей, IFN статуса, уровней белков IL4 и $IFN\gamma$ в сыворотке крови, показателей ФВД. Эффективность применения циклоферона оценивалась по частоте ОРВИ, частоте обострений БА через 1 год после лечения, динамике показателей IFN статуса.

Через 2 месяца после лечения циклофероном (Рисунок 3.22) отмечено статистически значимое повышение по сравнению с исходными данными и по сравнению с данными пациентов группы сравнения ($p < 0,05$) биологической активности $IFN\alpha/\beta$, продуцируемой лейкоцитами крови, со $135,3 \pm 43,5$ до $342,6 \pm 53,4$ ТБА, активности $IFN\gamma$ по сравнению с исходными данными - с $10,2 \pm 2,17$ до $38,66 \pm 7,46$ ТБА ($p < 0,01$). Отмечено исчезновение

спонтанного IFN *in vitro* у 5 (33,3%) пациентов, что было статистически значимо ($p=0,01$) [83]. Через $\frac{1}{2}$ года после курса терапии циклофероном сохранялось повышение по сравнению с исходными данными активности IFN α/β , продуцируемой лейкоцитами крови, до $333,3\pm 66,4$ ТБА ($p=0,04$) (Рисунок 3.22). Не отмечено статистически значимого изменения уровней IL4, общего IgE как у пациентов, получавших лечение циклофероном, так и у пациентов группы сравнения. При сравнении степени сенсibilизации грибковыми и бактериальными аллергенами пациентов, получавших циклоферон, и пациентов группы сравнения исходно, через 2 и через 6 месяцев наблюдения статистически значимых различий не получено. Клинические данные больных, пролеченных циклофероном, значимо не отличались от данных больных группы сравнения на протяжении года наблюдения.

При сравнении средней частоты заболеваемости ОРВИ и средней частоты обострений БА в месяц у пациентов, получавших циклоферон, и у пациентов группы сравнения через год наблюдения статистически значимых различий не выявлено. Хотя при сравнении данных больных, пролеченных циклофероном, с их исходными данными, выявили статистически значимое уменьшение частоты обострений БА через год с $0,31\pm 0,02$ /месяц у человека до $0,13\pm 0,03$ /месяц у человека ($p = 0,00004$). Если до лечения циклофероном 3-4 и более обострений заболевания в год отмечалось у 11 (73,4%) пациентов, то через год после лечения – у 4 (26,6%) пациентов. Т. е. у 11 (73,4%) пациентов после лечения циклофероном обострения БА в течение года отсутствовали или отмечалось 1-2 обострений в год, что статистически значимо отличалось от исходных данных ($p = 0,008$).

При перерасчете заболеваемости ОРВИ на 100 человек/год в группе больных, получавших циклоферон, получено уменьшение заболеваемости с 413 случаев в год до 306 случаев в год, т.е. на 26%. В то же время в группе сравнения отмечено увеличение заболеваемости ОРВИ с 366 случаев до 420 случаев на 100 человек/год, т.е. на 14%. Данные в группе больных, получавших циклоферон, и в группе сравнения статистически значимо отличались между собой ($p < 0,05$). При перерасчете частоты обострений БА в группе больных, получавших циклоферон, на 100 человек/год получено уменьшение частоты обострений с 360 до 173 случаев в год, т.е. на 52%. В группе сравнения отмечено снижение частоты обострений с 346 случаев до 240 случаев на 100 человек/год, т.е. на 31%. Снижение частоты обострений в течение года у больных, пролеченных циклофероном, было достоверно большим, чем в группе сравнения ($p < 0,05$).

Таким образом, через 2 месяца после курса лечения циклофероном отметили статистически значимое повышение активности IFN α/β , продуцируемой лейкоцитами крови, по сравнению с исходными данными и данными пациентов группы сравнения, которая сохранялась на протяжении 6 месяцев ($p = 0,04$). Через 2 месяца после курса лечения

циклофероном также отмечено статистически значимое повышение активности $IFN\gamma$, продуцируемой лейкоцитами крови, по сравнению с исходными данными и исчезновение спонтанного IFN у 5 (33,3%) пациентов [83]. При сравнении данных пациентов после терапии циклофероном с их исходными данными, выявили статистически значимое ($p < 0,05$) уменьшение частоты обострений заболевания в течение года, в среднем, в 2,5 раза. Через год у пациентов, получавших циклоферон, отмечено статистически значимое уменьшение количества ОРВИ, в среднем, на 26% на 100 человек/год, и уменьшение количества обострений БА на 52% на 100 человек/год. Снижение заболеваемости ОРВИ и частоты обострений в течение года у пациентов, получавших циклоферон, было большим, чем в группе сравнения ($p < 0,05$).

Также пациентам в обострении БА, поступившим на лечение в стационар ($n=19$), была проведена базисная терапия (контрольная группа, $n=8$) и на фоне базисной терапии применен индуктор IFN циклоферон в инъекциях по схеме (основная группа, $n=11$).

На Рисунке 3.23 показано: концентрация (пг/мл) $TNF\alpha$ и $IL6$ в сыворотке крови этих больных БА достигала в среднем $330,9\pm 183,7$ и $91,4\pm 44,2$ соответственно.

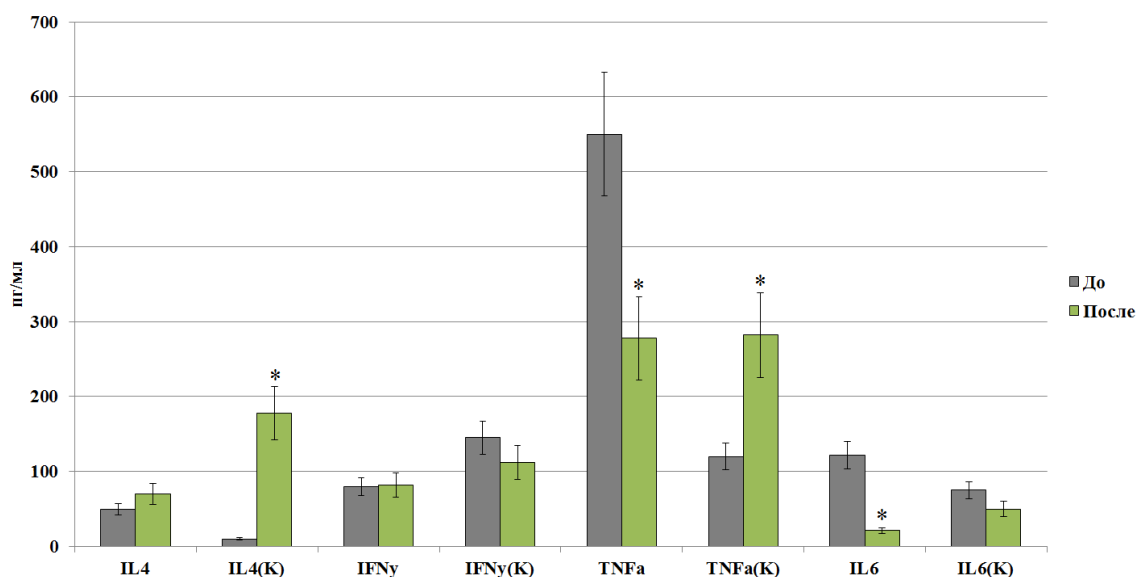


Рисунок 3.23 – Спектр цитокинов в сыворотке крови пациентов БА в обострении заболевания до и после лечения базисной терапией (К), Циклофероном на фоне базисной терапии

Обострение БА ассоциировано с высокими уровнями провоспалительных цитокинов $TNF\alpha$, $IL6$. На фоне ОРВИ у больных отмечен дисбаланс $Th1/Th2$ цитокинов с преобладанием уровня $IFN\gamma$ над уровнем $IL4$ ($k = 2,7$). Пациенты получали базисную терапию (контрольная группа, $n=8$) и дополнительно к ней индуктор интерферона циклоферон в инъекциях по схеме (основная группа, $n=11$). После проведенной терапии по мере стихания процесса обострения отмечалось снижение уровня $IL6$ в обеих группах, особенно в основной (\downarrow в 6,5 раз), чего

нельзя сказать о содержании в сыворотке крови TNF α . Так, в контрольной группе отмечено незначительное его повышение, а в основной – снижение в 2 раза. На фоне лечения с переходом в ремиссию идет сглаживание дисбаланса Th1/ Th2 цитокинов ($k = 1,0$).

Исходно перед лечением индуктором IFN на фоне базисной терапии (IFN статус): наличие спонтанного IFN ≥ 2 ТБА in vitro было выявлено у 3 (15,8%) пациентов (Таблица 3.12), снижена биологическая активность IFN α/β и IFN γ , продуцируемых лейкоцитами крови (Рисунок 3.13). После лечения в контрольной группе [83] отмечено повышение по сравнению с исходными данными активности IFN α , продуцируемой лейкоцитами крови, со 123 ± 35 до 153 ± 42 ТБА, активности IFN γ - с $6 \pm 0,8$ до $12,75 \pm 2,2$ ТБА ($p < 0,01$). После лечения с циклофероном отмечено повышение по сравнению с исходными данными активности IFN α , продуцируемого лейкоцитами крови, со 110 ± 24 до $206,7 \pm 48,7$ ТБА ($p < 0,05$), активности IFN γ - с $14,2 \pm 2,6$ до $30,55 \pm 7,3$ ТБА ($p < 0,05$).

Нами выявлено, что обострение БА на фоне ОРВИ протекает с нарушением цитокинового баланса. Существенное увеличение продукции IFN γ , TNF α и IL6 может быть связано с вирусными респираторными инфекциями и косвенным доказательством этого служит значительное уменьшение их концентрации в сыворотке крови после проведенной терапии в сочетании с циклофероном по сравнению с группой контроля. Воспаление дыхательных путей у пациентов с БА характеризовалось усиленной активацией провоспалительных цитокинов и особенно TNF α и IFN γ , вызывающих активацию Th1 [230]. Оценка и контролирование изменений этих цитокинов может иметь прогностическое значение для иммунокоррекции и служить критерием эффективности проводимой терапии совместно с IFN статусом.

В целом, необходимо отметить следующее:

- При атопической форме БА с лёгким, среднетяжелым и тяжелым течением, выявлена Th2 поляризация врожденного иммунитета, продукция IgE и дефицит биологической активности IFN. При БА вне обострения выявлено повышение биологической активности IFN в сыворотке крови у 23 пациентов (34,3%). Включение в комплексную терапию больных атопической БА лёгкой и средней степени тяжести в фазе ремиссии бактериальных лигандов (поликомпонентной вакцины Иммуновак-ВП-4) способствует повышению клинической эффективности базисной терапии, приводит к стабильному повышению биологической активности IFN α/β , продуцируемого лейкоцитами крови, в течение полугода после вакцинации ($p < 0,05$) и снижению заболеваемости ОРВИ и обострений БА ($p < 0,05$).

- Включение циклоферона в комплексную терапию больных атопической БА средней и лёгкой степени тяжести приводит к повышению биологической активности IFN α/β и IFN γ , продуцируемых лейкоцитами крови, снижению заболеваемости ОРВИ и числа обострений заболевания.

- В связи с выявленными нарушениями в системе IFN представляется целесообразным при обострениях БА на фоне ОРВИ проведение как интерферонотерапии, так и применение индукторов IFN.

Таким образом, БА - аллергическое заболевание, при котором запускается целый спектр значимых регуляторных цитокинов, недостаточная/избыточная продукция которых приводит к разной степени выраженности заболевания и помогают выяснить некоторые сложности течения астмы [230, 313]. Вполне вероятно, что это приведёт в будущем к более эффективной и специфической терапии, которая может быть направлена на конкретного пациента.

3.4.3.3 Применение индуктора интерферонов при atopическом дерматите

В настоящее время лечение АтД основано на устранении аллергенов. Фармакотерапия включает применение антигистаминных, детоксикационных, гипосенсибилизирующих, психотропных, антибактериальных лекарственных средств, а также глюкокортикостероидов, антисептиков, стабилизаторов мембран тучных клеток, ферментов, адсорбентов, про- и эубиотиков; иммунодепрессантов и иммуномодуляторов, наружную терапию в виде кремов и мазей, а также физиотерапию. установлена эффективность применения иммуномодулирующих препаратов (противоаллергический иммуноглобулин, тималин, тактивин, ликолипид, миелопид, нуклеинат натрия, панавир, изоприназин, гепон, анаферон, виферон) при лечении АтД [31]. Вместе с тем, отсутствие у данных препаратов направленного иммуномодулирующего эффекта ограничивает их широкое применение. Исключение составляют иммуномодуляторы полиоксидоний и рузам.

Было выявлено, что у 40% обследуемых пациентов с АтД в клиническом анализе крови отмечалась эозинофилия, у всех пациентов повышение концентрации IgE в сыворотке крови. Средние показатели IFN статуса составили (в ТБА): биологически активный $IFN\alpha/\beta$, продуцируемый лейкоцитами крови, - $186,7\pm 13,3$; $IFN\gamma$ $12,4\pm 1,04$; сывороточный IFN $9,2\pm 1,9$; спонтанный IFN $0,33\pm 0,23$. Следует отметить, что у пациентов в обострении выявлен повышенный уровень сывороточного IFN, наличие спонтанного IFN. Таким образом, выявление недостаточности биологической активности $IFN\alpha/\beta$ и $IFN\gamma$, продуцируемых лейкоцитами крови пациентов с АтД, наличие чувствительности/ответственности лейкоцитов к препаратам индукторов IFN и иммуномодуляторам дает основание считать целесообразным применение их в комплексной терапии АтД.

Иммунокоррекция для 28 пациентов с АтД, из которых 20 пациентов в стадии обострения (1-я группа) и 8 в стадии ремиссии (2-я группа); 15 пациентов в дополнении к базисной терапии (антигистаминные, детоксикационные, гипосенсибилизирующие

лекарственные средства) получали Циклоферон в инъекциях по 2,0 мл, в/м по схеме (дни инъекций 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23). Проведенная базисная терапия с циклофероном оказала благоприятный клинико-лабораторный эффект на течение заболевания с достоверной ($p < 0,05$) положительной динамикой биологической активности $IFN\alpha/\beta$ ($274,7 \pm 37,8$) и $IFN\gamma$ ($18,9 \pm 1,13$), продуцируемых лейкоцитами крови, с тенденцией к нормализации, а также нормализацией уровней сывороточного IFN и исчезновением спонтанного IFN в реакции *in vitro* после проведенного лечения (Таблица 3.20).

В результате клинических наблюдений за пациентами в течение 6 месяцев после окончания терапии получена выраженная положительная динамика у всех пациентов, которые получали циклоферон в сочетании с базисной терапией ($n=15$). Отмечалось уменьшение количества обострений в 2 раза, увеличение продолжительности ремиссий (4-6 мес.), уменьшалась выраженность эритематозных проявлений и площади поражения. У пациентов, получавших только базисную терапию ($n=13$), также отмечалась положительная динамика после завершения курса терапии, но в мониторинге наблюдении клиническая картина не менялась (длительность ремиссий и количество обострений остались прежними).

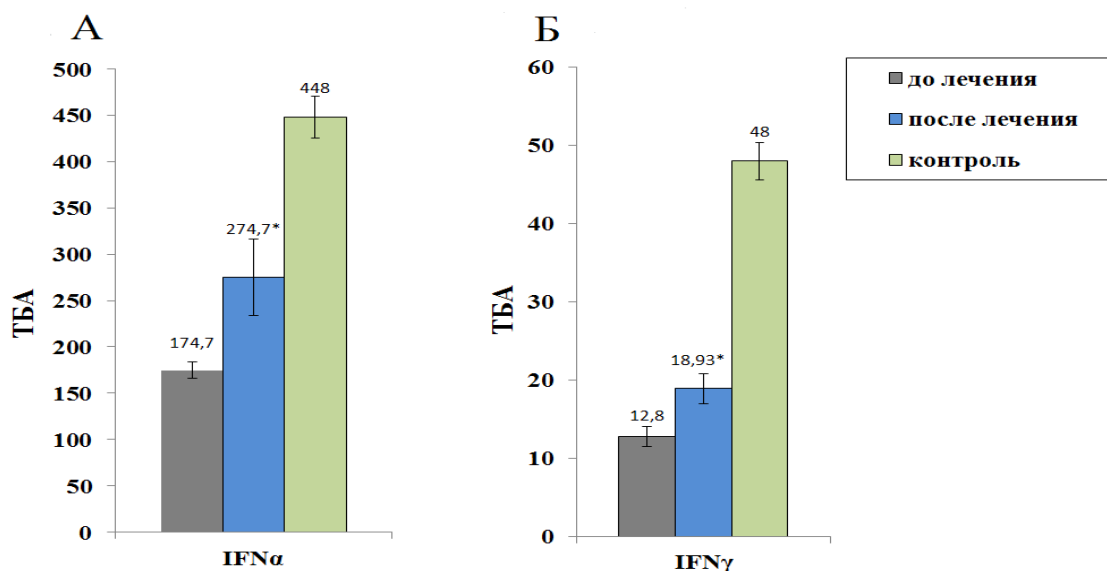
Таблица 3.20 – IFN статус у пациентов с АтД до и после терапии циклофероном

Группы	IFN статус, ТБА			
	Сывороточный IFN	Спонтанный IFN	$IFN\alpha$	$IFN\gamma$
До	$6,26 \pm 1,48$	$1,05 \pm 0,05$	$174,7 \pm 17,9$	$12,8 \pm 0,8$
После	$6,0 \pm 1,21$	0	$274,7 \pm 37,8^*$	$18,93 \pm 1,13^*$
Контроль	$8,0 \pm 3,0$	0	$448 \pm 7,8$	$48 \pm 4,2$
Норма	$5,0 \pm 3,0$	0	$960,0 \pm 320,0$	$128,0 \pm 64,0$

Примечание: *- $p < 0,05$ статистически значимые результаты после проведенного лечения в сравнении с показателями до лечения

Данные клинических наблюдений других авторов [153] свидетельствуют об эффективности препаратов IFN в патогенетической терапии аллергических болезней кожи. Из описанных выше данных нельзя исключить возможность назначения циклоферона пациентам с АтД при наличии показаний.

Как видно из Рисунка 3.24, положительная динамика ($p < 0,05$) биологической активности IFN с тенденцией к нормализации, а также нормализация активности IFN в сыворотке крови и исчезновение спонтанного IFN в реакции *in vitro* (IFN статус) отмечена после проведенного лечения с циклофероном. К тому же, следует отметить снижение уровней провоспалительных цитокинов, таких как $IL8$ и $IL6$, в сыворотке крови после лечения, с параллельным повышением содержания $IL2$ и $IFN\alpha$.



Примечание: * $p < 0,05$ отличия активности с показателями до лечения

Рисунок 3.24 – Биологическая активность $IFN\alpha/\beta$ и $IFN\gamma$ (ТБА) лейкоцитами крови у больных АтД до и после лечения.

При АтД развивается IFN дефицит, особенно активности $IFN\gamma$, продуцируемых лейкоцитами крови. На фоне IFN дефицита могут чаще возникать обострения АтД. Включение в базисную терапию индукторов IFN представляется целесообразным. Иммунорегуляторные свойства циклоферона опосредуются через активацию $IFN\gamma$. Ранее показано, что применение циклоферона достаточно эффективно у больных при хронических и рецидивирующих вирусных и бактериальных инфекциях и у больных с вторичным иммунодефицитным состоянием (герпетическая и цитомегаловирусная инфекции) [45, 83]. Терапия циклофероном актуальна и для пациентов с рецидивирующим АтД. Проведенное базисное лечение с циклофероном способствовало уменьшению количества обострений и увеличению продолжительности ремиссии у пациентов с АтД. К тому же, на фоне присоединения меглума акридоната (циклоферон) к базисной терапии у пациентов не наблюдалось обострений герпетической инфекции (*herpes simplex*) в течение 6 мес. периода наблюдения [35, 320].

Полученные новые знания о дисбалансе цитокинов при АтД дают возможность дополнительного критерия оценки степени тяжести этого непростого АЗ (сниженная противовирусная активность IFN I типа и особенно IFN II типа, продуцируемых лейкоцитами крови биологическим методом; повышенный уровень белков $IL8$ и $IL6$ в сыворотке крови, особенно значительный у больных с отягощением заболевания; сниженный уровень $IL2$) для дальнейшего воздействия терапевтических агентов. Спектры цитокинов при АтД отличаются от профилей, характерных для лиц с ГНТ I типа. Помимо активации цитокинов $Th2$ пути, при кожных АЗ, включая АтД, повышена продукция $Th22$ и некоторых $Th17$ цитокинов. При атопии важной является иммуномодулирующая функция IFN , с воздействием на клетки

иммунной системы, изменением продукции и секреции белков, функциональной активности лимфоцитов.

Таким образом, общие молекулярные механизмы АЗ включают Th2 поляризацию врожденного иммунитета с ростом продукции IL4, IL5 и IL13, дисбаланс Th1 цитокинов, включая все IFN, секрецию IgE, что обуславливает высокие частоты сочетанных аллергических и вирусных инфекций и возможность терапии с помощью иммуноактивных препаратов, таких как IFN и их индукторы.

3.5 Особенности системы интерферонов при аутоиммунных заболеваниях

Th1 поляризация врожденного иммунитета, необходимая для элиминации внутриклеточных инфекций с участием Т-клеточного адаптивного иммунитета, может ассоциироваться с аутоиммунными заболеваниями (АИЗ). IFN продуцируются непосредственно после контакта с патогенами при презентации с МНС I типа и индуцируют каскад ISG. Исследования особенностей системы IFN при АИЗ необходимы для персонализированной оценки рисков иммунопатологий и выбора стратегии иммунокоррекции.

3.5.1 Исследование системы интерферонов у пациентов с диагнозом рассеянный склероз

При аутоиммунных заболеваниях нами показана повышенная экспрессия IFN α , β , λ в лейкоцитах крови, высокие концентрации белков IFN β и γ в сыворотке крови больных рассеянным склерозом (РС).

Проведен мониторинг показателей IFN α , β , γ , λ у больных РС до и в процессе терапии препаратом IFN β -1a посредством ОТ-ПЦР-РВ (Таблица 3.21), ИФА (Рисунок 3.25) и определения биологической активности IFN α и IFN γ (Рисунок 3.26) [8, 400].

Следует отметить достоверно повышенные в 10 и более раз уровни экспрессии генов IFN I типа (α/β) и III (λ) типа у больных РС в лимфоцитах крови до лечения по сравнению с контрольной группой здоровых людей (Таблица 3.21).

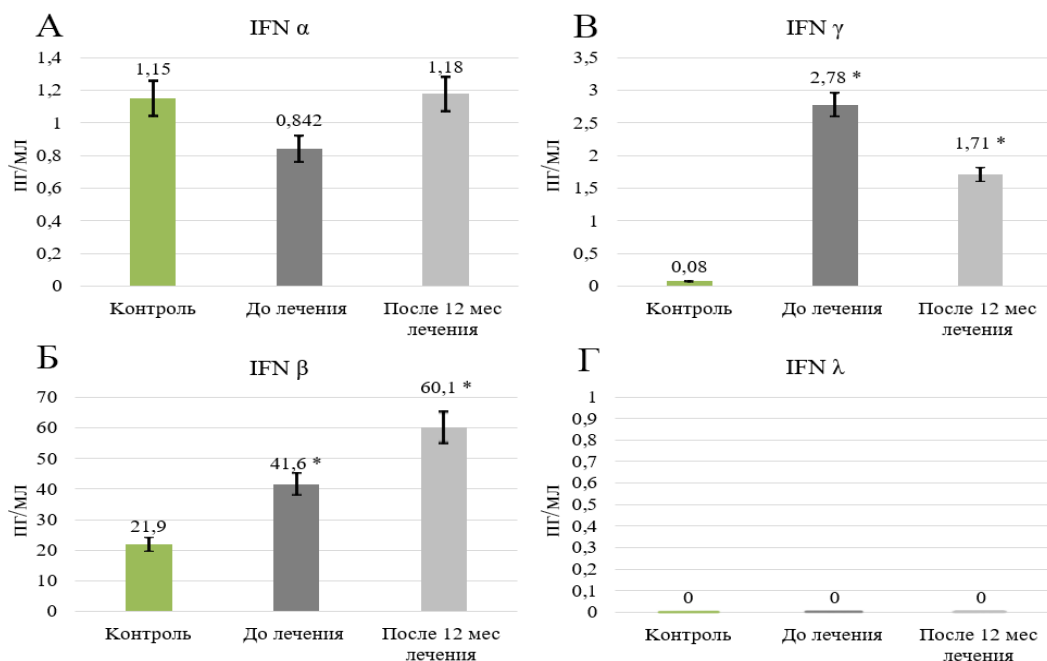
В лимфоцитах крови больных РС до лечения выявлены повышенные количества мРНК IFN I и III типов по сравнению с контрольной группой доноров; в сыворотке крови – IFN γ . На Рисунке 3.25 представлены концентрации белков IFN 3-х типов у пациентов с РС и здоровых добровольцев: выявлены повышенные в 2 раза концентрации IFN β и IFN γ у больных РС по сравнению с группой практически здоровых ($p < 0,05$) (Рисунок 3.25; Б, В).

Таблица 3.21 – Сравнение частот детекции РНК и средних значений копий мРНК в 1 мл крови для IFN I, II, III типов, белка МхА и IL23 у больных РС и здоровых людей

	IFN α	IFN β	IFN γ	IFN λ	IL23	МхА
Доля (%) образцов, содержащих мРНК IFN, IL23, МхА						
Контроль	23,5 \pm 10,6	58,8 \pm 12,3	11,8 \pm 8,1	35,3 \pm 11,9	29,4 \pm 11,4	41,2 \pm 12,3
РС до лечения	81,8 \pm 12,2**	90,9 \pm 9,1*	18,2 \pm 12,2	81,8 \pm 12,2*	81,8 \pm 12,2**	54,5 \pm 15,7
РС после лечения						
3 мес	80,0 \pm 20,0	60,0 \pm 24,5	20,0 \pm 20,0	100	100	20,0 \pm 20,0
6 мес	60,0 \pm 24,5**	80,0 \pm 20,0	20,0 \pm 20,0	60,0 \pm 24,5	80,0 \pm 20,0	20,0 \pm 20,0
12 мес	54,5 \pm 15,7	72,7 \pm 14,1	45,5 \pm 15,7	90,9 \pm 9,1	81,8 \pm 12,2	18,2 \pm 12,2
>1 года	20,0 \pm 13,3**	30,0 \pm 15,3**	90,0 \pm 10,0***	90,0 \pm 10,0	100	80,0 \pm 13,3
>2 лет	12,5 \pm 12,5	100%	12,5 \pm 12,5	100%	100%	75 \pm 16,4
Количество геном-эквивалентов в 1 мл крови (среди положительных в ОТ-ПЦР-РВ образцов)						
Контроль	3*10 ¹	2,7 *10 ²	7,2*10 ⁵	6,2*10 ²	3,4*10 ²	1,2*10 ¹
РС до лечения	2,0*10 ³ ***	2,2*10 ³ **	2,0*10 ⁶	4,4*10 ³ ***	1,8*10 ⁴ **	1,7*10 ³ *
РС после лечения						
3 мес	3,0*10 ²	6,3*10 ²	4***	3,6*10 ³	1,0*10 ⁴	1,7*10 ²
6 мес	1,0*10 ³	4,8*10 ²	9,8*10 ⁵	2,2*10 ³	9,6*10 ²	1,3*10 ⁴
12 мес	8,3*10 ²	7,2*10 ¹ **	4***	2,7*10 ³	9,6*10 ²	2,0*10 ¹
>1 года	1,9*10 ⁴ **	3,6*10 ²	3,9*10 ⁶	9,4*10 ³	3,6*10 ²	8,4*10 ¹
Примечание: *- достоверность значений P<0,05; **- достоверность значений P<0,01; ***- достоверность значений P<0,001						

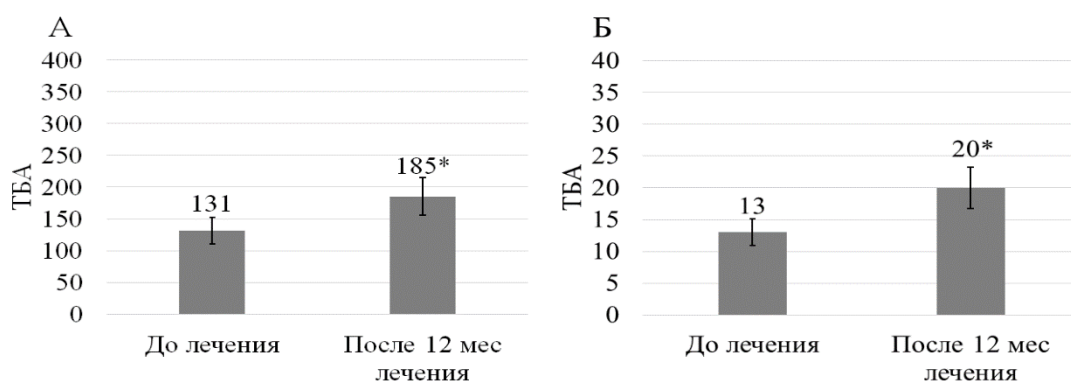
В исследовании Shajarian M.et al. выявлен значительно повышенный уровень IL23 в плазме у пациентов с РС по сравнению с контрольной группой (p<0,001) [381]. IL23 играет ключевую роль в развитии РС и может быть специфическим маркером и новой терапевтической мишенью для РС.

Обнаружен дисбаланс (p<0,05) в концентрациях белков IFN между больными РС и здоровыми людьми. Для коррекции дисбаланса целесообразно применение противовоспалительных цитокинов, таких как трансформирующий фактор роста (TGF) β , IL4 и регуляторного IL10 или антител, нейтрализующих провоспалительные цитокины, в том числе IFN γ [202, 360].



Примечание: Контроль - практически здоровые люди. РС - до и после лечения препаратом IFN β -1a
 Рисунок 3.25 – Определение продукции IFN I, II и III типов у больных РС до и после лечения по сравнению с группой здоровых добровольцев в сыворотке крови

При высоких уровнях белков IFN у больных РС выявлена функциональная недостаточность по противовирусной активности IFN. Анализ IFN статуса (Рисунок 3.26) выявил статистически значимые отличия ($p < 0,05$) показателей биологической активности IFN I и IFN II у больных РС по сравнению с контрольной группой практически здоровых людей. Лечение пациентов РС препаратом IFN β -1a способствует увеличению активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови (Рисунок 3.26).



Примечание: * $p < 0,05$ – статистически значимые различия показателей активности IFN после лечения по сравнению с исходными данными

Рисунок 3.26 – Изменение показателей IFN статуса у больных РС при лечении препаратом IFN β -1a

Таким образом, у больных РС вне обострения выявлены повышенные количества мРНК IFN α , β , λ , высокие уровни белков IFN β и IFN γ , сниженная функциональная биологическая

активность IFN I типа и IFN II типа, продуцируемых лейкоцитами крови ($p < 0,05$). Функциональная недостаточность IFN могла быть обусловлена нарушениями стимуляции ISG, необходимых для противовирусной активности IFN I типа.

У пациентов с различными формами РС (ремиттирующее течение, первично-прогредиентное течение (ППТ)) выявлены разной степени выраженности изменения биологической активности IFN, продуцируемыми лейкоцитами крови. У всех больных РС (Таблица 3.21) биологическая активность IFN по сравнению с группой практически здоровых людей была статистически значимо ($p < 0,05$) снижена: IFN α/β /IFN γ в 4,38 / 2,82 раз при ППТ; в 5,49 / 3,1 раз в стадии обострения и в 3,24 / 2,4 раз в стадии ремиссии ремиттирующей формы заболевания. Следует отметить, что наиболее значительное снижение биологической активности IFN I и II типа определялось в стадии обострения ремиттирующей формы РС. Показатели биологической активности IFN в сыворотке крови и спонтанного IFN в реакции *in vitro* у обследованных больных РС за исключением единичных случаев были в пределах физиологической нормы.

Как известно, у больных РС повышены уровни антител к основному белку миелина (ОБМ), в Таблице 3.22 отражены концентрации антител к ОБМ у больных с разными формами течения РС.

Таблица 3.22 – Средние показатели биологической активности IFN α/β и IFN γ , продуцируемых лейкоцитами крови, и средние концентрации антител к ОБМ у больных с разными формами течения РС (M \pm m)

Показатели	Первично-прогредиентная форма течения РС (n=16)	Стадия обострения ремиттирующего течения РС (n=20)	Стадия ремиссии ремиттирующего течения РС (n=45)	Практически здоровые люди (референсные значения) (n=25)
IFN α/β (ТБА)	219,4 \pm 79,84***	174,95 \pm 48,8***	296 \pm 50,49***	960,0 \pm 320,0
IFN γ (ТБА)	33,58 \pm 9,92*	30,61 \pm 6,48***	39,67 \pm 9,58*	96,0 \pm 32,0
Сывороточный IFN (ТБА)	3,9 \pm 0,6	4,6 \pm 0,6	5,0 \pm 0,6	5,0 \pm 3,0
IgG антитела к ОБМ (мкг/мл)	991,67 \pm 306,45**	341,8 \pm 88,39**	359,6 \pm 58,33***	96,0 \pm 16,1
Примечание: *** $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,1$ – статистически значимое различие по сравнению с практически здоровыми людьми				

Содержание IgG-антител к ОБМ у больных РС с любой формой течения заболевания было достоверно повышено ($p < 0,05$) (Таблица 3.22). Причем, при ППТ высокий уровень антител почти в 3 раза превышал таковой при ремиттирующей форме.

3.5.1.1 Влияние иммуноактивных препаратов на систему интерферонов при рассеянном склерозе

Патогенетическое лечение РС направлено на купирование аутоиммунного воспалительного процесса и уменьшение скорости нарастания нейродегенеративных изменений. К ПИТРС относятся препараты IFN β , способствующие достижению и продлению ремиссии; улучшению неврологических функций; коррекции нарушений со стороны систем IFN [139].

До лечения препаратом IFN β -1a (Генфаксон) у больных РС выявлены повышенные количества не только мРНК IFN α , β , λ и IL23, но и высокие уровни белков IFN β и IFN γ при функциональной недостаточности биологической активности IFN I и IFN II (Таблица 3.21, Рисунок 3.25, Рисунок 3.26). В результате лечения препаратом IFN β -1a все пациенты в течение длительного периода наблюдений более 1 года находились вне фазы обострения РС с сохранением неврологического статуса по показателю EDSS. В процессе длительного лечения показано снижение экспрессии генов IFN I типа со стабилизацией показателей, близких к контрольной группе практически здоровых людей (Таблица 3.21). Показатели IFN статуса больных РС после лечения имели тенденцию к значениям практически здоровых людей ($p < 0,05$) (Рисунок 3.26) [8, 159, 400].

Для контроля эффективности лечения РС может быть рекомендован мониторинг системы IFN. Рост концентрации IFN β в процессе лечения может быть обусловлен как накоплением препарата IFN β -1a, так и индукцией экспрессии гена. Лечение РС препаратом IFN β -1a обеспечивает стабилизацию неврологического состояния.

Лечение препаратом IFN β -1a (Ребиф) проведено 35 пациентам с ремиттирующим течением РС (EDSS (2,6 \pm 0,2)). Методом ИФА определено снижение концентрации IFN γ в сыворотке крови больных после лечения ($p < 0,05$) (Таблица 3.23).

Таблица 3.23 – Концентрации цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови у больных РС при лечении препаратом Ребиф

Лечение /Цитокины	IFN γ	TNF α	IL4	IL6
До	49,5 \pm 18,4	92,2 \pm 67,7	93,5 \pm 42,9	0 \pm 0
После	10,5 \pm 5,2*	63,9 \pm 31,1	11,8 \pm 5,5	130,1 \pm 54,2*
P	0,015	0,477	0,067	0,027
Примечание: p - статистически значимые данные после лечения Ребифом 22/44 по сравнению с данными до лечения; *- $p < 0,05$				

На фоне лечения оценивали динамику выраженности неврологического дефицита по шкале инвалидизации EDSS и количества обострений в течение 1 года в сравнении с исходными данными. В группе больных РС с ремиттирующим течением в стадии ремиссии

EDSS до лечения составил $2,48 \pm 0,1$ балла, после лечения $2,48 \pm 0,1$, однако, среднее количество обострений за 1 год снизилось с $1,8 \pm 0,1$ до $0,38 \pm 0,1$ ($p < 0,05$). Индивидуальный анализ в данной группе пациентов выявил стабилизацию неврологического статуса у 30 человек, улучшение неврологической симптоматики у 3 и ухудшение у 2.

В Таблице 3.24 представлен мониторинг показателей IFN статуса при лечении больных РС в течение 1 года препаратом IFN β -1a (Ребиф).

У больных РС с ремиттирующим течением, получавших длительно иммуномодулирующую терапию препаратом Ребиф, отмечена стабилизация неврологического статуса и снижение частоты обострений.

Таблица 3.24 – Клинико-иммунологические показатели при РС в процессе терапии IFN β -1a

Показатель		Значения
Среднее количество обострений за 1 год	до лечения	$1,8 \pm 0,1$
	после лечения	$0,3 \pm 0,1^*$ ($p < 0,05$)
EDSS, балл	до лечения	$2,4 \pm 0,1$
	после лечения	$2,4 \pm 0,1$
Сывороточный IFN (ТБА)	до лечения	$5,9 \pm 0,9$ (норма: $< 2 - 8$)
	после лечения	$2,8 \pm 0,4$
IFN α/β (ТБА)	до лечения	$78 \pm 20,4$ (норма: ≥ 640)
	после лечения	$112,3 \pm 18,3$
IFN γ (ТБА)	до лечения	$16 \pm 2,3$ (норма: ≥ 64)
	после лечения	$13,7 \pm 2,1$

Учитывая полиэтиологичность заболевания РС, его лечение требует поиска новых методов терапии. Продолжается поиск препаратов, более физиологичных, чем введение больших доз IFN, позволяющих увеличить биологическую активность эндогенных IFN, продуцируемых лейкоцитами крови [54]. К достоинствам отечественных низкомолекулярных индукторов IFN относят их экономическую рентабельность и способность проникать через ГЭБ.

Для выбора индуктора IFN у 86 пациентов с РС до начала курса терапии в реакции *in vitro* определяли индивидуальную чувствительность лейкоцитов к индукторам IFN: амиксину, неовиру, циклоферону (глава 2). У 62,8% больных выявлена чувствительность лейкоцитов к индукторам IFN. Из них большая часть ($n=34$; 63%) находилась в стадии ремиссии ремиттирующей формы заболевания с индексом инвалидизации EDSS в 2,4 балла и была включена в группу терапии с индуктором IFN (группа №III). В группу комбинированной

терапии (№II) были включены больные (n=10; 19%) с ремиттирующим течением заболевания в стадии неполной ремиссии (EDSS=2,6 балла). Таким образом, 36 пациентов получали циклоферон, 10 - неовир, 8 – амиксин.

По результатам проведенного лечения клиническое улучшение отмечалось у больных всех групп (Таблица 3.25). Наиболее отчетливое улучшение с положительной динамикой неврологического статуса отмечено в группе больных №I, получавших впервые гормонотерапию при обострении РС, и в группе больных №III, принимавших индуктор IFN без комбинации с гормонотерапией, в стадии ремиссии ремиттирующего течения заболевания [30].

Таблица 3.25 – Мониторинг лабораторных (биологическая активность IFN, уровень IgG антител к ОБМ) и клинических (EDSS) показателей до и после лечения (M±m)

Группы	Лечение	Показатели			
		IFN α	IFN γ	IgG ОБМ	EDSS
I (n=15)	До	176,0±39,2	26,1±5,0	672,2±223,1	3,5
	После	270,0±66,6	32,8±7,3	402,3±112,5	2,6
II (n=10)	До	400,0±69,3	36,4±11,8	167,3±27,7	2,6
	После	150,0±31,9 ***	32,0±6,0	192,9±30,7	2,5
III (n=44)	До	214,9±22,9	40,3±5,4	356,0±33,63	2,4
	После	296,4±36,0*	32,8±5,7	243,0±35,79 ***	2,2
K (n=17)	До	230,6±34,9	40,5±8,0	599,1±103,9	1,9
	После	213,3±39,6	33,3±10,2	578,2±120,1	1,85

Примечание: *** P<0,05; * P<0,1 – достоверное различие показателей в процессе лечения

В группах больных с гормональной терапией (№I) и терапией с индуктором IFN (№III) (p<0,1) можно отметить увеличенную биологическую активность IFN α/β . Лечение гормонами (№I) или индукторами IFN (№III) способствовало уменьшению IgG-антител к ОБМ, тогда как в группе больных с комбинированной терапией (№II) такая корреляция не наблюдалась. Следует отметить, что при увеличении показателей биологической активности IFN α/β содержание IgG-антител к ОБМ уменьшалось.

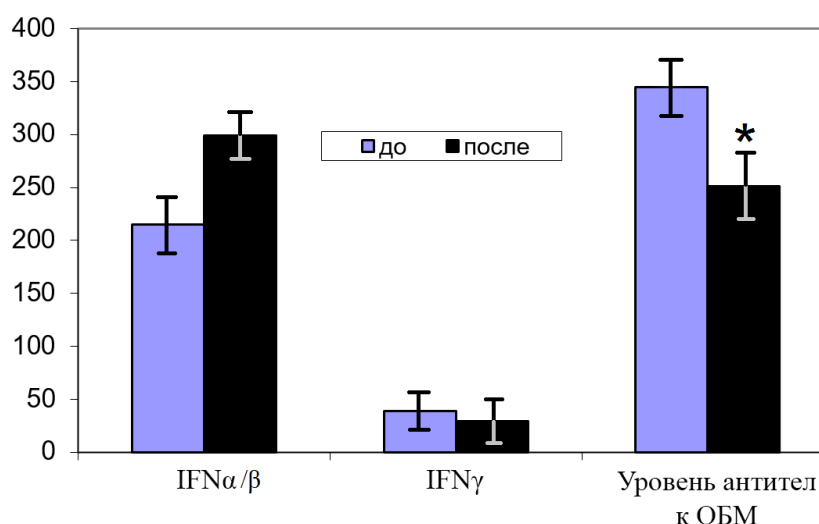
В контрольной группе пациентов с РС около 60% составили пациенты с ремиссией ремиттирующей формы заболевания (средняя длительность РС 3,6 года). Сосудистая терапия больным РС оказала незначительное влияние как на показатели IFN статуса, так и на уровень антител к ОБМ и EDSS.

Следует отметить, что в группе с гормональной терапией (№I) в основном находились больные в стадии обострения ремиттирующего течения (n=11; 73,3%) (средняя длительность РС 1,2 года) с необходимостью срочного купирования активного процесса. Таким пациентам назначали раннюю пульс-гормонотерапию. В ходе терапии выявлено увеличение показателей

биологической активности IFN I типа лейкоцитами крови, незначительное уменьшение индекса инвалидизации (в 1,3 раза) при уменьшении уровня антител к ОБМ. Однако, как показывают клинические наблюдения, многократные курсы гормонотерапии у одних и тех же больных в течение заболевания оказываются малоэффективными. Поэтому наличие в арсенале средств терапии больных РС эффективных иммунокорректоров, способных заменить гормоны (возможно временно), представляет исключительную важность.

В следующей группе больных (№II), имевших характер ремиттирующего течения заболевания в стадии неполной ремиссии (средняя длительность РС 1,36 года), применили индукторы IFN на фоне снижаемых доз гормонотерапии. После лечения, несмотря на сниженные титры $IFN\alpha/\beta$ ($400,0\pm 69,28/150,0\pm 31,85$; $p<0,05$), а также высокий уровень антител к ОБМ ($167,3\pm 27,71/192,9\pm 30,67$), коэффициент EDSS практически не изменился. По-видимому, отсутствие выраженного действия индукторов IFN в этой группе больных нивелируется гормонами. Известно, что кортикостероиды усиливают способность $CD4+$ Т-клеток к синтезу IL4, а последний ингибирует высвобождение таких цитокинов, как IL1, IL12, $IFN\gamma$ [285].

У больных в группе №III преобладали больные с ремиттирующим течением в стадии ремиссии ($n=34$) при средней длительности заболевания 3,4 года. Назначение этим больным индукторов IFN выявило увеличение биологической активности $IFN\alpha/\beta$ в 1,4 раза ($p<0,1$) при неизменной биологической активности $IFN\gamma$ ЛПК и снижении уровня антител к ОБМ в 1,5 раза ($p<0,05$) (Рисунок 3.27), что говорит о выраженном терапевтическом эффекте этих препаратов у больных ($n=34$, 77,3%) в стадии ремиссии ремиттирующего течения РС.



Примечание: По оси абсцисс: $IFN\alpha/\beta$ (ТБА) ($p<0,1$); $IFN\gamma$ (ТБА); уровень антител к ОБМ (мкг/мл) ($p<0,05$)

Рисунок 3.27 – Мониторинг показателей биологической активности IFN I и II типов ЛПК и уровня антител к ОБМ в процессе лечения индукторами IFN пациентов группы №III в стадии ремиссии ремиттирующего течения РС

15 больных с ремиттирующим течением РС в стадии ремиссии находились под наблюдением до и после лечения индуктором IFN в течение 1,3 года. Все больные имели до лечения 1 обострение заболевания в 4, 6, 8 или 12 месяцев. После проведенного лечения из 6 больных, имевших обострение в течение полугода, у 4 (66,7%) – отмечена длительная ремиссия в течение наблюдаемого периода. Среди 9 больных, имевших обострение заболевания в период с 6 до 12 месяцев, у 7 (77,8%) на фоне индукторов IFN, наблюдалась стабилизация неврологического состояния на протяжении 15 месяцев. Остальные 19 пациентов из группы терапии индуктором IFN (№III) с ремиттирующим течением РС в стадии ремиссии и имевшие до лечения 1 обострение в 18 месяцев (n=4), в 2 года (n=2) и более (n=13), после лечения индукторами IFN в наблюдаемый период не имели обострения заболевания. Долговременные наблюдения сроком в 4 года были у 3 пациентов, 12 лет – у 1 пациентки, которые получали циклоферон постоянно 2 раза в неделю и показали стабильность неврологического статуса. Таким образом, стабилизация клинического течения РС, улучшение параметров IFN статуса, снижение уровня антител к ОБМ были достигнуты и есть основание считать применение низкомолекулярного индуктора IFN циклоферона в качестве альтернативного подхода в лечении пациентов с ремиттирующей формой РС [169].

У большинства больных РС в процессе терапии была отмечена стабилизация неврологического статуса: улучшение двигательной функции, уменьшение координаторных нарушений, расстройств мочеиспускания, исчезновение нистагма, глазодвигательных и зрительных нарушений. Особого внимания заслуживает снижение частоты обострений и увеличение длительности ремиссий у больных, прошедших курс терапии индукторами IFN без применения гормональных препаратов. Оценка значений IFN статуса и антител к ОБМ в динамике выявила тенденцию к нормализации показателей после лечения. Использование в терапии РС низкомолекулярных индукторов IFN, таких как циклоферон, неовир и амиксин, позволило скорректировать имевший место дефицит активности $IFN\alpha/\beta$ и обеспечить позитивную динамику неврологического статуса больных на фоне снижения уровня антител к ОБМ.

Проведенное исследование позволило оценить состояние интерферонового и неврологического статусов больных РС с разными формами течения заболевания и предложить с помощью тестов индивидуальной чувствительности индукторы IFN в качестве потенциальных эффективных иммунокорректоров в комплексной терапии РС; отметить, что гормонотерапия в обострении заболевания является необходимым и жизненно целесообразным лечением снятия остроты воспалительного процесса. Препараты индукторов IFN в ремиссии воспаления поддерживают неврологическую стабильность, что подтверждается лабораторными

показателями в виде снижения уровня IgG ОБМ, а также стабильностью индекса инвалидизации EDSS.

Таким образом, при аутоиммунной патологии выявлено снижение активности IFN α/β , продуцируемых лейкоцитами крови, в 3,2 раза (от 1,7 до 4,9) и IFN γ в 3.3 раза (от 1,9 до 4,9) по сравнению с физиологической нормой ($p < 0,05$). Выявлен дисбаланс значений удельной активности при РС по сравнению с показателями здоровых добровольцев: увеличением по IFN α в 1,6 раз (267,9 и 170,3), снижением по IFN β в 7,9 раз (5,4 и 41,9) и по IFN γ в 21,3 раза (1,2 и 25,6), соответственно) ($p < 0,05$). В целом, у больных РС вне обострения заболевания выявлены достоверно повышенные в 10 и более раз уровни экспрессии генов IFN I типа (α/β) и III (λ) типа в лимфоцитах крови, высокие уровни белков IFN β и γ в сыворотке крови при функциональной недостаточности IFN. В результате лечения пациентов препаратом «IFN β 1a» в течение более 12 месяцев показано статистически значимое ($p < 0,05$) снижение экспрессии генов IFN I типа со стабилизацией показателей, близких к контрольной группе доноров; зарегистрирована стабилизация неврологического состояния. Была определена и выявлена сниженная биологическая активность IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при РС, ревматических заболеваниях (ревматоидный артрит (РА), системная красная волчанка (СКВ)) и псориазе (ПС) по сравнению с показателями активности при физиологической норме ($p < 0,05$). Хроническая несбалансированность активации Т-хелперных клонов приводит к развитию иммунопатологических состояний, в частности, связанных с проявлениями аутоиммунитета [74]. Такие ключевые молекулы воспаления, как IFN γ , TNF α , IL2, постоянно экспрессируются при РС. В противоположность этому, экспрессия Th2-молекул, таких как IL4, IL10, IL13, отсутствовала. Терапия препаратами IFN β , индукторами IFN приводит к коррекции клинико-лабораторного состояния больных.

3.5.1.2 Количественное определение связывающих и нейтрализующих антител, направленных к интерферону

Препараты IFN β -1a/1b, модулирующие Т- и В-клетки с подавлением воспаления и индукцией апоптоза дендритных клеток, являются наиболее распространённым средством патогенетического лечения РС при отсутствии этиотропного лечения [20, 287, 672]. Известно, что лечение IFN β снижает частоту клинических обострений примерно на 35% и задерживает прогрессирование инвалидности [631].

Для лечения рецидивирующе-ремиттирующего РС назначают препараты IFN β -1a/1b, которые входят в базисную терапию РС как ПИТРС. Хотя препараты IFN β и входят в число базисных с их постоянным применением, возникает проблема резистентности к терапии IFN β .

Поскольку рекомбинантные IFN β человека выделяют из трансфицированных культур эукариотических клеток, то эти белки являются гетерологичными антигенами для организма человека и индуцируют образование антител, вызывающих нейтрализацию и элиминацию рекомбинантных IFN. Существует проблема образования антител к длительно применяемому препарату IFN, так называемых связывающих (САТ) и нейтрализующих (НАТ) антител [119, 212, 301, 349, 492]. Считают, что САТ позволяют прогнозировать наличие или уровень НАТ, а белок CXCL-10 (C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10) также известный, как IFN γ -индуцированный белок 10 (IP-10)) - перспективный чувствительный биомаркер эффективности IFN β терапии и снижения ее эффективности антителами, блокирующими (нейтрализующими) IFN β [302]. Образование НАТ при РС возможно через 6-18 месяцев после начала лечения препаратами IFN β [137, 212, 301, 349, 492, 584, 585].

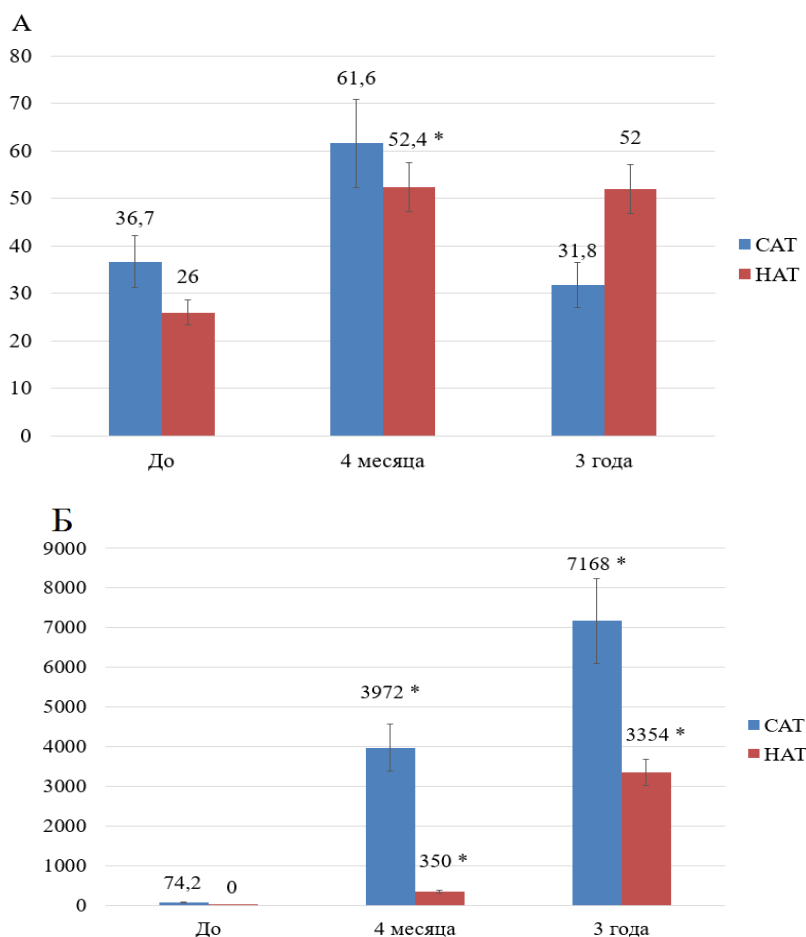
Следует отметить, что длительные курсы терапии препаратами экзогенного IFN могут приводить к побочным эффектам. Препараты IFN при длительном многократном применении при РС могут приводить к появлению антител против IFN, образование которых (в значительном количестве НАТ) способствуют снижению эффективности терапии [14, 110]. В настоящее время очень актуальным во всем мире является разрешение проблемы определения НАТ: сроки появления НАТ при терапии препаратами IFN β , динамика их нарастания во время лечения, возможная смена терапии.

Известно, что 30–50% пациентов с РС не реагируют на лечение IFN β [290]. Это связано с аберрацией в сигнальном каскаде IFN I [324, 336, 337, 378, 406, 517] или наличия и/или индукции ответов НАТ [361]. В частности, индукция НАТ представляет собой проблему, которая может превратить отвечающих на терапию на неответающих на терапию пациентов. Частота индукции IFN β -специфических гуморальных ответов в виде НАТ отличается среди препаратов и предположительно вызвана агрегатами, продуктами окисления, следовыми количествами, связанных с продуктом примесями и в меньшей степени различиями в аминокислотном составе и посттрансляционными модификациями препаратов [491, 649]. Учитывая, что лечение IFN β может быть связано с индукцией побочных эффектов, таких как гриппоподобные симптомы, потенциальное повреждение печени и психические побочные эффекты [533], хорошо бы иметь биомаркеры, различающие реагирующих и не реагирующих на лечение еще до начала лечения IFN β ; однако этого еще не имеется в наличии [119, 121, 427].

При IFN β лечении обнаружены не только противовоспалительные, но и Th1, Th17 связанные гены [272, 472]. Повышенные уровни IL17 были зарегистрированы в мононуклеарных клетках периферической крови, спинномозговой жидкости и при активных поражениях ЦНС у РС пациентов [332, 414]. IFN β усиливает индуцированный активацией апоптоз в клетках Th17, но не в клетках Th1. Это может быть объяснено повышенным уровнем

экспрессии рецепторов IFN I в клетках Th17 по сравнению с Th1 клетками [625]. В организме человека IFN β индуцирует Th2 сдвиг [427].

Используя разработанный методический подход «клетка-вирус» [129], выявлено количественное содержание НАТ к применяемым пациентами препаратам IFN β -1a (А) или IFN β -1b(Б) в лабораторных нейтрализующих единицах (НЕ) (Рисунок 3.28).



Примечание: * -P< 0,05 статистически значимые отличия в динамике лечения.

Рисунок 3.28 – Уровни САТ и НАТ в динамике лечения больных РС препаратами IFN β -1a (А) и IFN β -1b (Б)

На Рисунке 3.28 представлены выявленные концентрации САТ и НАТ, которые появляются в процессе лечения препаратами IFN β [110], как IFN β -1a (А, n=18), так и, особенно, IFN β -1b (Б, n=24).

Отмечен интервал показателей от 40 НЕ до 15000 НЕ. У каждого третьего пациента при такой терапии отмечались высокие показатели НАТ, что отражалось в снижении эффективности терапии в данной подгруппе. Вероятность образования НАТ увеличивается в течение более длительного применения препаратов IFN β . Высокое содержание НАТ в сыворотке крови и подтвержденное МРТ обострение РС в виде очагов визуализации служат основанием для смены терапии.

Определение уровней САТ (метод ИФА) и НАТ (биологический культурально-вирусологический метод) в процессе лечения препаратами IFN β -1a и IFN β -1b выявило следующее. В контрольной группе здоровых добровольцев выявлены в незначительном количестве «фоновые» САТ (22,4 \pm 2,5 ВТУ); НАТ не обнаружены. Связывающие белки имелись у пациентов РС еще до начала исследуемой нами терапии препаратами IFN β , их значение больше фонового, т.к. пациенты уже принимали ПИТРС. И их количество нарастает в динамике длительности лечения, особенно IFN β -1b, или же могут снижаться (IFN β -1a), но не ниже фоновых значений (Рисунок 3.28, Таблица 3.26).

Таблица 3.26 – Показатели САТ и НАТ при терапии препаратами IFN β -1a и IFN β -1b

Антитела		Препарат	
		Генфаксон (IFN β -1a)	Ронбетал (IFN β -1b)
САТ	до лечения	36,7 \pm 8,89	74,2 \pm 38,2
САТ	через 4 мес терапии	61,6 \pm 19,6	3972 \pm 575 *
САТ	через 36 мес терапии	31,8 \pm 9,8	7168 \pm 2226 *
НАТ	до лечения	26 \pm 4,8	0
НАТ	через 4 мес терапии	52,4 \pm 7,9 *	350 \pm 78 *
НАТ	через 36 мес терапии	52 \pm 13,5	3354 \pm 1671 *

Примечание: контроль 20 практически здоровых человек; САТ=22,4 ВТУ; НАТ=0 НЕ.
*P<0,05 – статистически значимые отличия по сравнению с исходными значениями

В отношении НАТ следует отметить схожую картину, более выраженную при лечении IFN β -1b (Ронбетал), как более иммуногенного препарата. Наличие НАТ до лечения препаратом IFN β -1a (Генфаксон) в исходной точке объясняется тем, что не все пациенты были в дебюте заболевания и уже применяли IFN β -1a (Ребиф). У больных РС до лечения IFN β -1a САТ от 11 до 171 ВТУ; через 6 мес. лечения от 45 до 264 ВТУ; через 12 мес. лечения от 26 до 232 ВТУ. После 8-летнего применения других препаратов IFN β -1a до лечения препаратом Генфаксон у 1 пациента из 18-ти (5,6% \pm 5,6%) детектировали САТ (1960 ВТУ) и НАТ (2000 НЕ).

В Таблице 3.27 отражены исследования определения количества НАТ в сыворотках крови от 40 пациентов РС (РРС=35 (EDSS=2,96 \pm 1,14), ВПТ=5 (EDSS=6,2 \pm 0,3)) и продолжительностью заболевания 7,6 \pm 4,9 лет, находящихся на терапии препаратами IFN β : IFN β -1a (Генфаксон) и IFN β -1b (Инфибета, Ронбетал). Отмечена прямая зависимость повышения уровня НАТ в сыворотке крови у пациентов с резистентностью к терапии.

Таблица 3.27 – Выявление НАТ к препаратам IFN β -1a и IFN β -1b при терапии РС

Препарат	Количество пациентов	Длительность приема (в годах)	НАТ+ Качественный анализ	НАТ+ Количественный анализ (НЕ)
9,6 млн МЕ Инфибета	15	2,2 (16 мес-3,6 г)	1 (5 β 1a + 2 β 1b)	2500
8 млн МЕ Ронбетал	7	1,5	4 // 2	1000 // 22000
22/44 мкг Генфаксон	18	2,0 (0- 3 года)	1 (5 β 1a + 3 β 1a)	2000

Пациенты длительно применяли препараты рекомбинантного IFN β . IFN β -1b в дозе 8 млн МЕ применяли 7 пациентов в среднем 1,5 года; IFN β -1b в дозе 9,6 млн МЕ - 15 пациентов, 2,2 года; IFN β -1a в дозе 22/44 мкг - 18 пациентов, в среднем в течение 2 лет. В подгруппе из 7 человек (IFN β -1b) было выявлено 6 НАТ-положительных пациентов с высоким уровнем нейтрализующих антител, в среднем 12000 НЕ. Из них у 2-х пациентов с EDSS по 5,5 баллов выявлены уровни НАТ в 16000 и 28000 НЕ. В подгруппе пациентов (n=15), принимающих IFN β -1b в дозе 9,6 млн МЕ, выявлен 1 НАТ-положительный пациент с уровнем НАТ, составляющим 2500 НЕ. Следует отметить, что длительность нахождения пациента на этом препарате составила 1 год и 9 месяцев, однако, ранее в течение 5 лет он принимал IFN β -1a терапию [121]. Группа (n=18) пациентов принимали IFN β -1a в дозе 22/44 мкг, в среднем в течение 2 лет. У 1 из 18 пациентов этой подгруппы выявлены антитела, нейтрализующие действие препарата (5,6%). Однако, как выяснилось, на IFN β -1a терапии он находился в общей сложности 8 лет.

Таким образом, тестирование НАТ является одним из важнейших компонентов помощи больным РС, поскольку оно обеспечивает информацию об одном из наиболее важных факторов, определяющих клиническое реагирование на IFN β терапию. Данные нашего исследования показывают, что вероятность образования НАТ оказалась выше у пациентов с IFN β -1b терапией, а также увеличивается в течение более длительного применения IFN β препаратов.

В настоящее время в России зарегистрированы и применяются препараты ПИТРС «первой» линии. Вопрос о возможностях перевода пациента в рамках данной линии с препаратов IFN β остается открытым. НАТ против IFN β возникают в результате нарушения иммунотолерантности, ассоциированной с процессами повторного представления антигена. Эффекторами иммунного ответа на введение терапевтических препаратов IFN β выступают НАТ, блокирующие активность молекул IFN на этапе их связывания со специфическими рецепторами. Целью следующей работы было исследование изменения течения демиелинизирующего процесса при переводе пациентов на терифлуноид с других препаратов

ПИТРС 1й линии. Терифлуномид - селективный иммунодепрессант, избирательно ингибирующий митохондриальный фермент дигидрооротатдегидрогеназу, необходимый для синтеза пиримидина, что приводит к блоку пролиферации стимулированных лимфоцитов и к уменьшению числа активированных лимфоцитов в ЦНС. В 2017 г. 13 пациентов Центра РС Московской области получали лечение препаратом терифлуномид (1 таблетка 14 мг ежедневно), из которых 11 пациентов до назначения терифлуномида получали такие иммуномодуляторы 1 ряда как глатирамера ацетат и IFN β от 1-го до 4-х лет и имели нежелательные реакции (местные в 100% случаев и 46% генерализованные). Кроме того, у большинства пациентов (8 из 11) в течение года, предшествующего назначению нового препарата, отмечалось по 1 клиническому обострению, подтвержденных активными накоплениями контраста в очагах на МРТ, значительным уровнем НАТ к длительно применяемому препарату IFN β . 2 пациента ранее иммуномодулирующую терапию не принимали. В течение 1 года наблюдения у пациентов не отмечено прогрессирования неврологического дефицита, индекс EDSS после терапии не изменился. На фоне приема терифлуномида у 4х пациентов зафиксировано по 1 обострению за год: у 2 - на 3 и 4 мес. терапии и у 2 - на 8 и 10 мес. Нежелательные эффекты отмечены у 4х пациенток: у 3 - усиление выпадения волос в течение 1-2го месяца начала терапии и у 1 - повышение артериального давления в течение первых 2-х недель терапии. Контроль анализов крови проводился согласно медицинской инструкции, патологических отклонений показателей не отмечалось. Следует отметить, что нежелательные эффекты имели преходящий характер, и это может являться основным критерием перевода пациентов с других препаратов, изменяющих течение РС и применяющихся при неагрессивном течении заболевания. Таким образом, описаны результаты опыта переключения с длительно применяемых препаратов IFN β , к которым образовались нейтрализующие этот препарат антитела, на селективный иммунопрепарат с хорошей переносимостью, отмеченной у 70% пациентов [82].

Таким образом, благодаря разработанной нами биологической методике определения НАТ [128], имеется возможность количественного определения антител к препарату IFN β с возможностью оптимизации эффективности лечения.

3.5.2 Ревматические заболевания (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, болезнь Шегрена, болезнь Бехчета)

Для ревматических АИЗ характерно нарушение как врожденного, в том числе, системы IFN и других цитокинов, так и приобретенного клеточного иммунитета с подавлением функции экспрессии цитотоксических Т-лимфоцитов, обеспечивающих толерантность к собственным

белкам. В патогенезе ревматических заболеваний (РЗ), таких как системная красная волчанка (СКВ), ревматоидный артрит (РА), болезнь Шегрена (БШ), дерматомиозит, псориаз и др. важную роль играют провоспалительные цитокины IL1, IL6, TNF α и др. [575, 601] и IFN [332, 445, 469].

Известно также о важной роли РНК-, так и ДНК-содержащих вирусов в этиопатогенезе РЗ. К представителям РНК-содержащих вирусов относятся вирусы семейства *Paramyxoviridae* - вирус кори и вирус инфекционного паротита и др., к представителям ДНК-содержащих - вирусы семейства *Herpesviridae*, включающие цитомегаловирус (ЦМВ), вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), вирус опоясывающего лишая [522, 622]. Вирусы активируют иммунокомпетентные клетки, прежде всего, макрофаги и дендритные клетки (DC), Th1-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты, способствуя этим развитию острого, а затем и хронического воспаления, разрушению тканей, что приводит организм в конечном итоге к развитию аутоиммунных реакций.

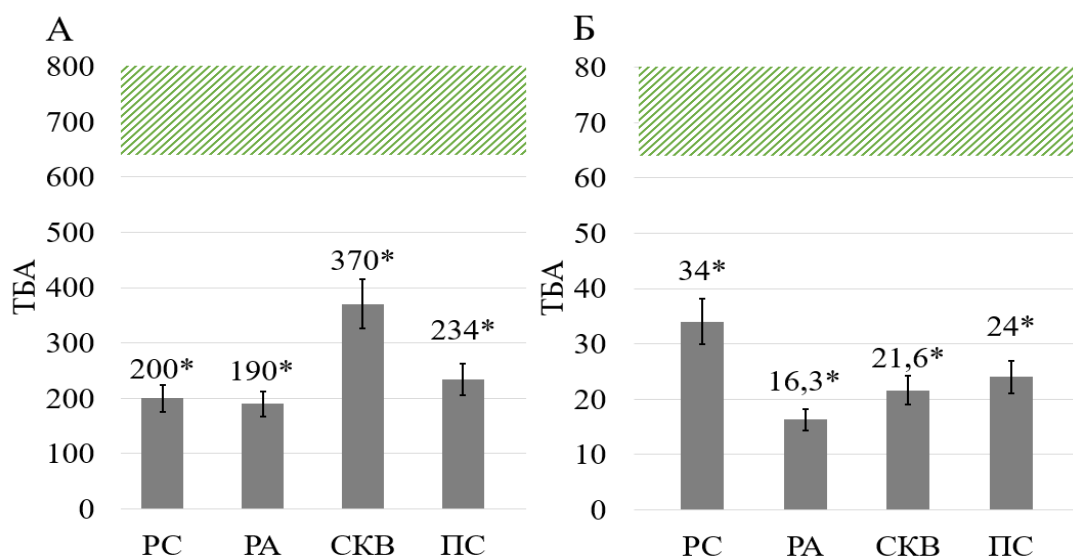
Индукцированные вирусами клетки синтезируют IFN, который подавляет стадии трансляции и разрушает информационные РНК вирусов, обеспечивая, тем самым, универсальный клеточный механизм противовирусного действия. Активация же антимикробных и противоопухолевых механизмов требует для своего осуществления стимуляции макрофагактивирующих факторов, таких как IFN γ и TNF α . Известно, что TNF α , IL1 и IFN γ потенцируют действие друг друга в отношении стимуляции миграции нейтрофилов и секреции кислородных радикалов. Все эти вирусы отличаются высокой контагиозностью и быстро развивающейся резистентностью к противовирусной терапии. В последние годы отмечено возрастание удельного веса оппортунистических вирусно-бактериальных инфекций, возникновение или реактивация которых связаны с угнетением иммунной системы и развитием вторичного иммунодефицита.

Проведенные исследования биологического материала выявили и подтвердили наличие вирусной инфекции у подавляющего большинства обследованных крови [45], а также дефицит биологической активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови при РА, СКВ, ББ и БШ, хронические формы которых, вероятно, связаны с персистирующей вирусной инфекцией. На IFN статус исследованы биообразцы от 187 пациентов с РЗ: из них 68 с РА и 75 с СКВ, 34 с БШ, 10 с ББ. Следует отметить, что больные РА и СКВ до поступления в клинику не менее 6 месяцев находились на иммуносупрессивной терапии цитостатиками и/или кортикостероидами (КС). К тому же, анамнестически удалось установить, что у $\frac{3}{4}$ пациентов рецидивировали респираторно-вирусные и герпетические инфекции (ЦМВ, ВЭБ, ВПГ 1-2 типов). Активную форму ЦМВ и ВЭБ инфекций методом ИФА диагностировали у 40% пациентов. У $\frac{1}{3}$ обследованных пациентов имело место сочетание антител Ig M ЦМВ и Ig G EA

ВЭБ. У половины обследованных больных с ранним РА (49,4%) и СКВ (29,2%) выявлены вирусные микст-инфекции семейства Herpesviridae (ЦМВ, ВЭБ, ВПГ 1-2 типов), что характерно для пациентов с вторичным иммунодефицитным состоянием [53, 122]. Как известно, развивающийся при герпетической инфекции вторичный иммунодефицит, характеризуется избирательным поражением клеток макрофагально-моноцитарного ряда, дефектом в системе IFN и других цитокинов как в период обострения, так и в ремиссии хронического заболевания [53, 141].

Выявлен однотипный характер изменения нарушений IFN статуса (Рисунок 3.29), выражающийся в снижении биологической активности IFN α/β , продуцируемого лейкоцитами крови, *in vitro* у 89% пациентов и IFN γ у 96% пациентов по сравнению с контрольной группой из 40 практически здоровых людей.

Повышенный IFN в сыворотке крови выявлен у 59% пациентов, особенно при БШ и СКВ, а также при РА. Обнаружение в высоких титрах антител к ВЭБ и ЦМВ сопровождалось изменением биологической активности IFN: повышением содержания циркулирующего IFN в сыворотке крови в сочетании с дефицитом противовирусной активности IFN I и II типов у больных с РЗ, что свидетельствовало об активации вирусной инфекции. Ввиду того, что РЗ часто осложняются развитием или обострением хронической вирусной инфекции, то не исключена возможность целесообразности включения противовирусной терапии и препаратов IFN в комплексное лечение [45].



Примечание: * $p < 0,05$ – статистически значимые отличия по сравнению с физиологической нормой (интервалы зеленого цвета). РС- рассеянный склероз; РА- ревматоидный артрит; СКВ- системная красная волчанка; ПС- псориаз

Рисунок 3.29 – Показатели активности (ТБА) IFN I (А) и II (Б) типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при аутоиммунных заболеваниях

Сходные изменения IFN статуса при РЗ указывают на единый механизм их возникновения. Показатели кратности снижения (K_c) биологически активного IFN I и II типов лейкоцитами крови отражены в Таблице 3.28.

Таблица 3.28 – Кратность снижения биологической активности IFN I и II типов при ревматических заболеваниях

	K_c IFN I	K_c IFN II
Ревматоидный артрит	3,4	3,9
Системная красная волчанка	1,7	3,0
Болезнь Шегрена	2,6	1,5
Болезнь Бехчета	4,3	1,7
Примечание: кратность снижения (K_c) биологической активности IFN это отношение нижней границы референсного значения к среднему показателю при заболевании		

Здесь уместно упомянуть близкие данные по выявлению нарушений IFN-генеза при рассеянном склерозе (РС) и успешного применения в его комплексном лечении препаратов IFN I типа (IFN β). Как известно, препараты IFN β являются в настоящее время общепринятым базисным вариантом терапии при рецидивирующей форме РС, снижая частоту обострений на 30% и более. Также показано, что IFN β замедляет динамику заболевания при вторично-прогрессирующем РС [78, 250].

Известно, что входящим в цитокиновую сеть белкам IFN отводится также важная роль медиаторов взаимосвязи между центральной нервной, эндокринной и иммунной системами. Любое проявление дисбаланса в продукции IFN может привести к нарушению нейро-иммуно-эндокринных взаимодействий, а в итоге к формированию патологического психофизиологического статуса организма. Постоянная же циркуляция в крови патологических типов IFN может привести к поломке по оси гипоталамус - гипофиз - органы внутренней секреции - иммунокомпетентные клетки и органы [54]. Нарушение связи IFN с опиатными рецепторами мозга, видимо, является одним из проявлений такого дефекта. Возможно, этим можно объяснить психическую манифестацию многих иммуноопосредованных заболеваний, в том числе СКВ, СПИД, что еще раз подтверждает участие системы IFN в развитии этих заболеваний.

IFN I типа индуцируют созревание и активацию дендритных клеток (DC), повышают экспрессию TLR2/3/4/7/8 в моноцитах/макрофагах, способствуют продукции Th1, повышению активности цитотоксических Т-лимфоцитов и усиливают активацию и дифференцировку плазматических клеток с усилением выработки антител. Поскольку IFN вносят вклад в развитие некоторых АИЗ, в частности, СКВ, возможен новый терапевтический подход для их лечения, используя знания о взаимосвязи TLR и IFN [63, 629, 662].

3.5.2.1 Терапия ревматических заболеваний препаратами интерферонов и другими иммуномодулирующими препаратами

Существует необходимость коррекции IFN статуса иммуноактивными препаратами экзогенного IFN и/или стимуляции эндогенного IFN с помощью индукторов IFN для нормализации показателей функциональной активности системы IFN, т.к. полученные данные свидетельствуют о сниженных значениях биологической активности IFN I и II типов при ревматических заболеваниях. Имеется успешный опыт с положительным клиническим эффектом применения экзогенных препаратов IFN α и IFN γ в НИИР РАМН, как базового препарата в комплексной терапии РА, СКВ, БШ, ББ [16, 47, 197, 496], который является подтверждением участия системы IFN в развитии АИЗ. Лечение приводит к нормализации показателей функциональной биологической активности системы IFN и основных характерных показателей АИЗ, что в целом выражается в благоприятном клиническом состоянии больных. Однако указанные изменения (корректирующий, нормализующий эффекты) сохранялись только в течение курса лечения, а по прекращении его возвращались к исходным показателям, что говорит о возможной генетической детерминированности дефицита IFN у таких больных.

Так, препараты IFN можно рассматривать как перспективные средства терапии АИЗ. Индукторы эндогенного IFN, как препараты с универсальной противовирусной направленностью действия, также имеют возможность включения в комплексную базовую терапию РЗ. Так, авторами [98] было показано, что индукторы IFN замедляют развитие аутоиммунных нарушений у экспериментальных животных и позволяют предположить целесообразность применения индукторов IFN на ранних сроках развития аутоиммунных нарушений.

Разработка методов иммунокоррекции препаратами индукторов эндогенного IFN в комплексной базовой терапии является альтернативным путем IFN терапии и одним из перспективных направлений комплексной терапии РЗ [98, 494]. Эти препараты лишены основных недостатков экзогенных IFN. Так, низкомолекулярный индуктор IFN циклоферон индуцирует продукцию IFN α/β , ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов (IL8, TNF α) [50]. Действительно, применение циклоферона (инъекционной и таблетированной форм) при РА выявило эффективность иммуномодулирующего и корректирующего действия препарата на IFN статус, причем, можно отметить, что при изначальном дефиците биологической активности IFN I и II типов, система IFN реагировала нормализацией показателей α - и γ -звеньев. Первоначальная же менее значительная недостаточность показателей системы IFN по α - и γ -звеньям вела к умеренно высоким значениям. На фоне комплексной длительной поддерживающей терапии с индуктором IFN положительная динамика некоторых клинических

показателей (общего самочувствия больных, счета боли, индекса Ричи, суставного счета, продолжительности утренней скованности) наблюдалась у значительного количества больных [197]. Показано результативное применение амиксина при СКВ в разных дозировках, приводящий к положительной динамике клинических показателей и с тенденцией к нормализации IFN статуса. Показано успешное применение иммуномодулятора полиоксидония при РА [46], который был включен в базисную терапию 10 пациентам со средней длительностью заболевания 9 лет, получавшим ранее лечение нестероидными противовоспалительными препаратами. Так, под действием препарата отмечена нормализация показателей IFN статуса в 30% случаев. Тенденция к нормализации с увеличением в основном показателей биологически активных $IFN\alpha/\beta$ в 2-4 раза или $IFN\gamma$ установлена еще у 40% пациентов. В одном случае показатели IFN статуса оставались без изменения, подтвердив предварительную неответственность лейкоцитов пациентки к препарату в реакции *in vitro*. Полученные данные коррелировали с показателями облегчения суставного синдрома (утренняя скованность, индекс Ричи, болевой синдром), что подтверждалось положительными значениями УЗ исследований в динамике. Таким образом, пациентам с РА показана коррекция IFN статуса не только препаратами IFN, индукторами IFN, как установлено нами ранее, но и препаратами - иммуномодуляторами (полиоксидоний). Являясь регуляторами клеточного гомеостаза в организме, IFN и их индукторы с активной выработкой эндогенного IFN оказывают положительный клиничко-лабораторный эффект при лечении ревматических заболеваний.

В целом, резюмируя сведения последних лет, следует признать важную роль иммунных нарушений в развитии АИЗ. Исследование системы цитокинов, отражающей функциональную активность иммунокомпетентных клеток, позволяют на более высоком иммунобиохимическом уровне уточнить многие механизмы иммунопатогенеза при аутоиммунитете, необходимые для целенаправленной профилактики и терапии больных с АИЗ. На сегодняшний день можно считать, что система IFN играет главенствующую роль в процессах противовирусного иммунитета, особенно в качестве первой линии обороны организма. Но далеко не все многообразие участия системы IFN, как в процессах иммунитета, так и в жизнедеятельности организма в целом, выявлено и изучено. Максимальный клинический эффект может быть получен при рациональной комплексной терапии лекарственных средств с различным механизмом действия.

3.5.3 Исследование интерферонового статуса при псориазе

Этиопатогенез псориаза до сих пор неясен, но есть доказательства того, что многие цитокины, высвобождаемые кератиноцитами и воспалительными лейкоцитами, могут способствовать индукции или сохранению воспалительного процесса при псориазе.

Система IFN исходно менее изучена при псориазе [490, 663], но стали появляться работы, в которых было показано, что в сыворотке крови пациентов с псориазом значительно повышен уровень IFN γ [442]. В мышинной модели псориаза отметили, что при внутривенном введении мезенхимальных клеток они подавляют функцию нейтрофилов и продукцию IFN I плазмоцитоподобными дендритными клетками, таким образом способствуя достижению терапевтического эффекта: уменьшению клинических проявлений, инфильтрации кожи воспалительными клетками и гиперэкспрессии провоспалительных цитокинов [442]. Псориаз - это хроническое аутоиммунное заболевание кожи, которое часто может быть вызвано повреждением кожи, известное как феномен Кебнера. Предполагается, что IFN I типа (IFN α и IFN β), ключевые цитокины, которые активируют аутоиммунитет при вирусной инфекции, также играют незаменимую роль в иницировании псориаза при повреждении кожи [675].

Для исследования роли IFN при псориазе было проведено исследование: взяты биопробы от 60 пациентов с прогрессирующей стадией псориаза, длительностью заболевания не менее 5 лет и рецидивами не менее 2 раз в год. Противовирусную активность IFN определяли до (Рисунок 3.29) и после лечения. Нарушения системы IFN при псориазе выражались в снижении противовирусной активности IFN γ в 90% наблюдений, причем у 2/3 этих больных активность IFN γ составляла 16-32 ТБА, а у остальных – лишь 2-8 ТБА, составляя в среднем 23,4 ТБА. Сниженная биологическая активность IFN I типа (80-160 ТБА) определялась у 52,4% пациентов, у остальных он оставался в пределах физиологической нормы (320-640 ТБА), составляя в среднем 234,2 ТБА. В 43% случаев угнетение биологической активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, сочеталось с повышением активности IFN в сыворотке крови до 16-32 ТБА.

3.5.3.1 Применение индуктора интерферона при псориазе

Учитывая нарушения клеточного иммунного ответа в патогенезе псориаза и возможную роль инфекционных агентов в его этиологии, представлялось целесообразным применение в его терапии индуктора IFN циклоферона, как препарата с широким спектром противоинфекционного действия наряду с противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами. Объективным критерием эффективности проводимой терапии служили

клинические проявления заболевания и данные IFN статуса. Контрольные группы больных псориазом ((n=10 и n=20) получали лечение с помощью альтернативных (общепринятых или традиционных) методов лечения, включающих введение десенсибилизирующих и антигистаминных препаратов, витамины А и группы В. Наружно: индифферентные мази (2% салициловая мазь) и кремы (крем Унны, Геронтол). Выраженное клиническое улучшение (сохранившиеся дежурные бляшки без инфильтрации) и нормализация показателей IFN статуса при монотерапии циклофероном отмечено в 80% случаев. Динамика обратного развития клинических симптомов заболевания в процессе лечения циклофероном по схемам (по 2 мл, n=10) и (по 4 мл, n=20) имела определенные различия и была более эффективной при использовании больших доз циклоферона. У этих больных почти в 2 раза быстрее наблюдалось снижение зуда, уменьшение инфильтрации и шелушения, полное прекращение зуда, регресс высыпаний, и феномена Кебнера, а также улучшение общего состояния, сна и аппетита. Трансформация псориаза из прогрессивной стадии в стационарную у них также наступала в 2 раза быстрее. На протяжении 1 года наблюдения отдаленные результаты были прослежены у 11 больных. В процессе лечения циклофероном у них отмечались положительные результаты лечения (клиническое выздоровление и значительное улучшение). Как оказалось, ни у одного больного, получавшего лечение циклофероном, за это время наблюдения обострений псориаза не наблюдалось. Представляется интересным также и то, что у 4-х больных этой группы, у которых до начала лечения циклофероном преимущественно в зимний период времени года часто наблюдались простудные заболевания, после проведенного курса лечения циклофероном явлений ОРЗ на протяжении 1-го года наблюдения не отмечались [113, 157, 405].

Иммунозависимые заболевания протекают на фоне вторичной иммунной недостаточности [85, 133], для лечения которых необходима не только базисная терапия, но и препараты с иммуномодулирующими свойствами для регуляции иммунного ответа организма [48, 68, 70, 71, 179, 389]. В настоящее время отмечается нарастающая частота микробной нагрузки на организм человека и наличие современного спектра иммуномодулирующих препаратов играет важную роль в коррекции иммунных нарушений. Своевременно назначенное лечение в комплексе с иммуноактивными препаратами (интерфероны, индукторы интерферонов, иммуномодуляторы, препараты бактериальных лигандов) приводит к более эффективному клиническому выздоровлению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система IFN включает IFN I, II и III типов, кодирующие их гены, соответствующие специфические рецепторы, а также более 100 IFN-стимулируемых генов (interferon-stimulated genes (ISG)) и соответствующие белки с противовирусными, антипролиферативными, противоопухолевыми и иммуномодулирующими свойствами [389]. Для исследования системы IFN используют молекулярно-биологические, иммунологические и вирусологические методы с определением экспрессии генов IFN, продукции белков IFN, активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови. В настоящее время исследования системы IFN основаны преимущественно на применении одного метода молекулярной биологии или иммунологии [264]. Применение одного или двух методов не позволяет получать однозначные результаты из-за сложной регуляции врожденного иммунитета на уровне транскрипции, трансляции, посттрансляционного процессинга и модификации, а также вследствие влияния факторов регуляции продукции IFN и продуктов генов, стимулируемых IFN, входящих в систему IFN, поэтому требуется комплексный анализ оценки экспрессии генов IFN, продукции белков и противовирусной активности IFN.

ОТ-ПЦР-РВ позволяет выявлять единичные копии в реакционных смесях с высокой специфичностью, определяемой зондом. Со времени начала данной работы до настоящего времени отсутствуют коммерческие наборы количественной ПЦР с флуоресцентно-гибридизационной детекцией продуктов в реальном времени для определения экспрессии генов IFN I, II и III типов. Исключение составляет набор для количественной ПЦР в реальном времени для определения рецептора IFN γ человека – IFNGR1 производства компании BioRad (США).

Для исследований системы IFN была разработана мультиплексная ОТ-ПЦР-РВ для определения РНК IFN α , β , γ и λ , которая позволяет не только качественно определять наличие мРНК IFN, но и проводить количественные оценки в норме и при патологии [130].

Методы ИФА и xMAP позволяют оценить уровни продукции белков IFN трёх типов в норме и при различных ИЗЗ для более полного анализа полученной информации о системе IFN.

Для определения противовирусной активности вместо традиционно используемой диплоидной культуры тканей эмбриона человека клетки почки африканской зеленой мартышки Vero были адаптированы к культивированию в бессывороточной питательной среде Гибрис-1-П производства ПанЭко [131], которая обеспечивает воспроизводимость результатов, значительное снижение рисков контаминации и более низкую стоимость питательных сред

[167]. При этом чувствительность клеток Vero, культивируемых на бессывороточных средах, к IFN I и II типов сохраняется при неограниченной способности к пассированию.

Помимо ОТ-ПЦР-РВ описаны альтернативные молекулярно-генетические методы для количественного определения всех подтипов IFN I и III типов с помощью флуоресцентных зондов «молекулярных беконов» и ковалентно замкнутых нуклеиновых кислот locked nucleic acid (LNA) [315].

В настоящее время исследования системы IFN основаны преимущественно на применении одного из методов молекулярной биологии или иммунологии. Так, профили экспрессии генов 21 подтипа IFN α исследовали методом количественной ОТ-ПЦР-РВ при вирусной инфекции и последующих неврологических осложнениях [264]. Для мониторинга не только иммунозависимых заболеваний и контроля их лечения, но и для оценки эффективности вакцин и противоопухолевой терапии предложены праймеры и зонды для дифференциального определения различных подтипов IFN α [509].

Продолжается разработка новых методов детекции IFN с использованием биочипов, основанных на оптических и флуоресцентных методах детекции иммунных комплексов с применением антител и нуклеиновых кислот с использованием аптамеров [673]. Тест-системы на основе биосенсоров с использованием наноструктурированных материалов и микрофлюидных технологий позволяют минимизировать объемы реакционных смесей, сократив расход реактивов и время анализа, а также проводить индивидуальные медицинские анализы в удаленных районах без необходимости дорогостоящего оборудования и квалифицированного персонала.

Респираторные инфекции, вызванные РНК-содержащими вирусами, сопровождаются связыванием двухцепочечных вирусных РНК со специфическими клеточными рецепторами TLR3 в эндосомах и цитозоле инфицированных клеток, вследствие чего индукция экспрессии генов ранних цитокинов, включая все IFN, происходит быстрее и эффективнее по сравнению с инфекцией ДНК-содержащими вирусами и бактериями, у которых отсутствуют молекулярные мишени двухцепочечных РНК. Индукция врожденного и адаптивного иммунитета обычно приводит к полной элиминации внеклеточных вирионов и инфицированных клеток без персистенции возбудителей инфекции. Однако при респираторных инфекциях, вызванных РНК-содержащими вирусами, повышен риск цитокинового шторма с патологическими нарушениями защитных систем организма [284, 387, 415, 599, 614].

При респираторных вирусных инфекциях показаны отличия системы IFN в мазках носоглотки и в крови. У всех пациентов при гриппе показана экспрессия генов IFN β и IFN λ , РНК IFN γ присутствовала в 50% мазков при отсутствии РНК IFN α [67, 115, 126]. При инфекции коронавирусом SARS-CoV-2 обнаружена сниженная экспрессия IFN λ в мазках

носоглотки по сравнению со здоровыми добровольцами. Отмечают замедление синтеза IFN в носоглотке при COVID-19 [391].

Вирусные инфекции могут вызывать хроническое воспаление с возможными аллергическими или аутоиммунными осложнениями [455]. Th2 поляризация врожденного иммунитета с последующей индукцией преимущественно гуморального иммунитета не обеспечивает элиминации инфицированных клеток с внутриклеточными вирусными частицами и субвирионными компонентами, что приводит к длительной репродукции вирусов в инфицированных клетках с невозможностью проникновения специфических противовирусных антител.

Развитие и обострения бронхиальной астмы (БА) также могут быть вызваны респираторными вирусными инфекциями [345, 402, 551]. В 36,2±7,1 % образцов мазков больных БА в обострении детектировали риновирус человека, респираторно-синтициальный вирус, вирусы гриппа и парагриппа, а также аденовирус с высокими частотами смешанных инфекций в 35,7±13,3% образцов, содержащих вирусные нуклеиновые кислоты [18, 150]. Обнаружены отличия системы IFN при аллергических заболеваниях от ОРВИ, которые включали отсутствие РНК IFN β , выявление РНК IFN α в 58,3% образцов и РНК IFN λ - в 42,9% образцов индуцированной мокроты пациентов с БА, выявление функционального дефицита активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови [124]. Концентрации IFN γ значительно превышали значения, чем у здоровых добровольцев. Выявлено, что бронхолегочные и кожные аллергические заболевания сопровождаются однонаправленным снижением активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, более чем в 4 и 5 раз, соответственно, по сравнению с показателями нормы. Показатели удельной активности свидетельствуют о дефиците противовирусной защиты при астме и особенно при ОРВИ.

Напротив, повышенная экспрессия генов IFN с развитием преимущественно клеточного иммунитета может приводить к срыву иммунологической толерантности с развитием и осложнениями аутоиммунных заболеваний [34]. Нами выявлена повышенная экспрессия генов IFN (IFN α ($p<0,001$), IFN β ($p<0,01$), IFN γ и IFN λ ($p<0,001$)) в лейкоцитах крови пациентов с рассеянным склерозом (РС) по сравнению со здоровыми добровольцами, а также высокие концентрации белков IFN β и IFN γ в сыворотке крови. Выявлена пониженная противовирусная активность IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при РС в 3,2 и 1,9 раз по сравнению с группой здоровых добровольцев, соответственно ($p<0,05$) [8]. При РС отмечено компенсаторное перераспределение функций с повышенной удельной активностью IFN I типа с преобладанием IFN α . Несмотря на повышенные уровни IFN β в крови больных РС в результате лечения пациентов препаратом IFN β -1a в течение 3-х лет наблюдения отмечено снижение

экспрессии генов IFN α , β , белка IFN γ , увеличение активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, и течение заболевания без обострений.

Хронические заболевания с длительным применением высоких доз IFN β , в частности, при лечении РС, нарушают сложную систему регуляции врожденного и адаптивного иммунитета, приводят к патологиям во всех защитных системах организма (иммунной, нервной и эндокринной), и индуцируют образование IFN-связывающих и нейтрализующих антител [129, 361].

Лечение иммунозависимых заболеваний может быть основано на компенсаторной терапии при иммунодефицитах, в частности, при пониженных уровнях IFN на начальных стадиях инфекций и при аллергических заболеваниях, и на иммунокоррекции при избытке компонентов защитных систем при цитокиновом шторме, гиперовоспалении и при РС посредством гуманизированных моноклональных антител против цитокинов.

Препараты IFN используют в терапии респираторных вирусных инфекций [48, 66, 104, 194]. Прием IFN α -2b при подтвержденном COVID-19 приводил к значительному сокращению продолжительности обнаружения вируса в верхних дыхательных путях, снижению повышенных уровней воспалительных белков в крови [409]. Интраназальное применение IFN γ предлагают не только для лечения, но и для профилактики вирусных инфекций, в том числе и COVID-19 [62, 391]. Для коррекции иммунодефицита при аллергии эффективным является препарат Реаферон-ЕС-Липинт - пероральная форма липосомального IFN. Реаферон-ЕС-Липинт нормализует работу иммунной системы: снижает чувствительность к естественным аллергенам (пыльца, пыль, микроорганизмы и т.д.) и повышает способность противостоять респираторно-вирусным инфекциям. Показано, что комплексное лечение аллергии традиционными противоаллергическими средствами, дополненное Реафероном-ЕС-Липинтом, приводит к отсутствию аллергических симптомов в течение более полугода при снижении заболеваемости ОРВИ [166]. Нами показан стойкий профилактический эффект сублингвального применения препарата IFN α -2b при поллинозе с увеличением периода ремиссии [458]. При аллергическом рините клиническая эффективность показана при применении гриппферона и алергоферона (гриппферон+антигистаминный препарат лоратадин) [3, 164]. Препарат IFN α -2b с бетаметазоном (глюкокортикоидом местного применения для лечения аллергического ринита) существенно уменьшал глазные, назальные и респираторные симптомы у пациентов с поллинозом средней степени тяжести. Клинические наблюдения свидетельствуют об эффективности препаратов IFN (лейкинферон, виферон) в патогенетической терапии аллергических болезней кожи у детей [161].

Перспективным направлением в терапии больных гриппом является использование индукторов IFN. Применение индукторов IFN не требует многократного введения, у них

отсутствуют побочные эффекты, свойственные препаратам IFN [48, 72, 104, 151]. Кроме того, индукторы IFN стимулируют продукцию эндогенных IFN в организме человека. Нами показана клиническая эффективность применения препаратов индукторов IFN и иммуномодуляторов циклоферона, кагоцела, ингавирина при гриппе, бактериальных лигандов – при COVID-19 [60, 159, 191, 192]. При бронхиальной астме (БА) у прошедших курс лечения циклофероном больных отмечается сокращение острых респираторных заболеваний и связанных с ними обострений астмы [65, 87]. Следовательно, целесообразно назначение иммуномодулирующих препаратов, что может способствовать повышению эффективности лечения аллергических заболеваний.

ИЗЗ, такие как респираторные вирусные инфекции (грипп, COVID-19), аллергические (бронхиальная астма, аллергический ринит, атопический дерматит) и аутоиммунные заболевания (рассеянный склероз, системная красная волчанка, ревматоидный артрит, псориаз) сопровождаются дисбалансом экспрессии генов и повышенными концентрациями белков IFN трех типов, особенно IFN γ при БА, РС, COVID-19 и гриппе, а также изменениями противовирусной активности IFN различной степени выраженности подавления показателей. Отклонения показателей IFN от физиологических норм здоровых людей могут быть связаны с неблагоприятной экологической обстановкой, стрессами [38, 118].

Применение иммуноактивных препаратов приводит к коррекции системы IFN. Препараты, применяемые в лечебной практике ИЗЗ, которые рассмотрены в данной работе, включая IFN α и IFN β , индукторы IFN, иммуномодуляторы, в том числе, ВП-4, имеют разнообразные механизмы действия: влияют на гены рецепторов врожденного иммунитета. IFN типа I стимулируют экспрессию TLR; IFN α регулирует TLR-зависимую экспрессию генов IFN α , IFN β , IL28 и IL29; индуцируют экспрессию TLR7 в дендритных клетках [291, 371, 372]. Циклоферон (метилглюкаминная соль акриданона) является известным индуктором IFN с широким спектром нозологического применения [151]; индуцирует транскрипцию мРНК IFN I типа в клетках крови человека и является регулятором апоптоза, стимулирует гены фактора транскрипции IRF3, экспрессию рецепторов TLR3, TLR4 [193]. Кагоцел вызывает образование в организме человека смеси IFN α , и IFN β [48]. Ингавирин оказывает противовирусное действие, снижая инфекционность и нарушая ультраструктуру вирусов гриппа [29, 191]; к тому же, имидазолсодержащие соединения обладают свойствами агонистов TLR и иммуноадаьювантов в системах *in vitro* и *in vivo*; стимулируют гены рецепторов TLR3, TLR8, TLR9, и 2-х генов RLR-рецепторов (RIG1 и MDA5), белка Mx1 и фермента OAS1 [1, 193, 518]. Бактериальные лиганды, в том числе ВП-4, обуславливают неспецифическую индукцию врожденного иммунитета [69]. Входящие в состав ВП-4 инактивированные бактерии индуцируют провоспалительные цитокины Th2 иммунного ответа, имеющиеся в составе

нуклеиновые кислоты (ДНК+РНК) активируют Th1 цитокины. ВП-4 способствует увеличению экспрессии генов TLR2, TLR4, TLR9 и продукции IFN γ [135].

Таким образом, для определения IFN 3-х типов разработаны молекулярно-генетические и иммунологические методы, а также определение их функциональной активности с использованием культур клеток. Однако с учетом транзиторной экспрессии генов IFN непосредственно после контактов рецепторов с экзогенными и эндогенными стимулами определение референсных интервалов не универсально и зависит от времени индукции экспрессии и последующего ингибирования. Необходимы дальнейшие исследования с комбинированием разработанных подходов ОТ-ПЦР-РВ, ИФА, определения активности и различных функций IFN. Изменения IFN статуса при разных ИЗЗ разнонаправлены. При вирусных инфекциях, воспалении, аллергических патологиях и аутоиммунных заболеваниях выявлен дисбаланс экспрессии генов IFN, возрастание продукции IFN, угнетение активности IFN. Необходим анализ не только системного врожденного иммунитета с анализом IFN в клетках и сыворотке крови, но и мукозального иммунного ответа с определением IFN на слизистых оболочках. Развитие мультиплексных технологий позволяет проводить одновременный анализ не только IFN 3 типов, но и ISG для анализа всей системы IFN.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны методы определения мультиплексной экспрессии генов IFN α , IFN β , IFN γ и IFN λ с помощью ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в реальном времени; метод определения антител, нейтрализующих IFN; оптимизирован метод определения противовирусной активности IFN.

2. Установлены референтные интервалы для каждого типа IFN. У здоровых добровольцев в 25% образцов лейкоцитов крови выявлена экспрессия IFN α , в 76% - IFN β , в 11% - IFN γ и в 90% - IFN λ . В большинстве мазков носоглотки определена экспрессия генов IFN β (87%), IFN γ (40%) и IFN λ (80%) при отсутствии РНК IFN α . В сыворотке крови методом ИФА выявлены IFN α (1,4÷4,6 пг/мл), IFN β (2,6÷21,9 пг/мл), IFN γ (0,1÷4,12 пг/мл) и IFN λ (3,2÷7,0 пг/мл). Противовирусная активность IFN здоровых добровольцев для IFN I типа варьировала в диапазоне 320÷960 ТБА, для IFN II типа - 32÷96 ТБА.

3. При инфекциях, вызванными вирусами гриппа А и В, определена экспрессия гена IFN α в 20 % образцов лейкоцитах крови, РНК IFN λ – в 100%, РНК IFN β и IFN γ не выявлена. Распределение РНК IFN в мазках носоглотки качественно и количественно отличалось от соответствующих профилей для крови: РНК IFN β - в 100%, РНК IFN γ - в 50% мазков носоглотки. Определены повышенные в 3-10 раз концентрации белка IFN α в сыворотке крови. Выявлена пониженная противовирусная активность IFN I и II типов в среднем в 5 раз по сравнению с нормой. Препараты кагоцел, циклоферон, ингавирин при гриппе показали позитивную динамику активности IFN и сокращение сроков выздоровления.

4. При инфекции, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2, выявлено ингибирование экспрессии гена IFN λ в $10\text{-}10^4$ раз в мазках по сравнению со здоровыми добровольцами, наряду с увеличением концентраций белков IFN α , IFN γ и IFN λ более чем в 10 раз в сыворотке крови и угнетением активности IFN I типа (в 20 раз при остром COVID-19 и в 5,5 раз в постковидном периоде) и II типа (в 7,3 раз при остром COVID-19 и в 5,7 раз в постковидном периоде). В результате применения вакцины ВП-4 в группе лиц с тяжелым течением COVID-19 и в группе реабилитации непосредственно после лечения относительно дебюта заболевания отмечено усиление экспрессии гена IFN λ 3 в лейкоцитах крови и увеличение противовирусной активности IFN I и II типов. Применение ВП-4 показало клиническую эффективность и снижение частот ОРВИ в течение года наблюдений.

5. При аллергических заболеваниях дыхательной системы определена экспрессия гена IFN α (58%) и гена IFN λ (42%) при отсутствии экспрессии РНК IFN β ; выявлены повышенные концентрации белков IFN α и IFN γ в образцах мокроты пациентов с фенотипом «бронхиальная астма, ассоциированная с хронической обструктивной болезнью легких» в ремиссии, при их

отсутствии в сыворотке крови; при обострениях астмы отмечена повышенная в 25 раз концентрация белка $IFN\gamma$. Выявлено снижение противовирусной активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови ($p < 0,05$), в 4,6 и 5,2 раз, соответственно. У пациентов с аллергическими поражениями кожи (атопический дерматит и хроническая крапивница) выявлено снижение активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови ($p < 0,05$), более, чем в 4 и 5 раз, соответственно, по сравнению с группой здоровых добровольцев. При использовании индуктора IFN циклоферона и вакцины ВП-4 отмечено снижение ($p < 0,05$) заболеваемости ОРВИ и снижения частоты обострений астмы на фоне повышенной противовирусной активности IFN , продуцируемых лейкоцитами крови, в динамике наблюдений в течение года.

6. Комплексный анализ системы IFN при аутоиммунных заболеваниях показал повышенную экспрессию генов $IFN \alpha, \beta, \lambda$ в лейкоцитах крови, высокие концентрации белков $IFN \beta$ и γ в сыворотке крови больных рассеянным склерозом (РС). Выявлена сниженная противовирусная активность ($p < 0,05$) IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, при РС в 3,2 и 1,9 раз, а также при ревматических заболеваниях (ревматоидный артрит, в 3,4 и 3,9 раз; системная красная волчанка, в 1,7 и 2,9 раз) и псориазе в 2,7 раз, соответственно, по сравнению с группой здоровых добровольцев. В 3-х годичном мониторинге лечения пациентов с РС препаратом $IFN\beta$ -1a отмечено снижение экспрессии генов $IFN \alpha, \beta$ и течение заболевания без обострений.

В результате длительного лечения РС высокими дозами препаратов $IFN\beta$ -1a/1b могут индуцироваться связывающие и нейтрализующие антитела. Были выявлены IFN -связывающие антитела у всех пациентов с РС при лечении препаратом $IFN\beta$ -1b, при лечении $IFN\beta$ -1a – только в 6-11 %. Через 4 месяца терапии $IFN\beta$ -1b у 55% пациентов были выявлены антитела, нейтрализующие $IFN\beta$ -1b.

7. Для оценки особенностей системы IFN при респираторно-вирусных, аллергических и аутоиммунных заболеваниях предложен разработанный комплексный подход исследования системы IFN в виде определения экспрессии генов $IFN\alpha, IFN\beta, IFN\gamma, IFN\lambda$, уровней продукции белков IFN трех типов, противовирусной активности IFN I и II типов, продуцируемых лейкоцитами крови, а также применение иммуноактивных препаратов для коррекции нарушений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У больных с иммунозависимыми заболеваниями предложен к применению комплексный подход выявления нарушений системы интерферонов в виде оценки экспрессии генов, продукции белков и биологической активности IFN, продуцируемых лейкоцитами крови, до и после проведенной иммунокорректирующей терапии.

2. При длительном применении препаратов IFN β в терапии рассеянного склероза апробирован и предложен к применению метод количественной оценки определения нейтрализующих антител против применяемого препарата IFN β для преодоления резистентности к проводимому лечению.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АЗ – аллергические заболевания
АИЗ – аутоиммунные заболевания
АР – аллергический ринит
АтД – атопический дерматит
БА – бронхиальная астма
ГЗТ - гиперчувствительность замедленного типа
ГК - глюкокортикоиды
ГНТ – гиперчувствительность немедленного типа
ЖКТ - желудочно-кишечный тракт
МАТ - моноклональные антитела
Мф – макрофаг
Мо – моноцит
ОФВ – объем форсированного выдоха
ПИТРС – препараты, изменяющие течение рассеянного склероза
РАГА – реакция агрегации гемагглютинации
РС-вирус – респираторно-синцитиальный вирус
ТЦД - инфекционная доза для тканевой культуры, мера титра инфекционного вируса
ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких
ЦНС – центральная нервная система
АРС - антиген-презентирующие клетки (antigen-presenting cells)
DAI - (DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors)
DC – дендритные клетки
GM-CSF - гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
JAK - Janus kinase
ILC2 - врожденные лимфоидные клетки типа 2 (innate lymphoid cells 2)
IFN – интерферон (interferon)
IRF - IFN регулируемый фактор (IFN regulatory factor)
ISG - интерферон-стимулированный ген (IFN-stimulated gene)
ISGF3 - IFN-stimulated gene factor 3
MDA-5 (melanoma differentiation-associated gene 5)
MyD88 –Myeloid differentiation primary response gene (88)
LGP-2 (laboratory of genetics and physiology 2)
NF – nuclear factor

- NK – натуральные киллеры (natural killers)
- NLRP3 – криопирин (cryopyrin) — цитозольный белок
- NP – nucleoprotein
- PAMP – pathogen-associated molecular patterns
- PA – polymerase acidic protein
- PB1 – Polymerase basic protein 1
- PB2 – Polymerase basic protein 2
- PKR – protein kinase R
- PRR – рецепторы, распознающие паттерны (pattern recognition receptors)
- RIG-I – (retinoic acid-inducible gene-I)
- STAT – транскрипционный сигнальный фактор (Signal transducer and activator of transcription)
- SOCS – Supressors of Cytokine Signaling
- SR – рецепторы «мусорщики» (scavenger receptors)
- TAP – transporters associated with antigen processing
- Th – лимфоциты Т-хелперы (T-helpers)
- TLR – Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptor)
- Vero-SF – Vero-Serum Free – клетки Vero бессывороточного ведения

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активация генов сигнальных путей иммунитета: различная индивидуальная чувствительность клеток крови человека к препаратам интерферонов и индукторов IFN / Т.М. Соколова, А.Н. Шувалов, И.М. Шаповал, З.А. Соколова, Ф.И. Ершов // Медицинская иммунология. – 2015. – №1. – С. 7-18.
2. Актуальные вопросы вакцинопрофилактики гриппа / Ф. Ч. Шахтактинская, Л. С. Намазова-Баранова, М. В. Федосеенко, Т. А. Калюжная // Вопросы современной педиатрии. – 2021. – №20(4). – С. 333–337.
3. Алексеенко, В. А. Опыт применения препарата Гриппферон® с лоратадином для лечения и профилактики острой респираторной вирусной инфекции у пациентов с аллергическим ринитом / В.А. Алексеенко, И.В. Жирнова // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2017. – №1. – С. 76-81.
4. Алемтузумаб- новый препарат на основе моноклональных антител для лечения рассеянного склероза: терапевтические возможности и риски (обзор) / М.А. Хасаева, Т.В. Горохова, А.Н. Бойко, Е.И. Гусев // Журнал неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова. – 2013. – Т. 113. – № 2. – С. 87-92.
5. Аллерген-специфическая иммунотерапия у детей. Согласительный документ Ассоциации детских аллергологов и иммунологов России (позиционная статья) / Ю.С. Смолкин, О.В. Трусова, З.А. Алискандиева, [и др.] // Аллергология и Иммунология в Педиатрии. – 2023. – Т. 4. – С. 5-30.
6. Аллергология и иммунология: национальное руководство; ред. Р. М. Хаитова, Н. И. Ильиной. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 656 с. – ISBN 978-5-9704-0903-9. – Текст непосредственный.
7. Альбанова В. И. Атопический дерматит: учебное пособие для врачей / В. И. Альбанова, С. Ю. Петрова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021. –121 с. – ISBN 978-5-9704-6852-4. – Текст непосредственный.
8. Анализ интерферонов I, II и III типов, интерлейкина 23 и противовирусного белка МхА при рассеянном склерозе / Т.П. Оспельникова, О.В. Морозова, Е.И. Исаева [и др.] // Молекулярная медицина. – 2017. – № 15(3). – С. 32-36.
9. Анализ цитокинов и АТФ в эпилированных волосяных фолликулах / Е. В. Михальчик, О. В. Морозова, Т. В. Цимбаленко, [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – №170(9). – С. 286-289.

10. Ассоциация ревматологов России, ОООИ "Российская ревматологическая ассоциация "Надежда". Клинические рекомендации "Ревматоидный артрит" - Москва: ФГБУ НИИР. – 2021. – 8 с.
11. Ассоциация ревматологов России. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Шегрена. – Москва: ФГБУ НИИР. – 2012. – 18 с.
12. Ассоциация ревматологов России. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению системной красной волчанки. – Москва: ФГБУ НИИР. – 2013. – 24 с.
13. Ассоциация ревматологов России. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Бехчета. – Москва: ФГБУ НИИР. – 2013. – 8 с.
14. Аутоантитела к цитокинам: биологическая и патогенетическая роль / С. В. Сенников, Ю. А. Лопатникова, Ф. Д. Киреев, Е. А. Голикова // Цитокины и воспаление. – 2015. – Т. 14. – № 2. – С. 5–11.
15. Бактериальные лиганды в реабилитации медицинских работников после COVID-19 / Н.О. Крюкова, Н.Д. Абрамова, Е.А. Хромова, [и др.] // Пульмонология. – 2022. – № 32(5). – С. 716-727.
16. Балабанова, Р. М. Комбинированная базисная терапия ревматоидного артрита гаммафероном и метотрексатом / Р. М. Балабанова, Ю. Ю. Лихачева, Ю. А. Олюнин // Клиническая фармакол. и тер. – 1994. – № 1. – С. 26-29.
17. Бельтюков, Е. К. Эпидемиология аллергического ринита и бронхиальной астмы в свердловской области / Е. К. Бельтюков, К. П. Братухин // Доктор.Ру. – 2015. – №7(108) – С. 11-14.
18. Биологическая активность интерферонов в период обострения бронхиальной астмы на фоне острых респираторных вирусных инфекций / Т. П. Оспельникова, Н. В. Зарембо, А. Ю. Конищева [и др.] // Российский аллергологический журнал. – 2019. – Т.16. – № 1. – С.115-117.
19. Биологическая активность интерферонов при новой коронавирусной инфекции COVID-19 / Т. П. Оспельникова, Д. С. Левицкая, Л. В. Колодяжная [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2022. – Т.67. – №2. – С.142-152.
20. Бойко, А. Н. Выбор оптимального препарата для патогенетического лечения рассеянного склероза: современное состояние проблемы (обзор литературы) / А. Н. Бойко, О. В. Бойко, Е. И. Гусев // Ж неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова. – 2014. – Вып. 2. – № 114. – С. 77-91.
21. Бойко, А. Н. Немедикаментозные методы лечения и образ жизни при рассеянном склерозе / А. Н. Бойко, М. Е. Гусева, С.А. Сиверцева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 240 с. – ISBN: 978-5-9704-3512-0. – Текст непосредственный.

22. Бойко, А. Н. Проспективное открытое нерандомизированное клиническое исследование безопасности и эффективности терапии натализумабом (тизабри) в российской популяции пациентов с рецидивирующе-ремиттирующим рассеянным склерозом / А. Н. Бойко, Е. П. Евдошенко, О. В. Воробьева // Ж неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. – 2015. – Вып. 2. – № 115(8). – 25-35.
23. Бойко, А. Н. Рекомендации по использованию препарата финголимод (гилениа) для патогенетического лечения рассеянного склероза / А.Н. Бойко // Медицинский совет. – 2012. – № 4. – С. 3-10.
24. Болезни иммунной системы. / В. М. Земсков, А. М. Земсков, В. В. Нейманн, [и др.] // Успехи современной биологии. – 2022. – Т. 142. – № 2. – С. 184-192.
25. Болезнь Бехчета: клинические проявления, современные принципы диагностики и терапии / Т. А. Лисицына, З. С. Алекберова, Р. Г. Голоева, Г. А. Давыдова // Научно-практическая ревматология. – 2019. – № 57(5). – С. 553-563.
26. Быкова, В. П. Эпителиальные структуры слизистых оболочек верхних дыхательных путей — связующее звено врожденного и адаптивного иммунитета / В. П. Быкова, А. А. Бахтин // Российская ринология. – 2016. – №24(1). – С. 43-49.
27. Варламов Е. Е. Значение цитокинов в патогенезе атопического дерматита / Е. Е. Варламов, А. Н. Пампура, В. С. Сухоруков // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2018 – Т. 63 – №1– С.28-33.
28. Вирусы и цитокины у взрослых и детей с бронхиальной астмой / Т.П. Оспельникова, О.В. Морозова, Е.И. Исаева [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2016. - Т.10 (19). - №2 (1). – С.380-382.
29. Влияние Ингавирина *in vitro* и *in vivo* на ультраструктуру и инфекционность вируса гриппа / В. В. Зарубаев, С. В. Беляевская, А. К. Сироткин, [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2011. – № 5. – С.21-25.
30. Влияние индукторов интерферона на показатели интерферонового статуса у больных рассеянным склерозом / Т. П. Оспельникова, С. С. Григорян, Н. Л. Воробьева, В. Б. Гервазиева, В. Ю. Лиждвой, С. В. Котов, Ф. И. Ершов // Аллергология и иммунология. – 2006 – № 7(2) – С. 214-218.
31. Возможности применения иммуномодулирующей терапии у пациентов с атопическим дерматитом / А. Ю. Павлова, М. С. Зак, М. В. Качанова, С. А. Сергеева // Практическая медицина. – 2009. – №4. – С. 4-9.
32. Воробьев, А. А. Иммунология и аллергология. / А. А. Воробьев, А. С. Быков, А. В. Караулов. – Москва : Практическая медицина, 2006. – 320 с. – ISBN 5-98811-021-5. – Текст непосредственный.

33. Галушко, Е. А. Распространенность ревматических заболеваний в России / Е. А. Галушко, Е. Л. Насонов // Альманах клинической медицины. – 2018. – № 46(1). – С. 32–9.
34. Гариб, Ф. Ю. Механизмы иммунной толерантности к аутоантигенам, плоду, микробиому и патогенам / Ф. Ю. Гариб, А. П. Ризопулу // Практическая аллергология. – 2022 – №1 – С. 42–51.
35. Геворкян, О. В. Влияние иммунологических нарушений, вызванных частыми обострениями и хронической герпес-вирусной инфекцией, на течение атопического дерматита / О. В. Геворкян, Т. П. Оспельникова // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т.10 (19). – №2 (1). – С.269-271.
36. Геворкян, О. В. Иммунологические изменения при атопическом дерматите / О. В. Геворкян, Т. П. Оспельникова, Ф. И. Ершов // Российский аллергологический журнал. – 2010. – № 6 – С. 14-19.
37. Гервазиева, В. Б. Количественное определение IgG антител к основному белку миелина у больных рассеянным склерозом / В. Б. Гервазиева, Н. Л. Воробьева, И. А. Завалишин // Мед.иммунол. – 1999. – № 1(5). – С. 79-82.
38. Гизингер, О. Обоснованность определения интерферонового статуса при различных патологических процессах / О. Гизингер // Врач. – 2019. – Т. 30. – №. 4. – С. 15-20.
39. Глатирамера ацетат (Копаксон) в лечении рассеянного склероза. Результаты длительного применения: возникающие вопросы и направления дальнейших исследований / А. В. Переседова, И. А. Завалишин, Л. С. Адарчева, [и др.] // Нервные болезни. – 2012. – № 4. – С. 1-4.
40. Головкин, В. И. Амиксин, как модулятор циткиновых реакций и антиоксидант при лечении рассеянного склероза / В. И. Головкин, А. А. Калашникова, Н. И. Давыдова // В кн.: Иммуноопосредованный ремитирующий рассеянный склероз, СПб., РИФ "Роза мира" – 2003. – 200 с.
41. Голубчикова, Р. Н. Ретроспективный анализ анамнестических и клинико-лабораторных данных больных хронической идиопатической крапивницей / Р. Н. Голубчикова, И. В. Данилычева, О. Ю. Реброва // Российский аллергологический журнал. – 2011. – №4. – С. 23-33.
42. Гусев, Е. И. Рассеянный склероз. Справочник терминов / Е. И. Гусев, А. Н. Бойко, И. Д. Столяров // 2-ое изд., доп. и изменен. М.: РООИ «Здоровье человека» – 2015. – 448 с.
43. Дедов, И. И. Иммунозависимые заболевания и иммуногенетика человека (достижения и перспективы) / И. И. Дедов, Р. М. Хаитов, Л. П. Алексеев // Сахарный диабет. – 2016. – № 19(1). – С. 8-15.

44. Долгосрочная эффективность и переносимость отечественного биоаналога интерферона бета-1b для лечения рассеянного склероза / Ф. А. Хабиров, Т. И. Хайбуллин, Н. Н. Бабичева, [и др.] // Практическая медицина. – 2013. – № 1-1(68) – С. 202-204.
45. Егорова, О. Н. Показана ли противовирусная терапия большим ревматологическими заболеваниями? / О. Н. Егорова, Р. М. Балабанова // Антибиотики и химиотерапия. – 2006. - № 9-10. – С. 18-25.
46. Егорова, О. Н. Полиоксидоний в лечении ревматоидного артрита / О. Н. Егорова, М. В. Северинова, Р. М. Балабанова // Мед иммунология. – 2000. – №2,2. – С. 229.
47. Егорова, О. Н. Применение иммуномодулятора реальдилона в терапии ревматоидного артрита / О. Н. Егорова, Р. М. Балабанова // Клин. ревмат. – 1996. – №3. – С. 52-54.
48. Ершов, Ф. И. Антивирусные препараты. / Ф. И. Ершов ; – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 311 с.; ISBN 5-9704-0164-1. – Текст непосредственный.
49. Ершов, Ф. И. Интерфероновый статус как метод определения неспецифических биомаркеров иммунопатологии человека / Ф. И. Ершов, Т. П. Оспельникова, А. Н. Наровлянский // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2019. – №3. – С. 91-99.
50. Ершов, Ф. И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств) / Ф. И. Ершов, О. И. Киселев. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 356 с. – ISBN 5-9704-0060-2. – Текст непосредственный.
51. Ершов, Ф. И. История вирусологии от Д. И. Ивановского до наших дней / Ф. И. Ершов ; – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 288 с.; ISBN 978-5-9704-5354-4. – Текст непосредственный.
52. Ершов, Ф. И. Ранние цитокиновые реакции при вирусных инфекциях / Ф. И. Ершов, А. Н. Наровлянский, М. В. Мезенцева // Цитокины и воспаление. – 2004. - №3(1) – С. 3–6.
53. Ершов, Ф. И. Современный арсенал антигерпетических лекарственных средств / Ф. И. Ершов, Т. П. Оспельникова // Инфекции и антимикробная терапия. – 2001. – Т. 3, 4. – С. 100-104.
54. Ершов, Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии / Ф. И. Ершов ; – Москва : Медицина, 1996. – 239 с.; ISBN 5-225-02863-2. – Текст непосредственный.
55. Железникова, Г. Ф. Инфекция и иммунитет: стратегии обеих сторон / Г. Ф. Железникова // Медицинская иммунология. – 2006. - №8(5-6). – С. 597-614.
56. Завалишин, И. А. Рассеянный склероз: патогенез и лечение. Качество жизни / И.А. Завалишин, А.В. Переседова // Медицина. – 2004. – № 4. – С. 46–50.

57. Здравоохранение в России. 2023: Статистический сборник / Г.А. Александрова, Р. Р. Ахметзянова, Н. А. Голубев, [и др.] // М.: Стат.сб./Росстат, 2023. – 179 с.
58. Иванов, В. В. Провоспалительные цитокины и их значение при гриппе рН1N1. / В. В. Иванов, М. В. Шипилов // Медиц. вестник Северного Кавказа. – 2012. – № 4. – С. 70-72.
59. Иммунозависимые заболевания / А.М. Земсков, В. А. Земскова, Т. А. Бережнова, [и др.] // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2018. – № 71. – С.97-104.
60. Индукторы интерферона кагоцел и циклоферон – патогенетическая терапия острого тонзиллита на фоне гриппа / С. А. Машкова, Л. В. Колобухина, Т. П. Оспельникова, Л.Н. Меркулова, Ф. И. Ершов // International J on Immunorehabilitation. – 2004. – № 6(1). – С. 66.
61. Индуцированная продукция интерферонов клетками крови больных с хроническими смешанными инфекциями / Д. Л. Беляев, А. А. Бабаянц, Е. Н. Долгина, [и др.] // Интерферон-2011 – Сборник научных статей. – М. – 2012. – С. 202-212.
62. Интерферон гамма в терапии пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения / А. Л. Мясников, С. А. Бернс, П. А. Талызин, Ф. И. Ершов // Вопросы вирусологии. – 2021. – № 66(1). – С. 47–54.
63. Интерферон и другие цитокины при ревматических заболеваниях / Т. П. Оспельникова, О. Н. Егорова, Р. М. Балабанова, В. И. Козина, Ф. И. Ершов // Вестник РАМН. – 2010 – № 7 – С. 3-7.
64. Интерферониндуцирующее действие бактериальных лигандов при бронхиальной астме / Т. П. Оспельникова, Г. Л. Осипова, Н. В. Зарембо [и др.] // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2023. – № 3. – 9 с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2023-3/Articles/ТРО-2023-3.pdf>).
65. Интерфероновый статус в оценке терапии бронхиальной астмы иммуномодулирующими препаратами / Т. П. Оспельникова, Н. В. Зарембо, А. Ю. Конищева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2019. – №3. – С.46-54.
66. Интерфероновый статус, препараты интерферона в лечении и профилактике инфекционных заболеваний и реабилитации больных / С. С. Афанасьев, В. А. Алешкин, Г. Г. Онищенко, М. С. Афанасьев ; Москва : Триада-Х, 2005. – 767 с. – ISBN 5-8249-0114-7. – Текст непосредственный.
67. Интерфероны I, II, III типов и противовирусный белок МхА в крови и смывах у больных при острых респираторных вирусных инфекциях / Т. П. Оспельникова, О. В. Морозова, Е. И. Исаева [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т.10 (19). – №2 (1). – С.378-380.

68. Калюжин, О. В. Острые респираторные вирусные инфекции: современные вызовы, противовирусный ответ, иммунопрофилактика и иммунотерапия / О. В. Калюжин // Москва: Медицинское информационное агентство. – 2014. – 144 с.
69. Калюжин, О. В. Феномен тренированного иммунитета и механизмы действия неспецифических иммуномодуляторов / О. В. Калюжин // Российский аллергологический журнал. – 2015. – № 4. – С. 45-51.
70. Караулов, А. В. Иммуномодулирующая терапия и респираторные вирусные инфекции: взгляд иммунолога / А. В. Караулов // Пульмонология. – 2015. – Т. 25. – № 1. – С. 106–111.
71. Караулов, А. В. Иммуноterapia инфекционных болезней: проблемы и перспективы / А. В. Караулов, О. В. Калюжин // Терапевтический архив. – 2013. – Т. 85. – № 11. – С. 100-108.
72. Кареткина, Г. Н. Применение индукторов интерферонов для лечения и профилактики гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций / Г. Н. Кареткина // Лечащий врач. – 2009. – №10. – С.36-41.
73. Каштальян, О. А. Цитокины как универсальная система регуляции / О. А. Каштальян, Л. Ю. Ушакова // Медицинские новости. – 2017. – № 9. – С. 3–7.
74. Кетлинский, С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. Санкт-Петербург : ФОЛИАНТ, 2008. – 549 с. – ISBN 978-5-93929-171-2. – Текст непосредственный.
75. Киселев, О. И. Интерферон-гамма: новый цитокин в клинической практике Ингарон / О. И. Киселев, Ф. И. Ершов, Э. Г. Деева. – Москва, Санкт-Петербург : Димитрейд График Групп, 2007. – 343 с. – ISBN 5-93620-034-5. – Текст непосредственный.
76. Клинические рекомендации – Атопический дерматит – 2021-2022-2023 (26.08.2021) – Утверждены Минздравом РФ (По состоянию на 26.08.2021 на сайте МЗ РФ).
77. Королева, Л. И. О системе интерферона, ее формировании в раннем онтогенезе человека и особенностях у новорожденных детей с внутриутробной инфекцией / Л. И. Королева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – № 6. – С. 35-44
78. Котов, С. В. Иммуномодулирующая терапия при рассеянном склерозе / С. В. Котов, В. Ю. Лиждвой, Т. П. Оспельникова // Альманах клинической медицины. – 2005. – №8(3). – С. 68-70.
79. Кошелева, И. В. Значение сывороточных уровней и генетических особенностей противовоспалительных цитокинов у больных атопическим дерматитом / И. В. Кошелева, А. Р. Хасанова, И. С. Беляков // Лечащий врач. – 2019. - №1. – С. 53-55.

80. Кравченко, П. Н. Механизмы нарушения иммунологической толерантности / П. Н. Кравченко, Е. К. Олейник // Труды Карельского научного центра РАН. – 2015. – № 12. – С. 3–22.
81. Лиждвой, В. Ю. Влияние нейтрализующих антител к интерферону-бета на прогрессирование рассеянного склероза / В. Ю. Лиждвой, Т. П. Оспельникова, С. В. Котов // Альманах клинической медицины. – 2016. – № 44 (3). – С. 318–323.
82. Лиждвой, В.Ю. Терифлуномид при рассеянном склерозе / В. Ю. Лиждвой, С. В. Котов, Т. П. Оспельникова // Неврология Сибири. – 2019. – № 2(6). – С. 125–126.
83. Лизогуб, Н. В. Бронхиальная астма: нарушения продукции интерферонов и пути их коррекции : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.43, 14.00.36 / Лизогуб Наталья Васильевна ; ФГУ НИИ пульмонологии ФМБА. - Москва, 2008.- 139 с.
84. Литусов, Н. В. Частная бактериология: электронное иллюстрированное учебное издание / Н. В. Литусов // Екатеринбург: УГМУ – 2017. – 707 с.
85. Лусс, Л. В. Место иммуномодуляторов в общеклинической практике. Когда, кому, зачем? / Л. В. Лусс // Доктор.Ру. Аллергология Дерматология. – 2015. – № 7(108). – С. 5–10.
86. Львов, Д. К. Рождение и развитие вирусологии – история изучения новых и возвращающихся вирусных инфекций / Д. К. Львов // Вопросы вирусологии. – 2012. – С. 5-20.
87. Ляпунов, А. В. Иммунотропная терапия при бронхиальной астме у детей: Материалы научно-практической конференции педиатров России по болезням органов дыхания / А. В. Ляпунов // М. – 1999. – С. 48.
88. Машкова, С.А. Терапевтическая эффективность нового индуктора интерферона кагоцела и циклоферона при неосложненном гриппе и остром тонзиллите, протекающем на фоне острых респираторных вирусных заболеваний : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 / Машкова Светлана Александровна ; ГУ НИИ вирусологии им.Д.И.Ивановского РАМН. - Москва, 2004.- 179 с.
89. Медуница, Е. Н. Влияние α -2 интерферона на клиническую эффективность аллерген-специфической иммунотерапии у больных atopической бронхиальной астмой и (или) аллергическим риноконъюнктивитом / Е. Н. Медуница // Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 2001. – №12. – С. 32-64.
90. Методические рекомендации. Микробиологические методы обследования пульмонологических больных. URL: <https://docs.cntd.ru/document/456012410> (дата обращения: 07.04.2020).
91. Микробиологические особенности показателей при бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких в период ремиссии / М. Ю. Смирнова-Саприцкая,

Г. Л. Осипова, Т. П. Оспельникова, Г. А. Данилина, К. А. Зыков // Клиническая практика. – 2018. – №9 (4). – С. 40-46.

92. Микробиота нижних отделов дыхательных путей при хронических обструктивных заболеваниях легких / С. А. Мазурина, Г. А. Данилина, М. Ю. Смирнова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – №5. – С.53-60.

93. Молекулярно-генетическая характеристика вируса, выделенного от больных острым энцефаломиеелита человека и множественным склерозом / И. Ф. Баринский, Т. В. Гребенникова, С. В. Альховский, [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2015. – № 60. – С. 14-18.

94. Молекулярные основы патогенеза COVID-19 / Ф. Н. Новиков, В. С. Стройлов, И. В. Свитанько, В. Е. Небольсин // Успехи химии. – 2020. – № 89(8). – С. 858-878.

95. Морозова, О. В. Цитокины при аллергических заболеваниях / О. В. Морозова, Т. П. Оспельникова // Молекулярная медицина. – 2022. – № 20(2). – С. 3-10.

96. Мукозальный иммунитет у пациентов с COVID-19: лечение и реабилитация. Монография /под ред. А. Г. Чучалина, О. А. Свитич, М. П. Костинова. – Москва : Группа МДВ, 2022. – 127 с. – ISBN 978-5-906748-20-1. – Текст непосредственный.

97. Насонов, Е. Л. Ревматоидный артрит. В книге: Насонов Е.Л., редактор. / Е. Л. Насонов, Д. Е. Каратеев // Российские клинические рекомендации. Ревматология. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2019. – С. 17-57.

98. Насонова, В. А. Эффективность индукторов эндогенного интерферона на течение аутоиммунного процесса у Финбредных NZB/NZW мышей / В. А. Насонова, Р. М. Балабанова, Г. Н. Плесковская // Вопросы вирусологии. – 1990. - №5. – С. 408-411.

99. Небесная, Л. В. Современный подход к диагностике аутоиммунных заболеваний / Л. В. Небесная // Торсуевские чтения: научно-практический журнал по дерматологии, венерологии и косметологии. – 2019. – № 2. – С. 46-48.

100. Недоспасов, С. А. Фактор некроза опухолей и лимфотоксин: молекулярная генетика, регуляция продукции и физиологическая роль / С. А. Недоспасов // Генетика. – 2003. –№39(2). – С. 207-214.

101. Необходимость оценки врожденной резистентности при респираторных инфекциях для прогноза возможных осложнений / Т. П. Оспельникова, О. В. Морозова // X Юбилейная международная научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика». Сборник трудов. – Москва. – 2021. – Т.1. – С. 181-182.

102. Нестерова, И. В. Перспективы развития адаптивной медицинской иммунологии / И. В. Нестерова, Н. С. Татаурщикова // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25. – № 6. – С. 1277-1288.

103. Новиков, Д. К. Клиническая иммунология / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков. – Москва, Витебск : ВГМУ, 2006. – 392 с. — ISBN 985-866-1008-0. – Текст непосредственный.
104. Новиков, Д. К. Применение интерферонов и их индукторов при ОРВИ / Д. К. Новиков, В. И. Новикова // Медицинские новости. – 2017. – №9. – С. 18-21.
105. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2022. – 340 с.
106. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: Государственный доклад. Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2024. – 364 с.
107. Общая заболеваемость взрослого населения России в 2019 году. Статистические материалы. – М. – 2020. – ФГБУ "ЦНИИОИЗ" Минздрава Российской Федерации. – 160 с.
108. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: учебное пособие / А. С. Лабинская, Л. П. Блинкова, А. С. Ещина [и др.] ; под редакцией А. С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. – 4-е изд., стер. – Санкт-Петербург : Лань, 2020. – 588 с. – Текст: непосредственный.
109. Огородова, Л. Аллергический ринит и сопутствующая бронхиальная астма. Механизмы взаимосвязи и подходы к фармакотерапии / Л. Огородова, Ф. Петровский // Пульмонология. – 2006. - №3. – С. 100-106.
110. Определение активности нейтрализующих антител к препаратам интерферонов в сыворотке крови человека / Т.П.Оспельникова, Л.В.Колодяжная, В.Ю.Табаков, Ф.И.Ершов // Методические рекомендации. Москва. 2021. 19 с. URL: https://fedlab.ru/upload/docs/MP_ФЛМ_НАТ%202021.pdf. Дата публикации: 2021.
111. Определение нейтрализующей активности антител к препаратам интерферонов в сыворотке крови больных, получающих интерферонотерапию // Т.П.Оспельникова, Л.В.Колодяжная, В.Ю.Табаков, Ф.И.Ершов // Практические рекомендации. Тип практических рекомендаций: Правила проведения и интерпретации клинических лабораторных исследований. Москва. 2018. 24 с. URL: https://www.fedlab.ru/upload/medialibrary/6f2/Prakt-rek-nAT_-FLM_-2018.pdf. Дата публикации: 2018.
112. Опыт применения ингибитора интерферона I типа при системной красной волчанке / Я. А. Лейнеман, А. Ю. Бессалова, Д. Б. Алиев, [и др.] // Современная ревматология. – 2022. – № 16(4). – С. 69-73.
113. Опыт применения циклоферона при лечении псориаза / И.Н. Левашов, Ф.И. Ершов, А.Л. Тищенко, С.С. Григорян, Т.П. Оспельникова, Л.Д. Тищенко // Вестник дерматол. и венеролог. – 1999. – № 2 – С. 23-25.

114. Осипова, В. В. Бронхиальная астма и аллергический риноконъюнктивит: маркеры воспаления и современные подходы к иммунокорректирующей терапии : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.43, 14.00.36 / Осипова Вероника Вячеславовна; ФГУ НИИ пульмонологии ФМБА. - Москва, 2008.- 157 с.

115. Особенности биомаркеров воспаления при гриппе / Т. П. Оспельникова, О. В. Морозова, С.А. Андреева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – № 3. – С. 67-74.

116. Особенности врожденного и адаптивного иммунитета при инфекциях, вызванных респираторными РНК-содержащими вирусами / О. В. Морозова, Т. П. Оспельникова, А. Ю. Леонова, О. А. Свитич // Инфекционные болезни. – 2021. – Т.19. – № 3. – С. 123-132.

117. Особенности спектра цитокинов при хронической крапивнице / Т.П. Оспельникова, А.А. Денисов, Н.А. Черевко [и др.] // Медицинская иммунология. – 2021. – Т.23. - № 6. – С.1347-1356.

118. Особенности функционирования системы врожденного и адаптивного иммунитета у пациентов с COVID-19 старшей возрастной группы / О. Н. Щегловитова, Л. В. Колобухина, А. А. Бабаянц, [и др.] // Журнал инфектологии. – 2023. – Т. 15. – № 3. – С. 83-91.

119. Оспельникова, Т. П. Возможные биомаркеры эффективности терапии при рассеянном склерозе / Т. П. Оспельникова, А. Д. Шитова // Российский неврологический журнал. – 2021. – № 26(1). – С. 4-14.

120. Оспельникова, Т. П. Новый подход к отбору иммуноактивных препаратов для лечения / Т. П. Оспельникова, С. С. Григорян, Ф. И. Ершов // Медицинская иммунология. – 2001. – №3(2). – С. 332-333.

121. Оспельникова, Т. П. Рассеянный склероз и выявление нейтрализующих антител / Т. П. Оспельникова, В. Ю. Лиждвой // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т.9(18). – №3(1). – С.159-161.

122. Оспельникова, Т. П. Роль интерферона при гриппе и генитальном герпесе / Т. П. Оспельникова // Вопросы вирусологии. – 2013. – № 5. – С. 4-10.

123. Оспельникова, Т. П. Сравнительный анализ цитокинов при острых респираторных инфекциях и аллергической бронхиальной астме / Т. П. Оспельникова, О. В. Морозова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2019. – № 4. – С. 28-36.

124. Оспельникова, Т. П. Цитокины при сочетанной бронхиальной патологии: бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких / Т. П. Оспельникова, Г. Л. Осипова // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т.9(18). – №3(1). – С.157-158.

125. Оспельникова, Т.П. Сравнительная оценка активности интерферонов при гриппе и COVID-19 / Т.П. Оспельникова, О.А. Свитич, Ф.И. Ершов // Инфекция и иммунитет. – 2024. – Т. 14. – № 3. – С. 416–422.

126. Отличия спектров РНК интерферонов и интерферон-индуцируемого гена MX1 при гриппозной и аденовирусной инфекциях / Т. П. Оспельникова, О. В. Морозова, С. А. Андреева [и др.] // Иммунология. – 2018. – Т.39. – №(5-6). – С.290-293.

127. Оценка иммунологических показателей у больных при сочетанной обструктивной патологии: бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни лёгких / Т. П. Оспельникова, Г. А. Данилина, М. Ю. Смирнова, С. А. Андреева, Л. В. Колодяжная, А. Ю. Конищева, В. Н. Панкратова, С. А. Сходова, И. В. Бишева, Г. Л. Осипова, В. Б. Гервазиева, И. А. Шагинян, А. Г. Чучалин, Ф. И. Ершов // Российский аллергологический журнал. – 2012. – № 1 (1). – С. 238-240.

128. Патент № RU2002755C1 Российская Федерация, МПК C08B 15/00. Производное целлюлозы и госсипола, обладающее интерферониндуцирующим и противовирусным действием. : №2002755 : заявл. : 04.02.1991 : опубликован : 15.11.1993 / Ершов Ф. И., Сайиткулов А.М., Сарымсаков А.А., Мезенцева М.В., Тазулахова Э.Б., Нажмутдинов Ш. // Patents.Google : официальный сайт. – URL: <https://patents.google.com/patent/RU2002755C1/ru>.

129. Патент № RU2626832C1 Российская Федерация, МПК G01N 33/53. Способ определения нейтрализующих антител в сыворотке крови больных рассеянным склерозом, леченных препаратами интерферона-бета : №2626832 : заявл. : 02.03.2016 : опубл. : 02.08.2017 / Оспельникова Т.П., Колодяжная Л.В., Табаков В.Ю., Ершов Ф.И. // Patents.Google : официальный сайт. – URL: <https://patents.google.com/patent/RU2626832C1/ru>.

130. Патент № RU2627179C1 Российская Федерация, МПК C12Q1 68/06. Тест-система для определения РНК интерферона λ, интерлейкина IL23 и противовирусного белка MxA : № 2627179 : заявл. : 28.07.2016 : опубл.: 03.08.2017 / Морозова О. В., Оспельникова Т. П. // Patents.Google : официальный сайт. – URL: <https://patents.google.com/patent/RU2627179C1/ru>.

131. Патент RU2657808 Российская Федерация, МПК G01N 33/48 (2006.01). Способ определения продукции интерферонов как параметров врожденного иммунитета : № 2657808 : заявл. : 10.07.2017 : опубликован : 15.06.2018 / Оспельникова Т. П., Колодяжная Л. В., Табаков В. Ю., Ершов Ф. И. // Яндекс.Патенты : официальный сайт. – URL: https://yandex.ru/patents/doc/RU2657808C1_20180615.

132. Патогенетическая гетерогенность рассеянного склероза: ключ к пониманию клинического полиморфизма заболевания и разработке индивидуализированной терапии / Т. И. Хайбуллин, Ф. А. Хабилов, Ф. И. Девликамова, Н. Н. Бабичева // Неврологический вестник. – 2010. – Т. 42. – Вып. 1. – С. 54-65.

133. Пинегин, Б. В. Современные принципы создания иммуностропных лекарственных препаратов / Б. В. Пинегин, Р. М. Хайтов // Иммунология. – 2019. – № 40 (6). – С. 57–62.
134. Побочные эффекты терапии глюкокортикоидами при рассеянном склерозе: описание клинического случая с глобальной амнезией / К. А. Дибривная, М. В. Мельников, О. В. Бойко, [и др.] // Ж неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова. – 2014. – Вып. 2. – № 114 (2). – С. 83-86.
135. Поликомпонентная вакцина Иммуовак-ВП-4 и иммунотерапевтическая концепция ее использования для профилактики и лечения заболеваний, вызываемых условно патогенными микроорганизмами / Н. Б. Егорова, Е. А. Курбатова, Н. К. Ахматова, И.М. Грубер // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2019. – № 1. – С. 43-49.
136. Полиморфные варианты генов микроРНК ассоциированы с развитием аутоиммунного воспаления при рассеянном склерозе / И. С. Киселёв, В. В. Башинская, Н. М. Баулина, [и др.] // Ж неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова. – 2015. – Вып. 2. – № 115(8). – С. 59-60.
137. Проблема нейтрализующих антител в терапии рассеянного склероза / Б. И. Бурсагова, Л. А. Пак, В. М. Студеникин, Л. М. Кузенкова // Педиатрическая фармакология. – 2011. – №8(5). – С. 61-64.
138. Проблемы эпидемиологии псориаза / И. В. Хамаганова, А. А. Алмазова, Г. А. Лебедева, А. В. Ермаченко // Клиническая дерматология и венерология. – 2015. – Т. 14. – № 1. – С. 12-21.
139. Противовирусная активность препаратов интерферона бета-1а / Т. П. Оспельникова, Е. И. Исаева, Л. В. Колодяжная, [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2015. – № 60(6). – С. 24–28.
140. Профилактическая эффективность назального интерферон-гамма у взрослых добровольцев при острых респираторных вирусных инфекциях, в том числе при COVID-19 / П. А. Талызин, А. Л. Мясников, С. А. Бернс, [и др.] // Иммунология. – 2022. – Т. 43. – №3. – С. 288-300.
141. Раннее старение иммунной системы при ревматоидном артрите / В. И. Борисов, В. С. Кожевников, В. В. Сенюков, [и др.] // Росс. иммунол. ж. – 2007. – Вып. 1, 2. – С. 144-149.
142. Распространенность, заболеваемость, фенотипы и другие характеристики тяжелой бронхиальной астмы в Российской Федерации / С. Н. Авдеев, Н. М. Ненашева, К. В. Жуденков, [и др.] // Пульмонология. – 2018. – Т. 28. – №3. – С. 341-358.
143. Рассеянный склероз / Е. И. Гусев, И. А. Завалишин, А. Н. Бойко. – Москва : Реал Тайм, 2011. – 528 с.

144. Реактивность бронхов у детей, больных бронхиальной астмой / Н. А. Гитинов, А. М. Алискандиев, В. Новицкая [и др.] // Рос. Вестн. перинатол. и педиатрии. – 1997. – № 4. – С. 61.
145. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. / О.Ю. Реброва ; – Москва : Медиа Сфера, 2002. - 305 с. ; ISBN 5-89084-013-4. – Текст непосредственный.
146. Результаты сравнительного клинического исследования российского биоаналога β -интерферона-1b (инфибета) / Е. В. Попова, А. Н. Бойко, А. В. Васильев, [и др.] // Ж неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова. – 2012. – № 112(5). – С. 56-61.
147. Ройт, А. Иммунология. / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – Москва: Мир, 2000. –593 с. – ISBN 5-03-003305-X. – Текст непосредственный.
148. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе инфекционных заболеваний человека / Л. В.Ковальчук, О. А.Свитич, Л. В.Ганковская, [и др.] // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2012. – № 2. – С. 147-153.
149. Роль интерлейкина-37 в патогенезе аллергических заболеваний / И. П. Шиловский, М. Е. Дынева, О. М. Курбачева, [и др.] // Acta Naturae. – 2019. – Т. 11. – № 11(43). – С. 54-64.
150. Роль респираторных инфекций в обострениях бронхиальной астмы / А. Г. Чучалин, Т. П. Оспельникова, Г. Л. Осипова, [и др.] // Пульмонология. – 2007. – № 5. – С. 14-18.
151. Романцов, М. Г. Циклоферон в лечении инфекционных заболеваний / М. Г. Романцов, Ф. И. Ершов, А. Л. Коваленко // Антибиотики и химиотерапия. – 2008. – Т. 53. – № 3-4. – С. 36-45.
152. Российское общество дерматовенерологов и косметологов. Клинические рекомендации. Псориаз 2020. 69 с. Приказ № 1/2020-КР от 15.01.2020.
153. Сизякина, Л. П. Эффекты интерферонотерапии в лечении атопического дерматита с сопутствующим синдромом вторичной иммунной недостаточности // Л. П. Сизякина, Е. М. Пенечко, И. И. Андреева // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т. 13(22). – №2. – С. 533-535.
154. Симбирцев, А. С. Цитокины - новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – №1. – С. 9-17.
155. Симбирцев, А. С. Цитокины в лабораторной диагностике / А. С. Симбирцев, А. А. Тотолян // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2015. – № 2. – С. 82-98.
156. Симбирцев, А. С. Цитокины: классификация и биологические функции / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. - Т.3, 2. – С. 16-23.

157. Система интерферона при лечении псориаза циклофероном / С.С. Григорян, А.Л. Коваленко, Л.Д. Тищенко, И.Н. Левашов, Т.П. Оспельникова, Ф.И.Ершов // Иммунология. – 2000. – № 2. – С. 42-44.
158. Система интерферонов в острой фазе COVID-19 и постковидном периоде / Т.П. Оспельникова, Л.В. Колодяжная, А.Д. Шитова, О.А. Свитич // Журнал инфектологии. Приложение 2. –2023. – Т.15. – №2. – С.95-96.
159. Система интерферонов у больных хроническими заболеваниями в процессе иммуномодулирующей терапии / Т. П. Оспельникова, О. В. Морозова, Н. А. Михайлова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т. 13(22). – № 2. – С. 448-450.
160. Смирнов, В. С. Врожденный иммунитет при коронавирусной инфекции / В. С. Смирнов, А. А. Тотолян // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т. 10. – № 2. – С. 259–268.
161. Смирнова, Г. И. Аллергодерматозы у детей. / Г.И. Смирнова ; – Москва : БУК, 1998. – 300 с.; ISBN 5-85383-028-7. – Текст непосредственный.
162. Соколова, Т. В. Этиопатогенетические аспекты экзогенной и эндогенной форм атопического дерматита. Случаи из практики и диагностические ошибки / Т. В. Соколова, Л. А. Сафонова, Е. В. Панкратова // Клиническая дерматология и венерология. – 2015. - №14(3). – С. 76-84.
163. Соловьев, В. Д. Интерфероны в теории и практике медицины / В. Д. Соловьев, Т. А. Бектемиров; Академия медицинских наук СССР. – 2-е изд.. – Москва : Медицина, 1981. - 400 с. – ISBN В пер. (В пер.). – Текст непосредственный.
164. Сотникова, Н. Ю. Новые возможности в лечении аллергического ринита и аллергического конъюнктивита: топические препараты / Н. Ю. Сотникова // Инфекционные болезни. – 2017. – № 1. – С. 42-50.
165. Спирич, Н. Н. Состояние желудочно-кишечного тракта у пациентов с рассеянным склерозом: клинические и патогенетические аспекты / Н. Н. Спирич, Д. В. Киселев, О. М. Манякина // Ж неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова. – 2015. – Вып. 2. – Т. 115. – № 8. – С. 84.
166. Стагниева, И. В. Эффективность иммуномодулирующей терапии у больных риносинуситом / И. В. Стагниева, А. С. Симбирцев // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17. – № 5. – С. 423-430.
167. Табаков, В. Ю. Современные принципы классификации и разработки питательных сред для культивирования клеток человека и животных / В. Ю. Табаков, Ю. В. Щепкина, В. В. Честков // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2013. – № 1. – С. 47-56.

168. Терапевтическая эффективность Кагоцела при лечении больных неосложненным гриппом и гриппом, осложненным ангиной / Л. Н. Меркулова, Л. В. Колобухина, Л. Б. Кистенева, Е.И. Исаева, Е.И. Бурцева, Н.А. Лукьянова, Т.Д. Комарова, О.В. Кудряшова, С.А. Машкова, В.О. Полонский, Т.П. Оспельникова, А.Н. Наровлянский, Ф.И. Ершов // Клиническая фармакология и терапия. – 2002. – № 5. – С. 21-23.

169. Терапевтический потенциал индуктора интерферона при рассеянном склерозе / Т. П. Оспельникова, В. Ю. Лиждвой, В. Б. Гервазиева, О. П. Сидорова, С. В. Котов, Ф. И. Ершов // Труды XII Международного конгресса «Современные проблемы иммунологии, аллергологии и иммунофармакологии». – Российский аллергологический журнал. – Москва. – 2013. – № 2. – Ч. 2. – С. 228-231.

170. Тимофеева, А.М. Инфекция SARS-CoV-2 как фактор риска развития аутоиммунной патологии / А. М. Тимофеева, С. Е. Седых, Г. А. Невинский // Молекулярная медицина. – 2022. – № 5. – С. 3-9.

171. Тип иммунного ответа как фактор тяжелого и осложненного течения гриппа / Е. Г. Головачёва, В. С. Афанасьева, О. И. Афанасьева, [и др.] // Молекулярная диагностика. – 2017. – Т. 1. – С. 248-249.

172. Трошина, Е. А. Хронический аутоиммунный тиреоидит — «сигнальное заболевание» в составе мультиорганный аутоиммунного синдрома / Е. А. Трошина // Проблемы эндокринологии. – 2023. – Т. 69. – № 4. – С. 4–10.

173. Урясьев, О. М. Сочетание бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни лёгких: особенности этиологии, патогенеза, диагностики, фармакотерапии / О. М. Урясьев, С. В. Фалетрова, Л. В. Коршунова // Казанский мед. ж. – 2016. – №3. – С. 394-400.

174. Ушакова, Д. В. Проблема коморбидности у пациентов с бронхиальной астмой / Д. В. Ушакова, Е. Л. Никонов // Лечащий врач. – 2018. – № 12. – С. 65-68.

175. Фаворова, О. О. Аутоиммунные заболевания как следствие утраты иммунной системой способности отличать «свое» от «чужого» / О. О. Фаворова // Соровский образовательный журнал. – 1998. – № 12. – С. 19-24.

176. Федеральные клинические рекомендации «Рассеянный склероз» 2020. URL: <https://www.msif.org/about-us/who-we-are-and-what-we-do/advocacy/atlas/> (дата обращения: 19.05.2023).

177. Хабилов, Ф. А. Рассеянный склероз: современные принципы диагностики и лечения: монография / Ф. А. Хабилов, Т. И. Хайбуллин. – Казань : Медицина, 2017. – 90 с. – ISBN 978-5-7645-0595-4. – Текст непосредственный.

178. Хаитов, М. Р. Роль респираторных вирусов в течении хронических обструктивных заболеваний респираторного тракта / М. Р. Хаитов, В. С. Акимов // Российский Аллергологический Журнал. – 2005. – № 6. – С. 65-69.
179. Хаитов, Р. М. Современные иммуномодуляторы. Классификация, Механизм действия. / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Рос аллергол жур. – 2005. – № 4. – С. 30—43.
180. Хаитов, Р. М. Физиология иммунной системы / Р. М. Хаитов; – Москва : ВИНТИ РАН, 2001. – 223 с.; ISBN 5-20-113404-1. – Текст непосредственный.
181. Хайдуков, С. В. Малые субпопуляции Т-хелперов (Th наивные тимические, Th наивные центральные, Th9, Th22 и CD4+CD8+ дважды положительные Т-клетки) / С. В. Хайдуков // Медицинская иммунология. – 2013. – №15(6). – С. 503-512.
182. Характеристика экспериментальной модели бронхиальной астмы, полученной без использования адъюванта / Р. М. Хаитов, А. А. Бабахин, О. Н. Стеценко, [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2007. – Т. 8. – № 1. – С. 40.
183. Хронические респираторные заболевания: эпидемиологический мониторинг и профилактика / В. П. Колосов, Л. Г. Манаков, Ю. М. Перельман, В. П. Самсонов // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2020. - №76. – С. 8-18.
184. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований : учебное пособие для СПО / А. С. Лабинская, Л. П. Блинкова, А. С. Ещина [и др.] под редакцией А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. – 5-е изд., стер. – Санкт-Петербург : Лань, 2022. – 608 с. – Текст: непосредственный.
185. Чекнев, С. Б. Возможности изолированного и комбинированного применения рекомбинантных препаратов интерферона- α и интерферона- β в патогенетической терапии рассеянного склероза / С. Б. Чекнев. – Научно-практич. конфер. неврологов. – СПб. – 2001. – С. 282-283.
186. Чиканова, Т. Ю. Содержание интерлейкина-2 и интерлейкина-4 в ходе специфической иммунотерапии у больных atopической бронхиальной астмой : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.43, 14.00.36 / Чиканова Татьяна Юрьевна; Сибирский гос. мед. ун-т. – Томск, 2001.
187. Шварц, Г.Я. Анализ причин практической невозможности создания генериков копаксона / Г. Я. Шварц, Г. В. Раменская // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46. – № 11. – С. 1-6.
188. Шестакова, Н. А. Иммунологические особенности аллергической и неаллергической формы atopического дерматита / Н. А. Шестакова, В. И. Борисов, Н. В. Пронкина // Медицинская иммунология. – 2009. – № 6. – С. 531-540.

189. Шмидт, Т. Е. Рассеянный склероз: руководство для врачей / Т. Е. Шмидт, Н. Н. Яхно. – 5-е изд. – Москва : МЕДпресс-информ, 2016. – 271 с. – ISBN 978-5-00030-337-5. – Текст непосредственный.
190. Эпидемический сезон 2021–2022 годов. Частота ко-инфекции респираторными вирусными патогенами / Е. И. Бурцева, А. Д. Панова, Л. В. Колобухина, [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2023. – Т. 28. – № 2. – С. 67-77.
191. Эффективность и безопасность ингавирина в лечении гриппа и других ОРВИ у взрослых / Л. В. Колобухина, Л. Н. Меркулова, С. С. Григорян, М. Ю. Щелканов, Т. П. Оспельникова, [и др.] // Справочник поликлинического врача. – 2010. – № 9. – С. 3-7.
192. Эффективность Ингавирина у взрослых с гриппом / Л. В. Колобухина, Л. Н. Меркулова, М. Ю. Щелканов, [и др.] // Тер.архив. – 2009. – №3. – С. 51-54.
193. Эффекты индукторов интерферона на экспрессию генов – регуляторов апоптоза в лимфоцитах человека / Т. М. Соколова, Т. П. Оспельникова, Л. В. Колодяжная, А. Н. Шувалов, Г. З. Чкадуа, Ф. И. Ершов // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т.10. – № 2. – С. 75-81.
194. Ющук, Н. Д. Использование интерферонов в профилактике и лечении респираторных вирусных инфекций у взрослых и детей / Н. Д. Ющук, О. С. Хадарцев // Лечащий врач. – 2018. – № 3. – С. 67-72.
195. Ярилин, А. А. Иммунология: учебник. / А. А. Ярилин ; – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.; – ISBN: 978-5-9704-1319-7. – Текст непосредственный.
196. Ярилин, А. А. Регуляторные Fox3+ - Т-клетки и их роль при аллергии / А. А. Ярилин, А. Д. Донецкова // Росс. аллергол. Журнал. – 2005. – № 2. – С. 22–26.
197. Ярилина, А. А. Влияние терапии α -интерфероном и его индуктором - циклофероном на функциональную характеристику Т-лимфоцитов и клинические показатели при ревматоидном артрите : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.39 / Ярилина Анна Александровна; Ин-т ревматологии РАМН. – Москва, 2000.
198. sIgE к бактериальным аллергенам у больных хроническими воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей / С.А. Мазурина, А.Ю. Конищева, Т.П. Оспельникова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т.13 (22). – № 2. – С. 388-390.
199. A Four-Biomarker Blood Signature Discriminates Systemic Inflammation Due to Viral Infection Versus Other Etiologies / D. L. Sampson, B. A. Fox, T. D. Yager, [et al.] // Sci Rep. – 2017. – Vol.7. – № 1. – P. 2914.
200. A microplaque reduction assay for human and mouse interferon / J. B. Campbell, T. Grunberger, M. A. Kochman, [et al.] // Can J Microbiol. – 1975. – Vol. 21. – № 8. – P. 1247-1253.

201. Activation of invariant NKT cells by toll-like receptor 9-stimulated dendritic cells requires type I interferon and charged glycosphingolipids / C. Paget, T. Mallevey, A.O. Speak, [et al.] // *Immunity*. – 2007. – Vol. 27. – № 4. – P. 597-609.
202. Adorini, L. Cytokine-based immunointervention in the treatment of autoimmune diseases / L. Adorini // *Clin Exp Immunol*. – 2003. – Vol.132. – P. 185-192.
203. Advances and highlights in biomarkers of allergic diseases / I. Ogulur, Y. Pat, O. Ardicli, [et al.] // *Allergy*. – 2021. – Vol. 76. – № 12. – P. 3659-3686.
204. AGO2 Negatively Regulates Type I Interferon Signaling Pathway by Competition Binding IRF3 with CBP/p300 / S. Wang, X. Sun, C. Yi, [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2017. – Vol. 7. – P. 195.
205. Akira, S. Toll-like receptor signaling / S. Akira, K. Takeda // *Nature Rev.Immunol*. – 2004. – Vol. 4. – P. 499-511.
206. Allergic diseases and asthma: a major global health concern / R. Pawankar, G.W. Canonica, S.T. Holgate, [et al.] // *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. – 2012. – Vol. 12. – № 1. – P. 39-41.
207. Alveolar macrophages are indispensable for controlling influenza viruses in lungs of pigs / H.M. Kim, Y.W. Lee, K.J. Lee, [et al.] // *Journal of Virology*. – 2008. – Vol. 82. – № 9. – P. 4265–4274.
208. American Academy of Allergy Asthma & Immunology. URL: <https://www.aaaai.org/about-aaaai/newsroom/allergy-statistics> (date of access 19.03.2024).
209. An update on asthma diagnosis / C. Armeftis, C. Gratziau, N. Siafakas, [et al.] // *Journal of Asthma*. – 2023. – Vol. 60. – № 12. – P. 2104-2110.
210. Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis / A.H. Beecham, N.A. Patsopoulos, D.K. Xifara, [et al.] // *Nat Genet*. – 2013. – Vol. 45. – P. 1353-1360.
211. Annunziato, F. Annunziato, F. The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity / F. Annunziato, C. Romagnani, S. Romagnani // *J. Allergy Clin. Immunol*. – 2015. – Vol. 135. – P. 626–635.
212. Antibodies to interferon beta in patients with multiple sclerosis receiving CinnoVex, rebif, and betaferon / N. Zare, S.H. Zarkesh-Esfahani, M. Gharagozloo, [et al.] // *J Korean Med Sci*. – 2013. – Vol. 28. – № 12. – P. 1801-6.
213. Anti-inflammatory effects of medications used for viral infection-induced respiratory diseases / M. Yamaya, A. Kikuchi, M. Sugawara, [et al.] // *Respir Investig*. – 2023. – Vol. 61. – № 2. – P. 270-283.

214. Antiviral activity of type I, II, and III interferons counterbalances ACE2 inducibility and restricts SARS-CoV-2 / I. Busnadiego, S. Fernbach, M.O. Pohl, [et al.] // *mBio*. – 2020. – Vol. 11. – № 5. – P. e01928-20.
215. Antiviral defense in mice lacking both alpha/ beta and gamma interferon receptors / Van den Brock, M.F.U. Muller, S. Huang, [et al.] // *J.Virology*. – 1995. – Vol. 69. – P. 4792.
216. Antiviral immune responses: triggers of or triggered by autoimmunity? / C. Munz, J.D. Lunemann, M.T. Getts, [et al.] // *Nat Rev Immunol*. – 2009. – Vol. 9. – № 4. – P. 246-58.
217. Apoptotic molecular mechanisms implicated in autoimmune diseases / F. Cacciapaglia, C. Spadaccio, M. Chello, [et al.] // *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. – 2009. – Vol. 13. – № 1. – P. 23-40.
218. ARIA Workshop Group; WHO. Allergic rhinitis and its impact on asthma / J. Bousquet, P. van Canwenberge, N. Khaltaev, [et al.] // *J Allergy Clin Immunol*. – 2001. – Vol. 108. – P. 147– 334.
219. Ascherio, A. Epstein-Barr virus infection and multiple sclerosis. / A. Ascherio, K. L. Munger // *J Neuroimmune Pharmacol*. – 2010. – Vol. 5. – P. 271-277.
220. Asselin-Paturel, C. Mouse type I IFN — producing cells are immature ARCs with plasmacytoid morphology / C. Asselin-Paturel // *Nat. Immunol*. – 2001. – Vol.2. – P.1144–1150.
221. Association between atopic dermatitis and autoimmune diseases: A population-based case-control study / L.U. Ivert, C.F. Wahlgren, B. Lindelöf, [et al.] // *Br. J. Dermatol*. – 2021. – Vol. 185. – P. 335–342.
222. Association between clinical disease activity and Epstein-Barr virus reactivation in MS / K. Wandinger, W. Jabs, A. Siekhaus, [et al.] // *Neurology*. – 2000. – Vol. 55. – P. 178-184.
223. Asthma and viruses: is there a relationship? / S. Moser , D.G. Peroni, P. Comberiati, [et al.] // *Front Biosci (Elite Ed)*. – 2014. – Vol. 6. – P. 46-54.
224. Atopic dermatitis / S. Weidinger, L.A. Beck, T. Bieber, [et al.] // *Nat Rev Dis Primers*. – 2018. – Vol.4. – P. 1.
225. Autoantibodies to Non-myelin Antigens as Contributors to the Pathogenesis of Multiple Sclerosis / M.C. Levin, S. Lee, L.A. Gardner, [et al.] // *J Clin Cell Immunol*. – 2013. – P. 4.
226. Auto-antibodies against type I IFNs in patients with life- threatening COVID-19 / P. Bastard, L. B. Rosen, Q. Zhang, [et al.] // *Science*. – 2020.
227. Autoimmune Disease Prevalence in a Multiple Sclerosis Cohort in Argentina / M.F. Farez, M.E. Balbuena Aguirre, F. Varela, [et al.] // *Multiple Sclerosis International*. – 2014.
228. Autoimmunity and apoptosis--therapeutic implications / I. Rashedi, S. Panigrahi, P. Ezzati, [et al.] // *Curr Med Chem*. – 2007. – Vol. 14. – № 29. – P. 3139-51.

229. BAFF is a biological response marker to IFN-beta treatment in multiple sclerosis / K. S. Gandhi, F. C. McKay, S. D. Schibeci, [et al.] // *J Interferon Cytokine Res.* – 2008. – Vol. 28. – № 9. – P. 529-39.
230. Barnes, P. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease / P.J. Barnes // *Nat Rev Immunol.* – 2008. – Vol. 8. – P. 183-192.
231. Becher, B. T(H)17 cytokines in autoimmune neuro-inflammation / B. Becher, B.M. Segal // *Curr Opin Immunol.* – 2011 – Vol. 23. – № 6. – P. 707-712.
232. Behçet's disease / T. Sakane, M. Takeno, N. Suzuki, [et al.] // *The New England journal of medicine.* – 1999. – Vol. 341. – № 17. – P. 1284–1291.
233. Bendtzen, K. Critical review: assessment of interferon- β immunogenicity in multiple sclerosis / K. Bendtzen // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2010. – Vol. 30. – P. 759–766.
234. Beutler, B. Innate immunity: an overview / B. Beutler // *Mol. Immunol.* – 2004. – Vol. 40. – P. 845-859.
235. Beutler, B. Microbe sensing, positive feedback loops, and the pathogenesis of inflammatory diseases / B. Beutler // *Immunol Rev.* – 2009. – Vol. 227. – № 1. – P. 248-263.
236. Bidirectional Association between Atopic Dermatitis, Conjunctivitis and other Ocular Surface Diseases: A Systemic Review and Meta-Analysis / N.H. Ravn, Z.F. Ahmadzay, T.A. Christensen, [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2021. – Vol. 85. – № 2. – P. 453-461.
237. Birch, K. Allergy Testing. In: *StatPearls* / K. Birch, A.L. Pearson-Shaver // *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing* – 2021. – P. 77.
238. Boehncke, W. Psoriasis / W. H. Boehncke, M. P. Schön // *Lancet* – 2015. – Vol. 386. – P. 983–994.
239. Bosco, A. Emerging role for interferons in respiratory viral infections and childhood asthma / A. Bosco // *Front Immunol.* – 2023. – Vol. 14. – P. 1109001.
240. Boyko, A. Prevalence and Incidence of Multiple Sclerosis in Russian Federation: 30 Years of Studies / A. Boyko, M. Melnikov // *Brain Sci.* – 2020. – Vol. 10. – P. 305.
241. Bradley, J.R. TNF-mediated inflammatory disease / J.R. Bradley // *J Pathol.* – 2008. – Vol. 214. – № 2. – P. 149-160.
242. Brand, O. Genetic to cases of autoimmunity? / O. Brand, S. Gough, J. Heward // *Mol Med.* – 2005. – Vol. 7. – № 23. – P. 1-12.
243. Breadth of Concomitant Immune Responses Prior to Patient Recovery: A Case Report of Non-Severe COVID-19 / I. Thevarajan, T.H.O. Nguyen, M. Koutsakos, [et al.] // *Nat Med.* – 2020. – Vol. 26. – № 4. – P. 453-455.
244. Brightbill, H.D. Toll-like receptors: molecular mechanisms of the mammalian immune response / H.D. Brightbill, R.L. Modlin // *Immunology.* – 2000. – Vol. 101. – № 1. – P. 1-10.

245. British Society for Rheumatology guideline on management of adult and juvenile onset Sjögren disease / E.J. Price, S. Benjamin, M. Bombardieri, [et al.] // *Rheumatology*. – 2024. – P. 152.
246. Brzoska, J. Interferons in COVID-19: missed opportunities to prove efficacy in clinical phase III trials? / J. Brzoska, H. von Eick, M. Hündgen // *Front Med (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1198576.
247. Bullerdiek, J. COVID-19 challenging cell biology / J. Bullerdiek // *Protoplasma*. – 2020. – Vol. 257. – № 3. – P. 619–620.
248. Burnet, F.M. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection / F.M. Burnet // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 1976. – Vol. 26. – № 2. – P. 119–121.
249. Busse, W. W. The Role of Viral Respiratory Infections in Asthma and Asthma Exacerbations / W. W. Busse, R. F. Lemanske, J. E. Gern. // *Lancet*. – 2010. – Vol. 376. – № 9743. – P. 826-834.
250. Buttmann, M. Interferon-beta 1b in multiple sclerosis / M. Buttmann, P. Rieckmann // *Expert Rev Neurother*. – 2007. – Vol. 7. – № 3. – P. 227-239.
251. Cabanillas, B. Atopic dermatitis phenotypes and the need for personalized medicine / B. Cabanillas, A-C. Brehler, N. Novak // *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. – 2017. – Vol. 17. – № 4. – P. 309–315.
252. Caerulomycin A inhibits Th2 cell activity: a possible role in the management of asthma / W. Kujur, R.K. Gurram, N. Haleem, [et al.] // *Sci Rep*. – 2015. – Vol. 5. – P. 15396.
253. Cao, J. Activation of IL-27 signalling promotes development of postinfluenza pneumococcal pneumonia / J. Cao // *EMBO Mol. Med. EMBO Press*. – 2014. – Vol. 6. – № 1. – P. 120–140.
254. Carsons, S. E. Sjogren Syndrome / S.E. Carsons, B. C. Patel // *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. – 2022.
255. Casein Kinase 1 α Mediates the Degradation of Receptors for Type I and Type II Interferons Caused by Hemagglutinin of Influenza A Virus / C. Xia, J.J. Wolf, M. Vijayan, [et al.] // *J Virol*. – 2018. – Vol. 92. – № 7. – P. e00006-18.
256. Casiraghi, C. Epstein- Barr virus infection of human brain microvessel endothelial cells: a novel role in multiple sclerosis / C. Casiraghi, K. Dorovini-Zis, M.S. Horwitz // *J Neuroimmunol* – 2011. – Vol. 230. – P. 173-177.
257. Catalan-Dibene, J. Interleukin 30 to Interleukin 40 / J. Catalan-Dibene, L.L. McIntyre, A. Zlotnik // *J Interferon Cytokine Res*. – 2018. – Vol. 38. – № 10. – P. 423–439.
258. Cavlar, T. Induction of type I IFNs by intracellular DNA-sensing pathways / T. Cavlar, A. Ablasser, V. Hornung. // *Immunol Cell Biol*. – 2012. – Vol. 90. – № 5. – P. 474-82.

259. Cella, M. Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type 1 interferon / M. Cella // *Nat. Med.* – 1999. – Vol. 271. – P. 4988–4992.
260. Cerebrospinal fluid findings in COVID-19: a multicenter study of 150 lumbar punctures in 127 patients / S. Jarius, F. Pache, P. Körtvelyessy, [et al.] // *J Neuroinflammation.* 2022. – Vol. 19. – № 1. – P. 19.
261. Changes in Th17 and regulatory T cells after fingolimod initiation to treat multiple sclerosis / D.K. Sato, I. Nakashima., A. Baror, [et al.] // *J Neuroimmunol.* – 2014. – Vol. 268. – № 1-2. – P. 95-8.
262. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV / X. Ou, Y. Liu, X. Lei, [et al.] // *Nat Commun.* – 2020. – Vol. 27. – Iss. 11 – № 1. – P.1620.
263. Chemical Tools for Studying TLR Signaling Dynamics / T. Oosenbrug, M.J. van de Graaff, M.E. Rensing, [et al.] // *Cell Chem Biol.* – 2017. – Vol. 24. – № 7. – P. 801-812.
264. Chen, Y. C. Pilot Analyses of Interferon Subtype Expression Profiles in Patients with Herpes Zoster or Postherpetic Neuralgia / Y. C. Chen, R. W. Figliozzi, S. V. Hsia // *Viral Immunology.* – 2021 – Vol. 34. – Iss. 7, – P. 437-447.
265. Chun, J. Mechanism of Action of Oral Fingolimod (FTY720) in Multiple Sclerosis / J. Chun, H.-P. Hartung // *Clin.Neuropharmacol.* – 2010. – Vol. 33. – № 2. – P. 91–101.
266. Clec10a regulates mite-induced dermatitis / S. Naik, N. Bouladoux, J.L. Linehan, [et al.] // *Sci Immunol.* – 2019. – Vol. 4. – № 42. – P. eaax6908.
267. Codarri, L. Cytokine networks in multiple sclerosis: lost in translation / L. Codarri, A. Fontana, B. Becher // *Curr Opin Neurol.* – 2010. – Vol. 23. – № 3. – P. 205-211.
268. Cohen, J.A. CARE-MSIinvestigators. Alemtuzumab versus interferon beta 1a as first-line treatment for patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised controlled phase 3 trial / J.A. Cohen, A.J. Coles, D. L. Arnold // *Lancet.* – 2012. – Vol. 380. – № 9856. – P. 1819-1828.
269. Colman, D. Multiple paths towards repair in multiple sclerosis / D. Colman, C. Lubetzki, S. Reingold // *Trends Neurosci.* – 2003. – Vol. 26. – № 2. – P. 59-61.
270. Commensal microbiota and myelin autoantigen cooperate to trigger autoimmune demyelination / K. Berer, M. Mues, M. Koutrolos, [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol. 479. – № 7815. – P. 538–541.
271. Comparative analysis of the lambda-interferons IL-28A and IL-29 regarding their transcriptome and their antiviral properties against hepatitis C virus / J. Diegelmann, F. Beigel, K. Zitzmann, [et al.] // *PLoS One* – 2010. – Vol. 5. – № 12. – P. e15200.

272. Complex immunomodulatory effects of interferon-beta in multiple sclerosis include the upregulation of T helper 1-associated marker genes / K.P. Wandinger, C.S. Sturzebecher, B. Bielekova, [et al.] // *Ann Neurol* – 2001. – Vol. 50. – P. 349–357.
273. Compston, A. Multiple sclerosis / A. Compston, A. Coles // *Lancet*. – 2002. – Vol. 359. – № 9313. – P. 1221–1231.
274. CONFIRM Study Investigators. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis / R.J. Fox, D.H. Miller, J.T. Phillips, [et al.] // *N Engl J Med*. – 2012. – Vol. 367. – № 12. – P. 1087-97.
275. Control of apoptosis in autoimmunity / E. Maniati, P. Potter, N.J. Rogers, [et al.] // *J Pathol*. – 2008. – Vol. 214. – № 2. – P. 190-198.
276. Cooper, G. S. Recent Insights in the Epidemiology of Autoimmune Diseases: Improved Prevalence Estimates and Understanding of Clustering of Diseases / G. S. Cooper, M. L. K. Bynum, E. C. Somers // *J Autoimmun*. – 2009. – Vol. 33. – № 3-4. – P. 197-207.
277. Cooperative contributions of interferon regulatory factor 1 (IRF1) and IRF8 to interferon- γ -mediated cytotoxic effects on oligodendroglial progenitor cells / M. Horiuchi, A. Itoh, D. Pleasure, [et al.] // *J Neuroinflammation*. – 2011. – Vol. 8. – P.8.
278. Councilors of the International Eczema Council. Increasing Comorbidities Suggest that Atopic Dermatitis Is a Systemic Disorder / P.M. Brunner, J.I. Silverberg, E. Guttman-Yassky, [et al.] // *J. Investig. Dermatol*. – 2017. – Vol. 137. – P.18–25.
279. Creeke, P.I. Clinical testing for neutralizing antibodies to interferon- β in multiple sclerosis / P.I. Creeke, R.A. Farrel // *Ther Adv Neurol Disord*. – 2013. – Vol. 6. – № 1. – P. 3–17.
280. Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody / D. Pinto, Y-J. Park, M. Beltramello, [et al.] // *Nature*. – 2020. – Vol. 583. – № 7815. – P. 290–295.
281. Croxford, A.L. IL-12-and IL-23 in health and disease / A.L. Croxford, P. Kulig, B. Becher // *Cytokine Growth Factor Rev*. – 2014. – Vol. 25. – № 4. – P. 415-421.
282. Croxford, A.L. IL-23: one cytokine in control of autoimmunity / A.L. Croxford, F. Mair, B. Becher // *Eur J Immunol*. – 2012. – Vol. 42. – № 9. – P. 2263-2273.
283. Cutting Edge: Biomarkers for Chronic Spontaneous Urticaria / M. Folci, E. Heffler, G. W. Canonica, [et al.] // *J. of Immunol. Research*. – 2018. – P. 12.
284. Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts / J. Wang, M. Jiang, X. Chen, [et al.] // *J Leukoc Biol*. – 2020. – Vol. 108. – № 1. – P. 17-41.
285. Cytokines and the immune response / J.A. Bellanti, J.V. Kadlec, A. Escobar-Gutierrez [et al.] // *Ped. Clin. N. Am*. – 1994. – Vol.41. – Iss. 4. – P. 597-621.

286. Cytokines: The Good, the Bad, and the Deadly / T. Ramani, C.S. Auletta, D. Weinstock, [et al.] // *Int J Toxicol.* – 2015. – Vol. 34. – № 4. – P. 355–365.
287. Damal, K. Optimizing therapeutics in the management of patients with multiple sclerosis: a review of drug efficacy, dosing, and mechanisms of action / K. Damal, E. Stoker, J.F. Foley // *Biologics.* – 2013. – Vol. 7. – P. 247-258.
288. De Santis, M. The therapeutic potential of epigenetics in autoimmune diseases / M. De Santis, C. Selmi // *Clin Rev Allergy Immunol.* – 2012. – Vol. 42. – № 1. – P. 92-101.
289. de Weerd, N.A. The interferons and their receptors—distribution and regulation / N.A. de Weerd, T. Nguyen // *Immunol Cell Biol.* – 2012. – Vol. 90. – № 5. – P. 483–491.
290. Defining the response to interferon-beta in relapsing-remitting multiple sclerosis patients / J. Rio, C. Nos, M. Tintore, [et al.] // *Ann Neurol.* – 2006. – Vol. 59. – P. 344–352.
291. Denkow, K. Multiple Sclerosis: Modulation of Toll-Like receptors (TLR) expression by interferon - β includes upregulation of TLR7 in plasmacytoid dendritic cells / K. Denkow, J.M.J. Baur // *Plos one.* – 2013. – Vol. 8. – Iss. 8. – pp. 1-11.
292. Diagnosis and Management of Atopic Dermatitis / K. Maliyar, C. Sibbald, E. Pope, [et al.] // *Adv Skin Wound Care.* – 2018. – Vol. 31. – № 12. – P. 538–550.
293. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria / A.J. Thompson, B.L. Banwell, F. Barkhof, [et al.] // *Lancet Neurol.* – 2018. – Vol. 17. – № 2. – P. 162-173.
294. Diagnosis of severe respiratory infections in immunocompromised patients / E. Azoulay, L. Russell, A. Van de Louw, [et al.] // *Intensive Care Med.* – 2020. – Vol. 4. – Iss. 2. – P. 298-314.
295. Diaz-Guzman E. Asthma, chronic obstructive pulmonary disease, and mortality in the U.S. population / E. Diaz-Guzman, M. Khosravi, D M. Mannino // *COPD.* 2011;8(6):400–407. doi: 10.3109/15412555.2011.611200.
296. Differential neutrophil activation in viral infections: Enhanced TLR-7/8-mediated CXCL8 release in asthma / F.S. Tang, D. Van Ly, K. Spann, [et al.] // *Respirology.* – 2015. – P. 18.
297. Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein / Y. Cai, J. Zhang, T. Xiao, [et al.] // *Science.* – 2020. – Vol. 369. – № 6511. – P. 1586–92.
298. Distinct effector cytokine profiles of memory and naive human B cell subsets and implication in multiple sclerosis / M. Duddy, M. Niino, F. Adatia, [et al.] // *J Immunol.* – 2007. – Vol. 178. – № 10. – P. 6092-6099.
299. Donnelly, R. P. Interferon-Lambda: A New Addition to an Old Family / R.P. Donnelly, S.V. Kotenko // *J Interferon Cytokine Res.* – 2010. – Vol. 30. – № 8. – P. 555–564.
300. Dooley, M. A. Environmental Epidemiology and Risk Factors for Autoimmune Disease. / M. A. Dooley, S. L. Hogan // *Curr Opin Rheumatol.* – 2003. – Vol. 15. – № 2. – P. 99-103.

301. Early detection of neutralizing antibodies to interferon-beta in multiple sclerosis patients: binding antibodies predict neutralizing antibody development / H. Hegen, A. Millonig, A. Bertolotto, [et al.] // *Mult Scler.* – 2014. – Vol. 20. – № 5. – P. 577-87.
302. Efficacy and safety of monoclonal antibody therapies for relapsing remitting multiple sclerosis: A network meta-analysis / X. Xu, S. Chi, Q. Wang, [et al.] // *Mult Scler Relat Disord.* – 2018. – Vol. 25. – P. 322-328.
303. Elevations in T-helper-2-initiating cytokines (interleukin-33, interleukin-25 and thymic stromal lymphopoietin) in lesional skin from chronic spontaneous ('idiopathic') urticaria / A.B. Kay, P. Clark, M. Maurer, [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 2015. – Vol. 172. – № 5. – P. 1294–1302.
304. Emerging systemic JAK inhibitors in the treatment of atopic dermatitis: a review of abrocitinib, baricitinib, and upadacitinib / N. Nezamololama, K. Fieldhouse, K. Metzger, [et al.] // *Drugs Context.* – 2020. – P. 9.
305. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga, A.J. Flammer, P. Steiger, [et al.] // *Lancet.* – 2020. – Vol. 395. – № 10234. – P. 1417-1418.
306. Environmental risk factors in MS; what are we missing? / T. Riise, K.L. Bjørnevik, M. Pugliatti, [et al.] // *Ж неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова.* – 2015. – Вып. 2. – С. 99-100.
307. Epidemiologic evidence for asthma and rhinitis comorbidity / B. Leynaert, F. Neukirch, P. Demoly, [et al.] // *Allergy Clin Immunol.* – 2000. – Vol. 106. – P. 201-205.
308. Epidemiology of primary Sjögren's syndrome: a systematic review and meta-analysis / B. Qin, J. Wang, Z. Yang, [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2015. – Vol. 74. – № 11. – P. 1983-1989.
309. Epstein-Barr virus genetic variants are associated with multiple sclerosis / R. Mechelli, C. Manzari, C. Policano, [et al.] // *Neurology.* – 2015. – Vol. 84. – № 13. – P. 1362-1368.
310. Epstein-Barr virus latent infection and BAFF expression in B cells in the multiple sclerosis brain: implications for viral persistence and intrathecal B-cell activation / B. Serafini, M. Severa, S. Columba-Cabezas, [et al.] // *J Neuropathol Exp Neurol.* – 2010. – Vol. 69. – № 7. – P. 677-93.
311. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2022 update / J.S. Smolen, R.B. Landewé, S.A. Bergstra, [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2023. – Vol. 82. – № 3. – P.18.
312. Evidence for the induction of Th2 inflammation by group 2 innate lymphoid cells in response to prostaglandin D2 and cysteinyl leukotrienes in allergic rhinitis / I. Tojima, K. Matsumoto, H. Kikuoka, [et al.] // *Allergy.* – 2019. – Vol. 74. – P. 2417–2426.
313. Evolving concepts in how viruses impact asthma: A Work Group Report of the Microbes in Allergy Committee of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology / C.

Altman, A. Beigelman, C. Ciaccio, [et al.] // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2020. – Vol. 145. – Iss. 5. – P. 1332-1344.

314. Exacerbations of multiple sclerosis in patients treated with gamma interferon / H.S. Panitch, R.L. Hirsch, A.S. Haley, [et al.] // *Lancet*. – 1987. – Vol. 1. – P. 893-895.

315. Expression profiles of human interferon-alpha and interferon-lambda subtypes are ligand- and cell-dependent / P. Hillyer, V.P. Mane, L.M. Schramm, [et al.] // *Immunol Cell Biol*. – 2012. – Vol. 90. – № 8. – P.774-783.

316. Factors influencing quality of life in children with atopic dermatitis and their caregivers: A crosssectional study / X. Xu, L.S. van Galen, M.J. Koh, [et al.] // *Sci Rep*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 15990.

317. Falcon, R. M. G. Immunologic, genetic, and ecological interplay of factors involved in allergic diseases / R. M. G. Falcon, S. E. C. Caoili // *Front Allergy*. – 2023. – Vol. 4. – P. 1215616.

318. Falcone, M. Cytokines that regulate autoimmune responses / M. Falcone, N. Sarvetnick // *Curr Opin Immunol*. – 1999. – Vol. 11. – № 6. – P. 670-676.

319. Farokhzadian, J. S100A12-CD36 axis: A novel player in the pathogenesis of atherosclerosis? / J. Farokhzadian, P. M. Shahrabaki, V. J. Bagheri // *Cytokine*. – 2019. – Vol. 122. – P. 154104.

320. Features of Interferon and Cytokine Status in Atopic Dermatitis / T.P. Ospelnikova, O. V. Gevorkyan, T.V. Mironova, [et al.] // *Arch Asthma Allergy Immunol*. – 2017 –Vol.1. – P. 009-014.

321. Fernandes de Souza, W.D. COVID-19 and Multiple Sclerosis: A Complex Relationship Possibly Aggravated by Low Vitamin D Levels / W.D. Fernandes de Souza, D.M.D. Fonseca, A. Sartori // *Cells*. – 2023. – Vol. 12. – № 5. – P. 684.

322. Fietta, P. Interleukins (ILs), a fascinating family of cytokines. Part II: ILs from IL-20 to IL-38 / P. Fietta, E. Costa, G. Delsante // *Theor Biol Forum*. – 2015. – Vol. 108. – №1. – P. 19-40.

323. Fineman, S. Joint council of allergy, asthma, and immunology news: Focus on practice management. Pt 1. / S. Fineman // *Allergy and Asthma Proc*. – 2005. – Vol. 26. – № 3. – P. 231-232.

324. Forster, S. Interferon signatures in immune disorders and disease / S. Forster // *Immunol Cell Biol*. – 2012. –Vol. 90. – № 5. – P. 520-527.

325. Fournier, P. Oncolytic Newcastle Disease Virus as Cutting Edge between Tumor and Host / P. Fournier, V. Schirmacher // *Biology (Basel)*. – 2013 – Vol. 2. – № 3. – P. 936–975.

326. Franceschini, F. Anti-Ro/SSA and La/SSB antibodies / F. Franceschini, I. Cavazzana // *Autoimmunity*. – 2005. – Vol. 38. – № 1. – P.55-63.

327. Functional classification of interferon-stimulated genes identified using microarrays / M.J. de Veer, M. Holko, M. Frevel, [et al.] // *J Leukoc Biol*. – 2001. – Vol. 69. – № 6. – P. 912-920.

328. GA2LEN workpackages 3.2 and 3.3. Does rhinitis lead to asthma? / P. Van Cauwenberge, J.B. Watelet, T. Van Zele, [et al.] // *Rhinology*. – 2007 – Vol. 45 – № 2. – P. 112-21.
329. Gaby, A. Multiple Sclerosis / A. Gaby. *Glob Adv Health Med*. – 2013. – Vol. 2. – № 1. – P. 50-56.
330. Garcia-Sastre, A. Induction and evasion of type I interferon responses by influenza viruses / A. Garcia-Sastre – *Virus Research*. – 2011. – Vol. 162. – P. 12–18.
331. GBD 2019 IMID Collaborators. Global, regional, and national incidence of six major immune-mediated inflammatory diseases: findings from the global burden of disease study 2019. *EClinicalMedicine*. – 2023. – Vol. 64. – P. 102193.
332. Gene expression profiling in human autoimmunity / E.C. Baechler, F.M. Baltiwalla, A.M. Reed, [et al.] // *Immunol. Rev*. 2006. – Vol. 210. – Iss.1. – P. 120-137.
333. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis / C. Lock, G. Hermans, R. Pedotti, [et al.] // *Nat Med*. – 2002. – Vol. 8. – P. 500–508.
334. Genetic analysis of innate immunity / K. Hoebe , Z. Jiang , K. Tabeta, [et al.] // *Adv Immunol*. – 2006. – Vol. 91. – P. 175-226.
335. Genetic control of autoimmunity: Protection from diabetes, but spontaneous autoimmune biliary disease in a nonobese diabetic congenic strain / S. Koarack, S. Koarada, Y. Wu, [et al.] // *J Immunol*. – 2004. – Vol. 173. – № 4. – P. 2315-2323.
336. Genomewide pharmacogenomic analysis of the response to interferon beta therapy in multiple sclerosis / E. Byun, S.J. Caillier, X. Montalban, [et al.] // *Arch Neurol*. – 2008. – Vol. 65. – P. 337–344.
337. Genome-wide scan of 500 000 single-nucleotide polymorphisms among responders and nonresponders to interferon beta therapy in multiple sclerosis / M. Comabella, D.W. Craig, C. Morcillo-Suarez, [et al.] // *Arch Neurol* – 2009. – Vol. 66. – P. 972–978.
338. Genomic diversity and evolution of the lyssaviruses / O. Delmas, E.C. Holmes, C. Talbi, [et al.] // *PLoS One*. – 2008. – Vol. 3. – № 4. – P. e2057.
339. Gern, J. E. Virus/Allergen Interaction in Asthma Exacerbation / J. E. Gern // *Ann Am Thorac Soc*. – 2015. – Vol. 12. – P. 137-143.
340. Global atlas of allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis. European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) // Cezmi Akdis. – 2015. – 442 pp. – URL: <https://medialibrary.eaaci.org>
341. Global epidemiology of systemic lupus erythematosus / M.R.W. Barber, C. Drenkard, T. Falasinnu, [et al.] // *Nat Rev Rheumatol*. – 2021. – Vol. 17. – № 9. – P. 515-532.

342. Global Seasonal Influenza-associated Mortality Collaborator Network. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study / A.D. Iuliano, K.M. Roguski, Chang, [et al.] // *Lancet*. – 2018. – Vol. 391. – № 10127. – P.1285-1300.
343. Goel, R.R. Interferon lambda in inflammation and autoimmune rheumatic diseases / R.R. Goel, S.V. Kotenko, M.J. Kaplan // *Nat Rev Rheumatol*. – 2021. – Vol. 17. – № 6. – P. 349-362.
344. Gold, R. Multiple sclerosis: more pieces of the immunological puzzle / R. Gold, X. Montalban // *LancetNeurol*. – 2012. – Vol. 11. – № 1. – P. 9-10.
345. Gonzales-van Horn, S.R. Interferon at the crossroads of allergy and viral infections / S.R. Gonzales-van Horn, J. D. Farrar // *J Leukoc Biol*. – 2015. – Vol. 98. – № 2. – P. 185-194.
346. Goodin, D. S. The use of immunosuppressive agents in the treatment of multiple sclerosis: A critical review / D. S. Goodin // *Neurology*. – 1993. – Vol. 41. – P. 980-985.
347. Goodnow, C. C. Multistep pathogenesis of autoimmune disease / C.C. Goodnow // *Cell*. – 2007. – Vol. 130. – № 1. – P. 25-35.
348. Griffiths, C. E. Pathogenesis and Clinical Features of Psoriasis / C. E. Griffiths, J. N. Barker // *Lancet* – 2007. – Vol. 370. – № 9583. – P. 263–271.
349. Guidelines on the clinical use for the detection of neutralizing antibodies (NAbs) to IFN beta in multiple sclerosis therapy: report from the Italian Multiple Sclerosis Study group / A. Bertolotto, M. Capobianco, M.P. Amato, [et al.] // *Neurol Sci*. – 2014. – Vol. 35. – № 2. – P. 307-316.
350. Haahr, S. Multiple sclerosis is linked to Epstein-Barr virus infection / S. Haahr, P. Høllsberg // *Rev Med Virol*. – 2006. – Vol. 16. – P. 297-310.
351. Haak, S. Th17 cells in autoimmune disease: changing the verdict / S. Haak, G. Gyölvézi, B. Becher // *Immunotherapy*. – 2009. – Vol. 1. – № 2. – P. 199-203.
352. Haines, B. The immune system in health and disease / B. Haines, K.A. Soderberg, A.S. Fauci // *Harrison's Principles of Internal Medicine*. – 2015. – Vol. 2.
353. Hale, B.G. Innate immune evasion strategies of influenza viruses / B.G. Hale, R.A. Albrecht, A. García-Sastre // *Future Microbiol*. – 2010. – Vol. 5. – P. 23.
354. Halpert, G. SARS-CoV-2, the autoimmune virus / G. Halpert, Ye. Shoenfeld // *Autoimmun Rev*. – 2020. – Vol. 19. – № 12. – P. 102695.
355. Hammad, H. The basic immunology of asthma / H. Hammad, B.N. Lambrecht // *Cell*. – 2021. – Vol. 184. – № 6. – P. 1469–1485.
356. Hartmann, F. I. Immune monitoring using mass cytometry and related high-dimensional imaging approaches / F. I. Hartmann, S. C. Bendall // *Nat Rev Rheumatol*. – 2020. – Vol. 16. – № 2. – P. 87–99.
357. Hartung, H. Significance of neutralizing antibodies to interferon beta during treatment of multiple sclerosis: expert opinions based on the Proceedings of an International Consensus

Conference / H. Hartung, F. Munschauer, H. Schellekens // *European Journal of Neurology*. – 2005. – Vol. 12. – P. 588-601.

358. Health Metrics and Evaluation. – URL: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/> (дата обращения: 24.06.2022).

359. Hemmer, B. Role of the innate and adaptive immune responses in the course of multiple sclerosis / B. Hemmer, M. Kerschensteiner, T. Korn // *Lancet Neurol*. – 2015. – Vol. 14. – № 4. – P. 406-19.

360. Hesse, D. Absence of MxA induction by interferon beta in patients with MS reflects complete loss of bioavailability / D. Hesse, F. Sellebjerg, P.S. Sorensen // *Neurology*. – 2009. – Vol. 73. – P. 372-377.

361. Hesse, D. Using measurements of neutralizing antibodies: the challenge of IFN-beta therapy / D. Hesse, P.S. Sorensen. // *Eur J Neurol*. – 2007. – Vol. 14. – P. 850-859.

362. Heterogeneous, longitudinally stable molecular signatures in response to interferon-beta / M. R. Rani, Y Xu, J.C. Lee, [et al.] // *Ann N Y Acad Sci*. – 2009. – Vol. 1182. – P. 58-68.

363. Highlighting Interleukin-36 Signalling in Plaque Psoriasis and Pustular Psoriasis / K. Furue, K. Yamamura, G. Tsuji, [et al.] // *Acta Derm Venereol*. – 2018. – Vol. 98. – № 1. – P. 5–13.

364. Human TRIM gene expression in response to interferons / L. Carthagena, A. Bergamaschi, J.M. Luna, [et al.] // *PLoS One*. – 2009. – Vol. 4. – № 3. – P. e4894.

365. Human Type I Interferon Antiviral Effects i Respiratory and Reemerging Viral Infections. Review Article // P.L. Acosta, A.B. Byrne, D.R. Hijano, [et al.] // *Journal of Immunology Research*. – 2020. – P. 1372494.

366. IFN regulatory factor family members differentially regulate the expression of type III IFN (IFN-lambda) genes / P. I. Osterlund, T. E. Pietilä, V. Veckman, [et al.] // *J Immunol*. – 2007 – Vol. 179 – № 6. – P. 3434-42.

367. IFN-gamma plays a critical down-regulatory role in the induction and effector phase of myelin oligodendrocyte glycoprotein-induced autoimmune encephalomyelitis / D.O. Willenborg, S. Fordham, C.C. Bernard, [et al.] // *J Immunol*. – 1996. – Vol. 157. – № 8. – P. 3223-7.

368. IFN-gamma production by antigen-presenting cells: mechanisms emerge / D.M. Frucht, T. Fukao, C. Bogdan, [et al.] // *Trends Immunol*. – 2001. – Vol.22. – P.556–560.

369. IFN-lambda (IFN-λ) is expressed in a tissue-dependent fashion and primarily acts on epithelial cells in vivo / C. Sommereyns, S. Paul, P. Staeheli, [et al.] // *PLoS Pathog*. – 2008. – Vol.4. – № 3. – P. e1000017.

370. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex / S.V. Kotenko, G. Gallagher, V.V. Baurin, [et al.] // *Nat Immunol*. – 2003. – Vol. 4. – № 1. – P. 69-77.

371. IFNs activate toll-like receptor gene expression in viral infections / M. Miettinen, T. Sareneva, I. Julkunen, [et al.] // *Genes and Immunity*. – 2001. – Vol. 2. – P. 349-355.
372. IFN- α regulates TLR-dependent gene expression of IFN- α , IFN- β , IL28 and IL29 / J. Siren, J. Pirhonen, I. Julkunen, [et al.] // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 174. – P. 1932-1937.
373. IFN- β and multiple sclerosis: From etiology to therapy and back / V. Annibaldi, R. Mechelli, S. Romano, [et al.] // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2015. – Vol. 26. – № 2. – P. 221-228.
374. IFN- β therapy modulates B-cell and monocyte crosstalk via TLR7 in multiple sclerosis patients / E. Giacomini, M. Severa, F. Rizzo, [et al.] // *Eur J Immunol.* – 2013. – Vol. 43. – № 7. – P.1963-1972.
375. IFN- γ limits Th9-mediated autoimmune inflammation through dendritic cell modulation of IL-27 / G. Murugaiyan, V. Beynon, A. Pires Da Cunha, [et al.] // *J Immunol.* – 2012. – Vol. 189. – № 11. – P. 5277-83.
376. IFN- γ -induced JAK/STAT, but not NF- κ B, signaling pathway is insensitive to glucocorticoid in airway epithelial cells / D. O'Connell, B. Bouazza, B. Kokalari, [et al.] // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* – 2015. – Vol. 309. – № 4. – P. 348-59.
377. IgE-mediated and T cell-mediated autoimmunity against manganese superoxide dismutase in atopic dermatitis / P. Schmid-Grendelmeier, S. Flückiger, R. Disch, [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005 – Vol.115 – P. 1068–1075.
378. IL-10 promoter haplotype influence on interferon treatment response in multiple sclerosis / S. Wergeland, A. Beiske, H. Nyland, [et al.] // *Eur J Neurol.* – 2005. – Vol. 12. – P. 171–175.
379. IL-17 in severe asthma. Where do we stand? / J. Chesné, F. Braza, G. Mahay, [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2014. – Vol. 190. – № 10. – P. 1094-1101.
380. IL-22Ra1 is induced during influenza infection by direct and indirect TLR3 induction of STAT1 / K.D. Hebert, N. McLaughlin, Z. Zhang, [et al.] // *Respir Res.* – 2019. – Vol. 20. – № 1. – P. 184.
381. IL-23 plasma level measurement in relapsing remitting multiple sclerosis (RRMS) patients compared to healthy subjects / M. Shajarian, F. Alsahebfosoul, M. Etemadifar, [et al.] // *Immunol Invest.* – 2015. – Vol. 44. – № 1. – P. 36-44.
382. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R / P. Sheppard, W. Kindsvogel, W. Xu, [et al.] // *Nat Immunol.* – 2003 – Vol.4 – № 1. – P. 63–68.
383. IL-28A (IFN- λ 2) modulates lung DC function to promote Th1 immune skewing and suppress allergic airway disease / O. Koltsida, M. Hausding, A. Stavropoulos, [et al.] // *EMBO Mol Med.* – 2011. – Vol. 3. – № 6. – P. 348-61.

384. Immortalized cell lines derived from mice lacking both type I and type II IFN receptors unify some functions of immature and mature dendritic cells / R. Nunez, P. Grob, S. Baumann, [et al.] // *Immunol Cell Biol.* – 1999. – Vol. 77. – № 2. – P. 153-63.

385. Immune responses to SARS-CoV-2 infection in hospitalized pediatric and adult patients / C.A. Pierce, P. Preston-Hurlburt, Y. Dai, [et al.] // *Science Translational Medicine.* – 2020 – P. eabd5487.

386. Immunogenicity and protection efficacy of replicationdeficient influenza A viruses with altered NS1 genes / B. Ferko, J. Stasakova, J. Romanova, [et al.] // *J. Virol.* – 2004. – Vol. 78. – № 23. – P. 13037–13045.

387. Immunology of COVID-19: Current State of the Science / N. Vabret, G.J. Britton, C. Gruber, [et al.] // *Immunity.* – 2020. – Vol. 52. – № 6. – P. 910–941.

388. Immunomodulatory functions of type I interferons / J.M. González-Navajas, J. Lee, M. David, [et al.] // *Nat Rev Immunol.* – 2012. – № 12 – № 2. – P. 125-35.

389. Immunomodulatory Role of Interferons in Viral and Bacterial Infections / P. Mertowska, K. Smolak, S. Mertowski, E. Grywalska // *J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24. – P. 10115. <https://doi.org/10.3390/ijms241210115>.

390. Immunophenotyping of COVID-19 and influenza highlights the role of type I interferons in development of severe COVID-19 / J.S. Lee, S. Park, H.W. Jeong, [et al.] // *Sci. Immunol.* – 2020. – Vol. 5. – № 49. – P. eabd1554.

391. Impaired local intrinsic immunity to SARS-CoV-2 infection in severe COVID-19 / G.K. Ziegler, N. Miao, H. Owings, [et al.] // *Cell.* – 2021. – Vol. 184. – P. 4713–4733.

392. Incorporation of an interferon-beta neutralizing antibody assay into routine clinical practice / R. Farrell, M. Espasandin, Lakdawala, [et al.] // *Mult. Scler.* – 2011. – Vol. 17. – P. 1333-1340.

393. Increased CD8+ T cell response to Epstein-Barr virus lytic antigens in the active phase of multiple sclerosis / D. F. Angelini, B. Serafini, E. Piras, [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2013 –Vol. 9. – № 4. – P. e1003220.

394. Increased Risk of Herpes Zoster Following Dermatomyositis and Polymyositis: A Nationwide Population-Based Cohort Study / S.Y. Tsai, C.L. Lin, Y.C. Wong, [et al.] // *Medicine (Baltimore)* – 2015. – P. 94.

395. Induction of innate immunity and its perturbation by influenza viruses / M.U. Goraya, S. Wang, M. Munir, [et al.] // *Protein Cell.* – 2015. – Vol. 6. – № 10. – P. 712-21.

396. Infections as risk factor for autoimmune diseases - A nationwide study / P.R. Nielsen, T.W. Kragstrup, B.W. Deleuran, [et al.] // *J Autoimmun.* – 2016. – Vol. 74. – P. 176-181.

397. Influence of Th2 Cytokines on the Cornified Envelope, Tight Junction Proteins, and β -Defensins in Filaggrin-Deficient Skin Equivalents / S. Hönzke, L. Wallmeyer, A. Ostrowski, [et al.] // *J. Investig. Dermatol.* – 2016. – Vol. 136. – P. 631–639.
398. Influenza virus Induced Cytokine Responses: An Evaluation of Host-Pathogen Association / M. Khanna, R. Rajput, B. Kumar, [et al.] // *Immunome Res.* – 2014 – P. 2.
399. Inhibition of SARS-CoV-2 by type I and type III interferons / U. Felgenhauer, A. Schoen, H.H. Gad, [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2020. – Vol. 295. – № 41. – P. 13958–64.
400. Innate and Adaptive Immunity during Long-term Treatment of Multiple Sclerosis with Interferon Beta 1a / T.P. Ospelnikova, O. V. Morozova, E.I. Isaeva. [et al.] // *Journal of General and Emergency Medicine.* –2017. – Vol. 2. – Iss. 2. – P. 014.
401. Innate immunity modulates autoimmunity: type 1 interferon-beta treatment in multiple sclerosis promotes growth and function of regulatory invariant natural killer T cells through dendritic cell maturation / G. Gigli, S. Caielli, D. Cutuli, [et al.] // *Immunology.* – 2007. – Vol. 122. – № 3. – P. 409-17.
402. Insights Into Type I and III Interferons in Asthma and Exacerbations / H.E. Rich, D. Antos, N.R. Melton, [et al.] // *Front Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 574027.
403. Integrated DNA Technologies URL: www.idtdna.com (дата обращения: 04.07.2022).
404. Interferon beta treatment: bioavailability and antiviral activity in multiple sclerosis patients / M. Garcia-Montojo, V. De Las Heras, M. Bartolome, [et al.] // *J Neurovirol.* – 2007. – Vol. 13. – № 6. – P. 504-12.
405. Interferon inducer Cycloferon in treatment of psoriasis / S.S. Grigorian, L.D. Tischenko, T.P. Ospelnikova, F.I. Ershov // *European Cytokine Network.* – 1998 – Vol. 9. – № 3. – P.514.
406. Interferon regulatory factor 5 gene variants and pharmacological and clinical outcome of Interferonbeta therapy in multiple sclerosis / S. Vosslander, L.F. van der Voort, I.J. van den Elskamp, [et al.] // *Genes Immun.* – 2011. – Vol. 12. – P. 466–472.
407. Interferon type I signature associated with skin disease in juvenile dermatomyositis / R. Raupov, E. Suspitsin, E. V. Preobrazhenskaya, [et al.] // *Front Med (Lausanne).* – 2024. – Vol. 11. – P. 1214920.
408. Interferon-lambda (IFN-lambda) induces signal transduction and gene expression in human hepatocytes, but not in lymphocytes or monocytes / H. Dickensheets, F. Sheikh, O. Park, [et al.] // *J Leukoc Biol.* – 2013. – Vol. 93. – № 3. – P. 377-385.
409. Interferon- α 2b Treatment for COVID-19 / Q. Zhou, V. Chen, C.P. Shannon, [et al.] // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 1061.
410. Interferon- γ and Systemic Autoimmunity / K. M. Pollard, D. M. Cauvi, C. B. Toomey, [et al.] // *Discov Med.* – 2013. – Vol. 16. – № 87. – P. 123-131.

411. Interferon- γ is a master checkpoint regulator of cytokine-induced differentiation / Z. Zha, F. Bucher, A. Nejatfard, [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2017. – Vol. 124. – № 33. – P. E6867- E6874.
412. Interferon- γ Represses M2 Gene Expression in Human Macrophages by Disassembling Enhancers Bound by the Transcription Factor MAF / K. Kang, S.H. Park, J. Chen [et al.] // *Immunity.* – 2017. – Vol. 47. – № 2. – P. 235-250.
413. Interferon- λ treatment accelerates SARS-CoV-2 clearance despite age-related delays in the induction of T cell immunity / D.M. Santer, D. Li, Y. Ghosheh, [et al.] // *Nature Communications.* – 2022. – Vol. 13. – P. 69922022.
414. Interleukin 17 mRNA expression in blood and CSF mononuclear cells is augmented in multiple sclerosis / D. Matusevicius, P. Kivisakk, B. He, [et al.] // *Mult Scler.* – 1999. – Vol. 5. – P. 101–104.
415. Into the Eye of the Cytokine Storm / J.R. Tisoncik, M.J. Korth, C.P. Simmons, [et al.] // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2012. – Vol. 76. – P.16-32.
416. IRAK2 Has a Critical Role in Promoting Feed-Forward Amplification of Epidermal Inflammatory Responses / S. Shao, L.C. Tsoi, W.R. Swindell, [et al.] // *J. Investig. Dermatol.* – 2021– Vol. 141. – P. 2436-2448.
417. Isaacs, A. Virus interference. II. Some properties of interferon / A. Isaacs, J. Lindenmann, R.C. Valentine // *Proc. R. Soc. Lond. Biol. Sci.* – 1957. – Vol. 147. – № 927. – P. 268-273.
418. Isaacs, A. Virus interference. I. The interferon / A. Isaacs, J. Lindenmann. // *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* – 1957. – Vol. 147. – P. 258-267.
419. Ivashkiv, L. Regulation of type I interferon responses / L. Ivashkiv, L. Donlin. // *Nat. Rev. Immunol.* – 2014. – Vol. 14. – № 1. – P. 36–49.
420. Iwata, S. Association of Viral Infection With the Development and Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus / S. Iwata, Y. Tanaka // *Front Med (Lausanne).* – 2022. – Vol. 9. – P. 849120.
421. Jiang, S. (Editor) TH17 Cells in Health and Disease / S. Jiang // Springer New York Dordrecht Heidelberg London. – 2011.
422. Johnson, H. M. Gamma interferon: from antimicrobial activity to immune regulation / H.M. Johnson // *Front Immunol.* – 2015. – Vol. 5. – P. 667.
423. Johnston, S. Experimental models of rhinovirus-induced exacerbations of asthma: where to know? / S. Johnston // *AmJRespiratCritCareMed.* – 2003. – Vol. 168. – P. 1145-1146.
424. Junttila, I. S. Tuning the Cytokine Responses: An Update on Interleukin (IL)-4 and IL-13 Receptor Complexes // I.S. Junttila // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 888.

425. Justiz Vaillant, A. A. Interleukin / A. A. Justiz Vaillant, A. Qurie // StatPearls Publishing LLC. – 2020. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499840/> (дата обращения: 22.04.2023).
426. Kabelitz, D. Autoimmunity. Physiological control mechanisms and pathways to autoimmune diseases / D. Kabelitz, S. Schreiber // Internist. – 2009. – Vol.50. – № 3. – P. 267-275.
427. Kalinke, U. Endogenous, or therapeutically induced, type I Interferon responses differentially modulate Th1/Th17-mediated autoimmunity in the CNS / U. Kalinke, M. Prinz // Immunology and Cell Biology. – 2012. – Vol. 90. – P. 505-509.
428. Kang, S. Direct Antiviral Mechanisms of Interferon-Gamma / S. Kang, H.M. Brown, S. Hwang // Immune Netw. – 2018. – Vol. 18. – № 5. – P. e33.
429. Kawai, T. Innate immune recognition of viral infection / T. Kawai, S. Akira // Nat Immunol. – 2006. – Vol. 7. – P. 131-137.
430. Kelly, P. J. Inflammation and stroke risk: A new target for prevention / P. J. Kelly, R. Lemmens, G. Tsivgoulis // Stroke. – 2021. – Vol. 52. – P. 2697-2706.
431. Key Role of the Scavenger Receptor MARCO in Mediating Adenovirus Infection and Subsequent Innate Responses of Macrophages / M.D. Maler, P.J. Nielsen, N. Stichling, [et al.] // MBio. – 2017. – Vol. 8. – P. 4.
432. Kikkert, M. Innate Immune Evasion by Human Respiratory RNA Viruses / M. J. Kikkert // Innate Immun. – 2020. – Vol. 12. – № 1. – P. 4-20.
433. Kirchner, H. A whole-blood technique for testing production of human interferon by leukocytes / H. Kirchner, C. Kleinicke, W. Digel // J Immunol Methods. – 1982. – Vol. 48 – № 2. – P. 213-219.
434. Knier, B. Novel monoclonal antibodies for therapy of multiple sclerosis / B. Knier, B. Hemmer, T. Korn // Expert Opin Biol Ther. – 2014. – Vol. 14. – № 4. – P. 503-13.
435. Kocivnik, N. A Review Pertaining to SARS-CoV-2 and Autoimmune Diseases: What Is the Connection? / N. Kocivnik, T. Velnar // Life (Basel). – 2022. – Vol. 12. – № 11. – P. 1918.
436. Komander, D. The ubiquitin code / D. Komander, M. Rape // Annu Rev Biochem. – 2012. – Vol. 81. – P. 203-229.
437. Kopitar-Jerala, N. The Role of Interferons in Inflammation and Inflammasome Activation / N. Kopitar-Jerala // Front Immunol. – 2017. – Vol. 8. – P. 873.
438. Korman, N. J. Management of Psoriasis as a Systemic Disease: what Is the Evidence / N. J. Korman // Br. J. Dermatol. – 2020. – Vol. 182. – № 4. – P. 840–848.
439. Kotenko, S.V. IFN- λ s / S.V. Kotenko // Curr Opin Immunol. – 2011. – Vol. 23. – № 5. – P. 583-590.

440. Kroegel, C. Global Initiative for Asthma (GINA) guidelines: 15 years of application / C. Kroegel // *Expert Rev Clin Immunol.* – 2009. – Vol. 5. – № 3. – 239-249.
441. Kudva, A. Influenza A inhibits Th17-mediated host defense against bacterial pneumonia in mice / A. Kudva // *J. Immunol. Am Assoc Immunol.* – 2011. – Vol. 186. – № 3. – P. 1666-1674.
442. Kurtovic, N. O. Serum Concentrations of Interferon Gamma (IFN- γ) in Patients with Psoriasis: Correlation with Clinical Type and Severity of the Disease / N.O. Kurtovic, E.K. Halilovic. // *Med Arch.* – 2018. – Vol. 72. – № 6. – P. 410-413.
443. Lambda interferon renders epithelial cells of the respiratory and gastrointestinal tracts resistant to viral infections / M. Mordstein, E. Neugebauer, V. Ditt, [et al.] // *J Virol.* – 2010. – Vol. 84. – № 11. – P. 5670-5677.
444. Lamichhane, P. P. The Role of Innate Leukocytes during Influenza Virus Infection / P. P. Lamichhane, A. E. Samarasinghe // *J Immunol Res.* – 2019. – P. 8028725.
445. Lamot, L. Methods for type I interferon detection and their relevance for clinical utility and improved understanding of rheumatic diseases / L. Lamot, I. Niemietz, K.L. Brown // *Clin Exp Rheumatol.* – 2019. – Vol. 37. – № 6. – P.1077-1083.
446. Laouar, Ya. Transforming growth factor- β controls T helper type 1 cell development through regulation of natural killer cell interferon / Laouar Ya. // *Nat Immunology.* – 2005. – Vol. 6. – № 6. – P. 600-607.
447. Lassman, H. The immunopathology of multiple sclerosis: an overview / H. Lassman, W. Bruck, C. Lucchinetti // *Brain Pathol.* – 2007. – Vol. 17. – P. 210-218.
448. Lazear, H. M. Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons / H. M. Lazear, J. W. Schoggins, M.S. Diamond // *Immunity.* – 2019. – Vol. 50. – Iss. 4. – P. 907-923.
449. Lee, B. Influenza-induced type I interferon enhances susceptibility to gram-negative and gram-positive bacterial pneumonia in mice / B. Lee // *Am. J. Physiol. Cell. Mol. Physiol.* American Physiological Society Bethesda, MD. – 2015. – Vol. 309. – № 2. – P. L158-L167.
450. Lethal influenza infection in the absence of the natural killer cell receptor gene Ncr1 / R. Gazit, R. Gruda, M. Elboim, [et al.] // *Nat Immunol.* – 2006. – Vol. 7. – № 5. – P. 517-23.
451. Levine, S. Suppression of EAE by Tilorone: Cell transfer and Interferon Studies / S. Levine, R. Sowinski, S.L. Abreu // *Immunopharmacology.* – 1983. – Vol. 6. – № 1. – P.23-31.
452. Li, Y. Regulating STING in health and disease / Y. Li, H.L. Wilson, E. Kiss-Toth // *J Inflamm (Lond).* – 2017. – Vol. 14. – P. 11.
453. Liu, Y. COVID-19 and autoimmune diseases / Y. Liu, A.H. Sawalha, Q. Lu // *Curr. Opin. Rheumatol.* – 2021 – Vol. 33. – P. 155–162.

454. Long Noncoding RNA Lnc-MxA Inhibits Beta Interferon Transcription by Forming RNA-DNA Triplexes at Its Promoter / X. Li, G. Guo, M. Lu, [et al.] // *J Virol.* – 2019. – Vol. 93. – P. 21.
455. Long, A. Immune dysregulation / A. Long, A. Kleiner, R.J. Looney // *J Allergy Clin Immunol.* – 2023. – Vol. 151. – № 1. – P. 70-80.
456. Long-Term Consequences of High Titer Neutralizing Antibodies to Interferon- β in Multiple Sclerosis / N. Dunn, A. Fogdell-Hahn, J. Hillert, [et al.] // *Front. Immunol. Sec. Multiple Sclerosis and Neuroimmunology.* – 2020. – P. 583560.
457. Long-term survival of influenza virus infected club cells drives immunopathology / N. S. Heaton, R. A. Langlois, D. Sachs, [et al.] // *J Exp Med.* – 2014. – Vol. 211. – № 9. – P. 1707-1714.
458. Low dose oromucosally administered IFN- α in patients with pollinosis / S. S. Grigorian, F. I. Ershov, T. P. Ospelnikova, [et al.] // *J. Interferon & Cytokine Research.* – 2007. – Vol. 27. – № 8. – P. 730.
459. Lund, S. A. The role of osteopontin in inflammatory processes / S. A. Lund, C. M. Giachelli, M. Scatena // *J Cell Commun Signal.* – 2009. – Vol. 3. – № 3. – P. 311-322.
460. Lunemann, J. D. EBV in MS: guilty by association? / J. D. Lunemann, C. Munz // *Trends Immunol.* – 2009. – Vol. 30. – P. 243-248.
461. Maarifi, G. Interferon response: with great power comes great responsibility / G. Maarifi, N. Smith, S. Nisole // *Med Sci (Paris).* – 2020. – Vol. 36. – № 3. – P. 206-209.
462. Mackay, J. Autoimmunity since the 1957 clonal selection theory: A little acorn to a large oak / J. Mackay // *Immunol and Cell Biol.* – 2008. – Vol. 26. – № 1. – P. 7-13.
463. Malmgaard, L. Induction and Regulation of IFNs During Viral Infections / L. Malmgaard // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2004. – Vol. 24. – № 8. – P. 439–454.
464. Mangan, N. E. Type I interferons in regulation of mucosal immunity / N.E. Mangan, K.Y. Fung // *Immunol Cell Biol.* – 2012. – Vol. 90. – № 5. – P. 510-519.
465. Marziniak, M. Current perspectives on interferon Beta-1b for the treatment of multiple sclerosis / M. Marziniak, S. Meuth // *Adv Ther.* – 2014. – Vol. 31. – № 9. – P. 915-31.
466. Mast cells as sources of cytokines, chemokines and growth factors / K. Mukai, M. Tsai, H. Saito, [et al.] // *Immunol Rev.* – 2018. – Vol. 282. – № 1. – P. 121-150.
467. Matrix protein 2 of influenza A virus blocks autophagosome fusion with lysosomes / M. Gannagé, D. Schmid, R. Albrecht, [et al.] // *Cell Host Microbe.* – 2009. – Vol. 6. – № 4. – P. 367-380.
468. Mayo, L. The innate immune system in demyelinating disease / L. Mayo, F.J. Quintana, H.L. Weiner // *Immunol Rev.* – 2012. – Vol. 248. – № 1. – P. 170-187.
469. McInnes, IB. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis / I.B. McInnes, G. Schett // *Nat Rev Immunol.* – 2007. – Vol. 7. – № 6. – P. 429-442.

470. Meritet, J.F. Effect of oromucosal administration of IFN-alpha on allergic sensitization and the hypersensitive inflammatory response in animals sensitized to ragweed pollen / J.F. Meritet, C. Maury, M.G. Tovey // *J Interferon Cytokine Res.* – 2001. – Vol. 21. – № 8. – P. 583-593.
471. Mesenchymal Stem Cells Alleviate Moderate-to-Severe Psoriasis by Reducing the Production of Type I Interferon (IFN-I) by Plasmacytoid Dendritic Cells (pDCs) / M. Chen, J. Peng, Q. Xie, [et al.] // *Stem Cells Int.* – 2019. – P. 6961052.
472. Microarray analysis identifies a set of CXCR3 and CCR2 ligand chemokines as early IFNbeta-responsive genes in peripheral blood lymphocytes in vitro: an implication for IFNbeta-related adverse effects in multiple sclerosis / J. Satoh, Y. Nanri, H. Tabunoki, [et al.] // *BMC Neurol.* – 2006. – Vol. 6. – P. 18.
473. Miller, F. W. The increasing prevalence of autoimmunity and autoimmune diseases: an urgent call to action for improved understanding, diagnosis, treatment, and prevention / F.W. Miller // *Curr Opin Immunol.* – 2023. – Vol. 80. – P. 102266.
474. Miller, J. D. The Role of Dust Mites in Allergy // J.D. Miller // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2019 – Vol. 57. – № 3. – P. 312-329.
475. Mills, K. H. TLR-dependent T cell activation in autoimmunity / K.H. Mills // *Nat Rev Immunol.* – 2011. – Vol. 11. – № 12. – P. 807-22.
476. Mitoxantrone for multiple sclerosis / F. Martinelli Boneschi, L. Vacchi, M. Rovaris, [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2013. – Vol. 5. – P. CD002127.
477. Molecular mimicry and auto-immunity / M. Blank, O. Barzilai, Y. Shoenfeld [et al.] // *Clin Rev Allergy Immunol.* – 2007. – Vol. 32. – № 1. – P. 111-118.
478. MS International Federation. Atlas of MS. <https://www.msif.org/about-us/who-we-are-and-what-we-do/advocacy/atlas/> (date of access 02.03.2024).
479. Mukhopadhyay, S. The role of scavenger receptors in pathogen recognition and innate immunity *Immunobiology* / S. Mukhopadhyay, S. Gordon // *Immunobiology.* – 2004. – Vol. 209. – Iss. 1–2. – P. 39-49.
480. Multiple Roles for Cytokines in Atopic Dermatitis: From Pathogenic Mediators to Endotype-Specific Biomarkers to Therapeutic Targets / L. Fania, G. Moretta, F. Antonelli, [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2022. – Vol. 23. – № 5. – P. 2684.
481. Multiple sclerosis immunomodulatory therapies tested for effectiveness in COVID-19 / B. Adamczyk, N. Morawiec, M. Arendarczyk, [et al.] // *Neurol. Neurochir. Pol.* – 2021. – Vol. 55. – Iss. 4. – P. 357-68.
482. Multiple sclerosis-associated IL2RA polymorphism controls GM-CSF production in human TH cells / F. J. Hartmann, M. Khademi, J. Aram, [et al.] // *Nat Commun.* – 2014. – Vol. 5. – P. 5056.

483. Mutations in the NS1 protein of swine influenza virus impair anti-interferon activity and confer attenuation in pigs / A. Solórzano, R. J. Webby, K.M. Lager, [et al.] // *J Virol.* – 2005 – Vol.79. – № 12. – P. 7535-7543.
484. Mylonas, A. Psoriasis: Classical vs. Paradoxical. The Yin-Yang of TNF and Type I Interferon / A. Mylonas, C. Conrad. // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 28. – № 9. – P. 2746.
485. Nallar, S. C. Interferons, signal transduction pathways, and the central nervous system / S.C. Nallar, D.V. Kalvakolanu // *J Interferon Cytokine Res.* – 2014. – Vol. 34. – № 8. – P. 559-76.
486. National Center for Health Statistics. National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) body composition procedures manual. – Centers for Disease Control and Prevention. Hyattsville. – MD. – 2006.
487. National Institutes of Health. Autoimmune diseases coordinating committee. – Autoimmune Diseases Research Plan. – 2002. – 60 p.
488. National Library of Medicine URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (дата обращения: 04.07.2022).
489. Negative regulation of interferon-regulatory factor 3-dependent innate antiviral response by the prolyl isomerase Pin1 / T. Saitoh, A. Tun-Kyi, A. Ryo, [et al.] // *Nat Immunol.* – 2006. – Vol. 7. – P. 598-605.
490. Nestle, F.O. Psoriasis / F.O. Nestle, D.H. Kaplan, J. Barker // *New England Journal of Medicine.* – 2009. – Vol. 361. – № 5. – P. 496-509.
491. Neuroimmunological investigations of cerebrospinal fluid in patients with recent onset depression – a study protocol / N.V. Sorensen, S. Orlovska-Waast, R. Jeppesen, [et al.] // *BMC Psychiatry.* – 2022. – Vol. 22. – № 1. – P. 35.
492. Neutralising antibodies to interferon beta in multiple sclerosis: expert panel report / H.P. Hartung, C. Polman, A. Bertolotto, [et al.] // *J Neurol.* – 2007. – Vol. 254. – № 7. – P. 827-37.
493. New and emerging treatments for inflammatory Itch / A. Datsi, M. Steinhoff, F. Ahmad, [et al.] // *Allergy.* – 2021. – Vol. 76. – P. 2982–2997.
494. New approaches of rheumatoid arthritis treatment / T.P. Ospelnikova, S.S. Grigorian, A.L. Kovalenko, [et al.] // *J. Interferon & Cytokine Research.* – 1999. – Vol. 19. – Supp. 1. – P.123.
495. New perspectives in the natural history of multiple sclerosis / H. Tremlett, Y. Zhao, P. Rieckmann, [et al.] // *Neurology.* – 2010. – Vol. 74. – № 24. – P. 2004-15.
496. New preparation in rheumatoid arthritis treatment / T.P. Ospelnikova, S.S. Grigorian, O.N. Yegorova, [et al.] // *European Cytokine Network.* – 2000. – Vol. 11. – P. 203.
497. NKp46 O-glycan sequences that are involved in the interaction with hemagglutinin type 1 of influenza virus / M. Mendelson, Y. Tekoah, A. Zilka, [et al.] // *J Virol.* – 2010. – Vol. 84. – № 8. – P. 3789-97.

498. Noronha, A. Neutralizing antibodies to interferon / A. Noronha // *Neurology*. – 2007. – Vol. 68. – Supp. 4. – S16-S22.
499. Novak, N. Viruses and asthma: the role of common respiratory viruses in asthma and its potential meaning for SARS-CoV-2 / N. Novak, B. Cabanillas // *Immunology*. – 2020. – Vol. 161. – № 2. – P. 83-93.
500. Novel and potential future therapeutic options in systemic autoimmune diseases / L. Balogh, K. Olah, S. Santa, [et al.] // *Front. Immunol.* – 2024. – Vol. 15. – P. 1249500.
501. O'Shea, J.J. Cytokines and autoimmunity / J.J. O'Shea, A. Ma, P. Lipsky // *Nature Reviews. Immunology*. – 2002. – Vol. 2. – P. 37-45.
502. O'Brien, T.R. IFN- λ 4: the paradoxical new member of the interferon lambda family / TR. O'Brien, L. Prokunina-Olsson, R.P. Donnelly // *J Interferon Cytokine Res.* – 2014 – Vol.34 – № 11. – P. 829-38.
503. Oksenberg, J. R. Multiple sclerosis genetics - is the glass half full, or half empty? / J.R. Oksenberg, S.E. Baranzini // *Nat Rev Neurol.* – 2010. – Vol. 6. – № 8. – P. 429-37.
504. Oliveira, C. More than skin deep: The systemic nature of atopic dermatitis / C. Oliveira, T. Torres // *Eur. J. Dermatol.* – 2019. – Vol. 29. – P. 250-258.
505. Ong, P.Y. The Infectious Aspects of Atopic Dermatitis / P.Y. Ong, D.Y.M. Leung // *Immunol. Allergy Clin. North Am.* – 2010. – Vol. 30. – № 3. – P. 309-321.
506. Opposing actions of IL-2 and IL-21 on Th9 differentiation correlate with their differential regulation of BCL6 expression / W. Liao, R. Spolski, P. Li, [et al.] // *PNAS*. – 2014. – Vol. 111. – № 9. – P. 3508-3513.
507. Pang, I. K. Inflammasomes as mediators of immunity against influenza virus / IK. Pang, A. Iwasaki // *Trends Immunol.* – 2011. – Vol. 32. – № 1. – P. 34-41.
508. Park, A. Type I and type III interferons – induction, signaling, evasion, and application to combat COVID-19 / A. Park, A. Iwasaki // *Cell Host Microbe*. – 2020. – Vol. 27. – № 6. – P. 870-8.
509. Patent № WO2010059970A2 The United States Of America. Compositions for detecting human interferon-alpha subtypes and methods of use / R. Rabin, V. P. Mane // URL: <https://patents.google.com/patent/WO2010059970A2/en> (date of access: 03.08.2022).
510. Pathogenicity of influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus: functional roles of alveolar macrophages and neutrophils in limiting virus replication and mortality in mice / T.M. Tumpey, A. García-Sastre, J.K. Taubenberger, [et al.] // *J Virol.* – 2005. – Vol. 79. – № 23. – P. 14933-14944.
511. Pawankar, R. The WAO White Book on Allergy / R. Pawankar, G.W. Canonica // – 2013. – 248 p.

512. Peiser, L. Scavenger receptors in innate immunity / L. Peiser, S. Mukhopadhyay, S. Gordon // *Curr Opin Immunol.* – 2002. – Vol. 14. – № 1. – P. 123-8.
513. Pender, M. P. The essential role of Epstein-Barr virus in the pathogenesis of multiple sclerosis / M.P. Pender // *Neuroscientist.* – 2011. – Vol. 17. – P. 351-367.
514. Peripheral blood mononuclear cells from patients with bronchial asthma show impaired innate immune responses to rhinovirus in vitro / K. Jikura, T. Katsunuma, S. Saika, [et al.] // *Int Arch Allergy Immunol.* – 2011. – Vol. 155. – Supp. 1 – P. 27-33.
515. Petermann, F. Cytokines and effector T cell subsets causing autoimmune CNS disease / F. Petermann, T. Korn // *FEBS Lett.* – 2011. – Vol. 585. – № 23. – P. 3747-57.
516. Peterson, L. K. Inflammation, demyelination, neurodegeneration and neuroprotection in the pathogenesis of multiple sclerosis / L.K. Peterson, R.S. Fujinami // *J Neuroimmunol.* – 2007. – Vol. 184. – P. 37-44.
517. Pharmacogenomics of responsiveness to interferon IFN-beta treatment in multiple sclerosis: a genetic screen of 100 type I interferon-inducible genes / S. Cunningham, C. Graham, M. Hutchinson, [et al.] // *Clin Pharmacol Ther.* – 2005. – Vol. 78. – P. 635–646.
518. Pharmacology and therapeutic potential of pattern recognition receptors / M. J. Paul-Clark, P. M. George, T. Catheral, [et al.] // *Pharmacology a. Therapeutics.* – 2012. – Vol.135. – № 2. – P.200-215.
519. Pisetsky, D. S. New insights into the role of antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus / D. S. Pisetsky, P. E. Lipsky // *Nat Rev Rheumatol.* – 2020. – Vol. 16. – № 10. – P. 565-579.
520. Pisetsky, D. S. Pathogenesis of autoimmune disease / D. S. Pisetsky // *Nature Reviews Nephrology.* – 2023. – Vol. 19. – P. 509–524.
521. PLATINO Team. Increased risk of exacerbation and hospitalization in subjects with an overlap phenotype: COPD-asthma / A.M. Menezes, M. Montes de Oca, R. Pérez-Padilla, [et al.] // *Chest.* – 2014 – Vol. 145. – № 2. – P. 297-304.
522. Posnett, D. N. Amplification of autoimmune disease by infection / D. N. Posnett, D. Yarilin // *Arthritis Research&Therapy.* – 2005. – Vol. 7. – P. 74-84.
523. Precision medicine in patients with allergic diseases: Airway diseases and atopic dermatitis-PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology / A. Muraro, R. F. Lemanske, P. W. Hellings, [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2016. – Vol. 137. – P. 1347–1358.
524. Presence of IgE antibodies to staphylococcal exotoxins on the skin of patients with atopic dermatitis. Evidence for a new group of allergens / D.Y. Leung, R. Harbeck, P. Bina, [et al.] // *J. Clin. Investig.* – 1993. – Vol. 2. – P.1374-1380. doi: 10.1172/JCI116711

525. Prevalence and Economic Burden of Respiratory Diseases in Central Asia and Russia: A Systematic Review / A. Tabyshova, B. Emilov, M.J. Postma, [et al.] // *Int J Environ Res Public Health*. – 2020 – Vol. 17. – № 20. – P. 7483.
526. Prevalence of allergic rhinitis, related comorbidities and risk factors in schoolchildren / M. Sultész, A. Horváth, D. Molnár, [et al.] // *Allergy Asthma Clin Immunol*. – 2020. – Vol. 16. – P. 98.
527. Prevalence of anti-drug antibodies against interferon beta has decreased since routine analysis of neutralizing antibodies became clinical practice / R. Jungedal, M. Lundkvist, E. Engdahl, [et al.] // *Mult Scler*. – 2012. – Vol. 18. – № 12. – P. 1775-1781.
528. Prevalence of asthma in patients with atopic dermatitis: A systematic review and meta-analysis / N. Ravnborg, D. Ambikaibalan, G. Agnihotri, [et al.] // *J Am Acad Dermatol*. – 2021. – Vol. 84. – № 2. – P. 471-478.
529. Prevalence of type-1 interferon autoantibodies in adults with non-COVID-19 acute respiratory failure / R. Ghale, N. Spottiswoode, M. S. Anderson, [et al.] // *Respir Res*. – 2022. – Vol. 23. – № 1. – P. 354.
530. Profiling of sputum inflammatory mediators in asthma and chronic obstructive pulmonary disease / M. Bafadhel, M. McCormick, S. Saha, [et al.] // *Respiration*. – 2012. – Vol. 83. – P. 36-44.
531. Progression of acute-to-chronic atopic dermatitis is associated with quantitative rather than qualitative changes in cytokine responses / L.C. Tsoi, E. Rodriguez, D. Stölzl, [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol*. – 2020. – Vol. 145. – P. 1406-1415.
532. Proliferation and interferon production in whole blood samples and isolated lymphocyte preparations / K. Doldi, M. Leroux, R. Augustin, [et al.] // *J Interferon Res*. – 1985. – Vol. 5. – № 1. – P. 55-64.
533. Psychiatric side effects of interferon-beta in MS / J.L. Goeb, C. Even, G. Nicolas, [et al.] // *Eur Psychiatry*. – 2006. – Vol. 21. – P. 186-193.
534. Racke M.K. Toll-like receptors in multiple sclerosis / M. K. Racke, P. D. Drew // *CurrTopMicrobiolImmunol*. – 2009. – Vol. 336. – P. 155-68.
535. Rajsbaum, R. TRIMmunity: the roles of the TRIM E3-ubiquitin ligase family in innate antiviral immunity / R. Rajsbaum, A. Garcia-Sastre, G.A. Versteeg // *J Mol Biol*. – 2014. – Vol. 426. – P. 1265-1284.
536. Ransohoff, R. M. Multiple sclerosis-a quiet revolution / R. M. Ransohoff, D. A. Hafler, C. F. Lucchinetti // *Nat Rev Neurol*. – 2015. – Vol. 11. – № 3. – P. 134-42.
537. Recent advances in mast cell activation and regulation / H. S. Kim, Yu. Kawakami, K. Kasakura, [et al.] // *F1000Research*. – 2020. – Vol. 19. – P. 9.

538. Recognition of viral hemagglutinins by NKp44 but not by NKp30 / T. I. Arnon, M. Lev, G. Katz, [et al.] // *Eur J Immunol.* – 2001. – Vol. 31. – №9. – P. 2680-2689.
539. Recommendations for clinical use of data on neutralizing antibodies to interferon-beta therapy in multiple sclerosis / C. H. Polman, A. Bertolotto, E. Deisenhammer, [et al.] // *Lancet Neurol.* – 2010. – Vol. 9. – P. 740-750.
540. Reeth, K. V. Cytokines in the pathogenesis of influenza / K. V. Reeth // *Veterinary Microbiology.* – 2000. – Vol. 74. – P. 109-116.
541. Re-examination of the risk of autoimmune diseases after dengue virus infection: A population-based cohort study / H. I. Shih, C. Y. Chi, P. F. Tsai, [et al.] // *PLoS Negl Trop Dis.* – 2023 – Vol. 17. – № 3. – P. e0011127.
542. Regulation and Function of Interferon-Lambda (IFN λ) and Its Receptor in Asthma / S. Krammer, C. Sicorschi Gutu, J.C. Grund, [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 10. – № 12. – P. 731807.
543. Regulatory B cell: New member of immunosuppressive cell club / T. Ding, F. Yan, S. Cao, [et al.] // *Hum Immunol.* – 2015. – Vol. 76. – № 9. – P. 615-621.
544. Respiratory infections and asthma / G. Pelaia, A. Vatrella, L. Gallelli, [et al.] // *Respir Med.* – 2006. – Vol. 100. – № 5. – P. 775-784.
545. Respiratory Viruses and Proinflammatory Cytokines Imbalance in Adults and Children with Bronchial Asthma / T.P. Ospelnikova, O.V. Morozova, E.I. Isaeva, [et al.] // *Journal of Infectious Diseases & Preventive Medicine.* – 2016. – № 4. – P. 2.
546. Respiratory viruses, symptoms, and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease / T. Seemungal, R. Harber-Owen, A. Bhowmik, [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2001. – Vol. 164. – № 9. – P. 1618-1623.
547. Respiratory viruses: New frontiers-a Keystone Symposia report / J. Cable, J. Sun, I.S. Cheon, [et al.] // *Ann N Y Acad Sci.* – 2023. – Vol. 1522. – № 1. – P. 60-73.
548. Review. Lambda Interferons: New Cytokines with Old Functions / O. J. Hamming, H. H. Gad, S. Paludan, [et al.] // *Pharmaceuticals.* – 2010. – Vol. 3. – P. 795-809.
549. Rhinitis prevalence and association with atopic dermatitis: A systematic review and meta-analysis / M.H. Knudgaard, T.H. Andreasen, N. Ravnborg, [et al.] // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2021. – Vol. 127. – № 1. – P. 49-56.
550. Rhinovirus infection induces degradation of antimicrobial peptides and secondary bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease / P. Mallia, J. Footitt, R. Sotero, [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2012. – Vol. 186. – № 11. – P. 1117-1124.

551. Rhinovirus infection induces distinct transcriptome profiles in polarized human macrophages / C. Rajput, M.P. Walsh, B.N. Eder, [et al.] // *Physiol Genomics*. – 2018. – Vol. 50. – № 5. – P. 299-312.
552. Richmond, J.Y. Microassay for interferon, using [³H]uridine, microculture plates, and a multiple automated sample harvester / J.Y. Richmond, J. Polatnick, R.C. Knudsen // *Appl Environ Microbiol*. – 1980. – Vol. 39. – № 4. – P. 823–827.
553. RIG-I and IL-6 are negative-feedback regulators of STING induced by double-stranded DNA / X. Wu, J. Yang, T. Na, [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12. – № 8. – P. e0182961.
554. Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition / C. Walton, R. King, L. Rechtman, [et al.] // *Mult Scler*. – 2020. – Vol. 26. – № 14. – P. 1816-1821.
555. Risk of Guillain-Barré syndrome after vaccination against human papillomavirus: a systematic review and meta-analysis / T.S. Boender, B. Bartmeyer, L. Coole, [et al.] // *Euro Surveill*. – 2022. – Vol. 27. – № 4. – P. 2001619.
556. Risk stratification for progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with natalizumab / P.S. Sørensen, A. Bertolotto, G. Edan, [et al.] // *N Engl J Med*. – 2012. – Vol. 366. – № 20. – P. 1870-1880.
557. Role of IL-23-Th17 cell axis in allergic airway inflammation / H. Wakashin, K. Hirose, I. Iwamoto, [et al.] // *Int Arch Allergy Immunol*. – 2009. – Vol. 149. – Suppl. 1. – P. 108-12.
558. Role of IL-9 and IL-10 in the pathogenesis of chronic spontaneous urticaria through the JAK/STAT signalling pathway / H. Feng, J. Feng, Z. Zhang, [et al.] // *Cell Biochem Funct*. – 2020. – Vol. 38. – № 4. – P. 480-489.
559. Role of immunosuppressive therapy for the treatment of multiple sclerosis / J.M. Stankiewicz, H. Kolb, A. Karni, [et al.] // *Neurotherapeutics*. – 2013. – № 10. – P. 77-88.
560. Role of Th22 Cells in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases / Q. Jiang, G. Yang, F. Xiao, [et al.] // *Front Immunol*. – 2021. – Vol. 6. – № 12. – P. 688066.
561. Role of type I interferons in the activation of autoreactive B cells / K. Kiefer, M.A. Oropallo, M.P. Cancro, [et al.] // *Immunol Cell Biol*. – 2012. – Vol. 90. – № 5. – P. 498-504.
562. Rudick, R. A. Beta-interferon for multiple sclerosis / R.A. Rudick, S.E. Goelz // *Exp Cell Res*. – 2011. – Vol. 317. – № 9. – P. 1301-1311.
563. Rudick, R. A. Interferon β induces interleukin-10 expression: relevance to multiple sclerosis / R. A. Rudick // *Ann. Neurol*. – 1996. – Vol. 40. – P. 618-627.
564. Rudick, R. A. Multiple sclerosis: is multiple sclerosis caused by venous insufficiency? / R. A. Rudick // *Nat Rev Neurol*. – 2010. – Vol. 6. – № 9. – P. 472-4.

565. Rynda-Apple, A. Influenza and bacterial superinfection: illuminating the immunologic mechanisms of disease / A. Rynda-Apple, K.M. Robinson, J.F. Alcorn // *Infect. Immun. Am Soc Microbiol.* – 2015. – Vol. 83. – № 10. – P. 3764–3770.
566. Sadovnick, A. D. The multiple sclerosis trait: a disease waiting to happen? / A. D. Sadovnick // *Clin Neurol Neurosurg.* – 2004. – Vol. 106. – № 3. – P. 172-4.
567. Salvetti, M. Epstein- Barr virus and multiple sclerosis / M. Salvetti, G. Giovannoni, F. Aloisis. // *Curr Opin Neurol.* – 2009. – Vol. 22. – P. 201-206.
568. SARS-CoV-2 infection induces a pro-inflammatory cytokine response through cGAS-STING and NF- κ B / C.J. Neufeldt, B. Cerikan, M. Cortese, [et al.] // *Commun. Biol.* – 2022. – Vol. 5. – № 1. – P. 45.
569. Savarin-Vuaillet, C. Chemokines and chemokine receptors in neurological disease: raise, retain, or reduce? / C. Savarin-Vuaillet, R. M. Ransohoff // *Neurotherapeutics.* – 2007. – Vol. 4. – № 4. – P. 590-601.
570. Scott, D. L. Rheumatoid arthritis / D. L. Scott, F. Wolfe, T. W. Huizinga // *The Lancet. Elsevier.* – 2010 – Vol. 376. – № 9746. – P. 1094-1108.
571. Secretory IgA and Course of COVID-19 in Patients Receiving a BacteriaBased Immunostimulant Agent in Addition to Background Therapy / M. Kostinov, O. Svitich, A. Chuchalin, V. Osipcov, E. Khromova, N. Abramova, V. Tatevosov, A. Vlasenko, V. Gajnitdinova, D. Pakhomov, K. Mashilov, T. Ospelnikova, N. Mikhailova, V. Polishchuk, E. Kurbatova, A. Kostinova // *Journal of Clinical and cellular Immunology.* – 2024 – Vol. 14. – Iss. 2. – No: 1000682 – 11 p.
572. Self-reported allergies in Russia and impact on skin / S. Seité, C. Taieb, T. Lazic Strugar, [et al.] // *SAGE Open Medicine.* – 2020. – Vol. 8. – № 6. – P. 2050312120957916.
573. Sen, G. Viruses and interferons / G. Sen // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2001. – Vol.55. – P.255–281.
574. Seo, J-Y. Viperin: a multifunctional, interferon-inducible protein that regulates virus replication / J-Y. Seo, R. Yaneva, P. Cresswell // *Cell Host Microbe.* – 2011. – Vol. 10. – № 6. – P. 534-539.
575. Serum IL-2, IL-6, TNF- α and NO levels in patients with BehÇet's disease / N. Akdeniz, M. Esrefoglu, M.S. Keles, [et al.] // *Ann Acad Med Singapore.* – 2004. – Vol. 33. – P. 596-599.
576. Seth, R.B. Antiviral innate immunity pathways / R.B. Seth, L. Sun, Z.J. Chen // *Cell. Research.* – 2006. – Vol.16. – P. 141-147.
577. Sethi, S. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease / S. Sethi, T.F. Murphy // *N Engl J Med.* – 2008. – Vol. 359. – № 22. – P. 2355–2365.

578. Seven classes of antiviral agents / A. Ianevski, S. Ahmad, K. Anunnitipat, [et al.] // *Cell Mol Life Sci.* – 2022. – Vol. 79. – № 12. – P. 605.
579. Sie, C. Th17 cells in central nervous system autoimmunity / C. Sie, T. Korn, M. Mitsdoerffer // *Exp Neurol.* – 2014. – Vol. 262. – P. 18-27.
580. Simon, D. Recent Advances in Clinical Allergy and Immunology 2019 / D. Simon // *Int Arch Allergy Immunol.* – 2019. – Vol. 180. – № 4. – P. 291-305.
581. Singla, A. K. Caerulomycin A suppresses immunity by inhibiting T cell activity / A. K. Singla // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – P. e107051.
582. Soldan, S. S. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis / S.S. Soldan, P.M. Lieberman // *Nat Rev Microbiol.* – 2023. – Vol. 21. – № 1. – P. 51-64.
583. Song, Y. Evolving understanding of autoimmune mechanisms and new therapeutic strategies of autoimmune disorders / Y. Song, J. Li, Y. Wu // *Signal Transduct Target Ther.* – 2024. – Vol. 4. – № 9. – P. 263.
584. Sorensen, P.S. Antidrug Antibodies Against Biological Treatments for Multiple Sclerosis / P.S. Sorensen // *CNS Drugs.* – 2022. – Vol. 36. – P. 569-589.
585. Sorensen, P.S. Effects of neutralizing antibodies to interferon beta in multiple sclerosis: A logical paradox / P.S. Sorensen // *Multiple Sclerosis.* – 2012. – Vol. 18. – P. 131-132.
586. Sospedra, M. Immunology of multiple sclerosis / M. Sospedra, R. Martin // *Annu Rev Immunol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 683-747.
587. Standardizing scavenger receptor nomenclature / M. Prabhudas, D. Bowdish, K. Drickamer, [et al.] // *J. Immunol.* – 2014. – P. 192.
588. Steinman L. The discovery of natalizumab, a potent therapeutic for multiple sclerosis / L. Steinman // *J Cell Biol.* – 2012. – Vol. 199. – P. 413-416.
589. Strayer, D. R. Recombinant and natural human interferons: analysis of the incidence and clinical impact of neutralizing antibodies / D.R. Strayer, W.A. Carter // *J Interferon Cytokine Res.* – 2012. – Vol. 32. – № 3. – P. 95-102.
590. Structural basis for the sequence-specific recognition of human ISG15 by the NS1 protein of influenza B virus / R. Guan, L-C. Ma, P.G. Leonard, [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2011. – Vol. 108. – № 33. – P. 13468-13473.
591. Structural basis for translational shutdown and immune evasion by the Nsp1 protein of SARS-CoV-2 / M. Thoms, R. Buschauer, M. Ameismeier, [et al.] // *Science.* – 2020. – P. eabc8665.
592. Structural basis of CpG and inhibitory DNA recognition by Toll-like receptor 9 / U. Ohto, T. Shibata, H. Tanji, [et al.] // *Nature.* – 2015 – Vol. 518 – P. 2-6.
593. Structures of influenza A proteins and insights into antiviral drug targets / K. Das, J.M. Aramini, L.C. Ma, [et al.] // *Nat Struct Mol Biol.* – 2010. – Vol. 17. – № 5. – P. 530-538.

594. Suppression of Interferon Lambda Signaling by SOCS-1 Results in Their Excessive Production during Influenza Virus Infection / H. Wei, S. Wang, Q. Chen, [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2014. – Vol. 10. – № 1. – P. e1003845.
595. Swiecki, M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells / M. Swiecki, M. Colonna // *Nat Rev Immunol.* – 2015. – Vol. 15. – P. 471-485.
596. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort LUMINA (XLI): factors predictive of self-reported work disability / A.M. Bertoli, M. Fernández, G.S. Alarcón, [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2007. – Vol. 66. – № 1. – P. 12-17.
597. Takeuchi, O. Recognition of viruses by innate immunity / O. Takeuchi, S. Akira // *Immunol Rev.* – 2007. – Vol. 220. – P. 214-224.
598. Tantilipikorn, P. The relationship between allergic rhinitis and viral infections / P. Tantilipikorn // *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* – 2014. – Vol. 22. – № 3. – P. 249-52.
599. Targeting T-cell senescence and cytokine storm with rapamycin to prevent severe progression in COVID-19 / L. Omarjee, A. Janin, F. Perrot, [et al.] // *Clin Immunol.* – 2020. – Vol. 216. – P. 108464.
600. Teige, I. IFN- β inhibits T cell activation capacity of central nervous system APCs / I. Teige, Y. Liu, S. Issazadeh-Navikas // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177. – P. 3542–3553.
601. TGF- β 1 in plasma and cerebrospinal fluid can be used as a biological indicator of chronic pain in patients with osteoarthritis / Y.C. Liu, H.T. Hsiao, J.C.F. Wang, [et al.] // *PLoS One.* – 2022. – Vol. 17. – № 1. – P. e0262074.
602. Th17 cells in human disease / L.A. Tesmer, K. Lundy, S. Sarkar, [et al.] // *Immunological Reviews.* – 2008. – Vol. 223. – P. 87-113.
603. The biological activity of interferons in post-COVID syndrome / T. Ospelnikova, D. Levitskaya, L. Kolodyazhnaya, [et al.] // *European Respiratory Journal.* – Open Research. – 2022. – Vol. 8. – P. 240.
604. The Burden of Atopic Dermatitis: Summary of a Report for the National Eczema Association / A.M. Drucker, A.R. Wang, W.Q. Li, [et al.] // *J Investig Dermatol.* – 2017. – Vol. 137. – № 1. – P. 26-30.
605. The E3-ligase TRIM family of proteins regulates signaling pathways triggered by innate immune pattern-recognition receptors / G.A. Versteeg, R. Rajsbaum, M.T. Sanchez-Aparicio, [et al.] // *Immunity.* – 2013. – Vol. 38. – P. 384-398.
606. The Emerging Roles of STING in Bacterial Infections / F.V. Marinho, S. Benmerzoug, S.C. Oliveira, [et al.] // *Trends Microbiol.* – 2017. – Vol. 25. – № 11. – P. 906-918.

607. The global burden of atopic dermatitis: Lessons from the Global Burden of Disease Study 1990–2017 / M.R. Laughter, M.B.C. Maymone, S. Mashayekhi, [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 2021. – Vol. 184. – P. 304–309.
608. The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review / Almutairi K, Nossent J, Preen D, [et al.] // *Rheumatol Int.* – 2021. – Vol. 41. – № 5. – P. 863–877.
609. The Global, Regional, and National Burden of Psoriasis: Results and Insights From the Global Burden of Disease 2019 Study / G. Damiani, N.L. Bragazzi, C. Karimkhani Aksut, [et al.] // *Front Med (Lausanne).* – 2021. – Vol. 8. – P. 743180.
610. The impact of neutralizing antibodies on the risk of disease worsening in interferon β -treated relapsing multiple sclerosis: a 5 year post-marketing study / D. Paolicelli, M D'Onghia, F Pellegrini, [et al.] // *J Neurol.* – 2013. – Vol. 260. – № 6. – P.1562-1568.
611. The interaction between farming/rural environment and TLR2, TLR4, TLR6 and CD14 genetic polymorphisms in relation to early- and late-onset asthma / M. Y. Lau, S. C. Dharmage, J. A. Burgess, [et al.] // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 6. – P. 7:43681.
612. The Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. URL: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html> (date of access 01.10.2023).
613. The multifaceted role of Fas signaling in immune cell homeostasis and autoimmunity / R. M. Siegel, F. K. Chan, H. J. Chun, [et al.] // *Nat Immunology.* – 2000. – Vol. 1. – № 6. – P. 469–474.
614. The possible mechanisms of action of 4-aminoquinolines (chloroquine/hydroxychloroquine) against Sars-Cov-2 infection (COVID-19): A role for iron homeostasis? / E.Q. Roldan, G. Biasiotto, P. Magro, [et al.] // *Pharmacol Res.* – 2020. – Vol. 158. – P. 104904.
615. The Prevalence of Autoimmune Disorders in Women: A Narrative Review / F. Angum, T. Khan, J. Kaler, [et al.] // *Cureus.* – 2020. – Vol. 12. – № 5. – P. e8094.
616. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis / J.M. Frisher, S. Bramow, A. Dal Bianco, [et al.] // *Brain* – 2009. – Vol. 132. – P. 1175-1189.
617. The role of inflammation in autoimmune disease: a therapeutic target / Y. Xiang, M. Zhang, D. Jiang, [et al.] // *Front. Immunol.* – 2023. – P. 14.
618. The Role of Neutrophils in Spondyloarthritis: A Journey across the Spectrum of Disease Manifestations / L. A. Coletto, C. Rizzo, G. Guggino, [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24. – № 4. – P. 4108.
619. The Role of T Helper 22 Cells in Dermatological Disorders / Yu. Pan, D. Du, L. Wang, [et al.] // *Front Immunol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 911546.

620. The role of Treg cell subsets in allergic disease / T. Boonpiyathad, Z. Ç. Sözen, M. Akdiş, [et al.] // *Asian Pac J Allergy Immunol.* – 2020. – Vol. 38. – P. 139-149.
621. The role of viral infection in pulmonary exacerbations of bronchiectasis in adults: a prospective study / Y. H. Gao, W. J. Guan, G. Xu, [et al.] // *Chest.* – 2015. – Vol. 147. – № 6. – P.1635-1643.
622. The Role of Viral Infections in the Onset of Autoimmune Diseases / B. Sundaresan, F. Shirafkan, K. Ripperger, [et al.] // *Viruses.* – 2023. – Vol. 15. – № 3. – P. 782.
623. The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity / A. Dotan, S. Muller, D. Kanduc, [et al.] // *Autoimmun Rev.* – 2021. – Vol. 20. – № 4. – P. 102792.
624. The scavenger cell pathway for lipoprotein degradation: specificity of the binding site that mediates the uptake of negatively-charged LDL by macrophages / M.S. Brown, S.K. Basu, J.R. Falck, [et al.] // *J Supramol Struct.* – 1980 – Vol. 13 – P. 67–81.
625. T-helper 17 cells expand in multiple sclerosis and are inhibited by interferon-beta / L. Durelli, L. Conti, M. Clerico, [et al.] // *Ann Neurol.* – 2009. – Vol. 65. – P. 499-509.
626. Therapy and Health Economics Group of the European Community Respiratory Health Survey. Asthma severity according to Global Initiative for Asthma and its determinants: an international study / L. Cazzoletti, A. Marcon, A. Corsico, [et al.] // *Int Arch Allergy Immunol.* – 2010. – Vol. 151. – № 1. – P. 70-79.
627. Tilles, J. G. Microassay for human and chick cell interferons / J.G. Tilles, M. Finland // *Applied Microbiol.* – 1968. – Vol. 16. – P. 1706-1708.
628. TLR4 supports the expansion of FasL+CD5+CD1dhi regulatory B cells, which decreases in contact hypersensitivity / K. Wang, L. Tao, J. Su, [et al.] // *Mol Immunol.* – 2017. – Vol. 87. – P. 188-199.
629. TLR-dependent and TLR-independent pathways of type I interferon induction in systemic autoimmunity / R. Baccala, K. Hoebe, D.H. Kono, [et al.] // *Nat Med.* – 2007. – Vol. 13. – Iss.5. – P. 543-51.
630. Tomčíková, K. Different mechanisms of the protection against influenza A infection mediated by broadly reactive HA2-specific antibodies / K. Tomčíková, E. Varečková // *Acta Virol.* – 2019. – Vol. 63. – № 4. – P. 347-365.
631. Tourbah, A. Interferons in MS: ten years experience / A. Tourbah, O. Lyon-Caen // *Biochimie.* – 2007. – Vol. 89. – P. 899-902.
632. Tracing environmental markers of autoimmunity: introducing the infectome / D. P. Bogdanos, D.S. Smyk, P. Invernizzi, [et al.] // *Immunol Res.* – 2013. – Vol. 56. – P. 220-240.

633. Trained innate immunity in animal models of cardiovascular diseases / P. Kleimann, L.M. Irschfeld, M. Grandoch, [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2024. – Vol. 25. – № 4. – P. 2312.
634. Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans / S.M. Vieira, M. Hiltensperger, V. Kumar, [et al.] // *Science.* – 2018. – Vol. 359. – Iss. 6380. – P. 1156-1161.
635. Transmission of Influenza Virus in a Mammalian Host Is Increased by PB2 Amino Acids 627K or 627E/701N / J. Steel, A.C. Lowen, S. Mubareka, [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2009. – Vol. 5. – № 1. – P. e1000252.
636. TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity / M.U. Gack, Y.C. Shin, C.H. Joo, [et al.] // *Nature* – 2007. – Vol. 446. – P. 916–920.
637. TRIM8 is required for virus-induced IFN response in human plasmacytoid dendritic cells / G. Maarifi, N. Smith, S. Maillet, [et al.] // *Sci Adv.* – 2019. – Vol. 5. – P. eaax3511.
638. Trinchieri, G. Type I interferon: friend or foe? // G. J. Trinchieri // *Exp.Med.* – 2010. – Vol. 207. – P. 2053-2063.
639. Type 1 interferon status in systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis / M. Northcott, S. Jones, R. Koelmeyer, [et al.] // *Lupus Sci Med.* – 2022. – № 9. – P. e000625.
640. Type 2 immunity in the skin and lungs / C.A. Akdis, P.D. Arkwright, M.C. Brügggen, [et al.] // *Allergy.* – 2020. – Vol. 75. – № 7. – P. 1582-1605.
641. Type I interferon detection in autoimmune diseases: challenges and clinical applications / V.E. Papadopoulos, C. Skarlis, M.E. Evangelopoulos, [et al.] // *Expert Rev Clin Immunol.* – 2021. – Vol. 17. – № 8. – P. 883-903.
642. Type I Interferons in Autoimmunity: Implications in Clinical Phenotypes and Treatment Response / A.C. Londe, R. Fernandez-Ruiz, P.R. Julio, [et al.] // *J Rheumatol.* – 2023. – Vol. 50. – № 9. – P. 1103-1113.
643. Type III IFNs: Beyond antiviral protection / S.V. Kotenko, A. Rivera, D. Parker, [et al.] // *Semin Immunol.* – 2019. – Vol. 43. – P. 101303.
644. Uchida, A. Epidemiology of asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap (ACO) / A. Uchida, K. Sakaue, H. Inoue // *Allergol Int.* – 2018. – Vol. 67. – № 2. – P. 165-171.
645. Ultrasensitive serum Interferon- α quantification during SLE remission identifies patients at risk for relapse / A. Mathian, S. Mouries-Martin, K. Dorgham, [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2019. – Vol. 12. – P. 1669-1676.
646. Untuned antiviral immunity in COVID-19 revealed by temporal type I/III interferon patterns and flu comparison / I.E. Galani, N. Rovina, V. Lampropoulou, [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2021. – Vol. 22. – № 1. – P. 32-40.

647. Urticaria: Collegium Internationale Allergologicum (CIA) Update 2020 / M. Maurer, K. Eyerich, S. Eyerich, [et al.] // *Int Arch Allergy Immunol.* – 2020 – Vol. 181. – № 5. – P. 321–333.
648. Usefulness of Cytokine Gene Polymorphisms for the Therapeutic Choice in Japanese Patients with Rheumatoid Arthritis / S. Tsujimoto, Y. Ozaki, T. Ito, [et al.] // *Int J Gen Med.* – 2021. – Vol. 14. – P. 131-9.
649. van Beers, M.M. On the role of aggregates in the immunogenicity of recombinant human interferon beta in patients with multiple sclerosis / M.M. van Beers, W. Jiskoot, H. Schellekens // *J Interferon Cytokine Res.* – 2010. – Vol. 30. – P. 767-775.
650. Van Lint, P. Chemokine and cytokine processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation / P. Van Lint, C. Libert // *J Leukoc Biol.* – 2007. – Vol. 82. – № 6. – P. 1375-1381.
651. Vasculitis and expression of vascular cell adhesion molecule-1, intercellular adhesion molecule-1, and E-selectin in salivary glands of patients with Sjögren's syndrome / N. Turkcapar, S. Sak, M. Duman, [et al.] // *J Rheumatol.* 2005. – Vol. 32. – № 6. – P. 1063-1070.
652. Vilcek, J. Novel interferons / J. Vilcek // *Nature immunology.* – 2003. – Vol. 4. – № 1. – P. 8-9.
653. Viral Invasion and Type I Interferon Response Characterize the Immunophenotypes During Covid-19 Infection / L. Wei, S. Ming, B. Zou, [et al.] // *SSRN Journal.* – 2020. URL: <http://ssrn.com/abstract=3564998> (date of access 01.08.2022).
654. Viral pathophysiology of multiple sclerosis: a role for Epstein-Barr virus infection? / A.H. Maghzi, M. Marta, I. Bosca, [et al.] // *Pathophysiology.* – 2010. – Vol. 18. – P. 13-20.
655. Viral Respiratory Pathogens and Lung Injury / N. Clementi, S. Ghosh, M. De Santis, [et al.] // *Clin Microbiol Rev.* – 2021. – Vol. 34. – № 3. – P. e00103-20.
656. Viral-induced asthma exacerbations / I.C. Bocsan, G.M. Feketea, R. Pop, [et al.] // *Alergologia.* – 2023. – Vol. 4. – № 1. – P. 180-186.
657. Virtanen, J. O. Viruses and multiple sclerosis / J.O. Virtanen, S. Jacobson // *CNS Neurol Dicord Drug Targets.* – 2012. – P. 11.
658. Virus detection and cytokine profile in relation to age among acute exacerbations of childhood asthma / M. Kato, K. Suzuki, Y. Yamada, [et al.] // *Allergol Int.* – 2015. – Vol. 64. – P. 64-70.
659. Viruses and Autoimmunity: A Review on the Potential Interaction and Molecular Mechanisms / M.K. Smatti, F.S. Cyprian, G.K. Nasrallah, [et al.] // *Viruses.* – 2019. – Vol. 11. – № 8. – P. 762.
660. von Büdingen, H.C. B cells in multiple sclerosis: connecting the dots / H.C. von Büdingen, A. Bar-Or, S.S. Zamvil // *Curr Opin Immunol.* – 2011. – Vol. 23. – № 6. – P. 713-20.

661. Waghmode, R. The Burden of Respiratory Viruses and Their Prevalence in Different Geographical Regions of India: 1970–2020 / R. Waghmode, S. Jadhav, V. Nema // *Front. Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 723850.
662. Wagner, H. Endogenous TLR ligands and autoimmunity // H. Wagner // *Adv Immunol.* – 2006. – Vol. 91. – P. 159-173.
663. Wang, W.M. Role of interferon regulatory factor-mediated signaling in psoriasis / W.M. Wang, F. Li, H.Z. Jin // *Int J Med Sci.* – 2021. – Vol. 18. – № 16. – P. 3794-3799.
664. Wang, Y. Immunological factors, important players in the development of asthma / Y. Wang, L. Liu // *BMC Immunol.* – 2024. – Vol. 25. – № 1. – P. 50.
665. Webb, D.C. Distinct spatial requirement for eosinophil-induced airway hyperreactivity. / D.C. Webb // *Immuno. Cell. Biol.* – 2001. – Vol. 2. – № 79. – P. 165-169.
666. WHO. World Health Organization fact sheet: Influenza (Seasonal). Geneva; 2021. URL: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)). (date of access 22.08.2023).
667. World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics / A. Fiocchi, R. Pawankar, C. Cuello-Garcia, [et al.] // *World Allergy Organ J.* – 2015. – Vol. 8. – № 1. – P. 4.
668. World Health Organisation (WHO). Global influenza strategy summary 2019-2030 influenza. Geneva: WHO; 2019. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515320>. (date of access 22.08.2023).
669. Xepapadaki, P. Viral infections and allergies / P. Xepapadaki, N.G. Papadopoulos // *Immunobiology.* – 2007. – Vol. 212. – № 6. – P. 453-9.
670. Yamaguchi, H.L. Role of Innate Immunity in Allergic Contact Dermatitis: An Update / H.L. Yamaguchi, Y. Yamaguchi, E. Peeva // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Vol. 24. – № 16. – P. 12975.
671. Ye, L. Interferon- λ orchestrates innate and adaptive mucosal immune responses / L. Ye, D. Schnepf, P. Staeheli // *Nat. Rev. Immunol.* – 2019. – Vol. 19. – № 10. – P. 614–625.
672. Yen, J.H. Interferon beta induces mature dendritic cell apoptosis through caspase-11/caspase-3 activation / J.H. Yen, D. Ganea // *Blood.* – 2009. – Vol. 114. – № 7. – P. 1344-54.
673. Yerrapragada, M. Interferon- γ detection in point of care diagnostics: Short review / M. Yerrapragada, D. Mampallil // *Talanta.* – 2022. – Vol. 245. – P. 123428.
674. Yong, V.W. Differential mechanisms of action of interferon-beta and glatiramer acetate in MS / V.W. Yong // *Neurology.* – 2002. – Vol. 59. – № 6. – P. 802-808.
675. Zhang, L. Type1 Interferons Potential Initiating Factors Linking Skin Wounds With Psoriasis Pathogenesis / L. Zhang // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1440.

676. Zouboulis, Ch.C. Epidemiology of Adamantiades–Behcet’s disease / Ch.C. Zouboulis // *Ann. Med. Interne (Paris)*. – 1999. – Vol. 150. – P. 488-498.

ПРИЛОЖЕНИЯ**ПРИЛОЖЕНИЕ А**

Основные положения диссертации представлены на Международных конгрессах по Интерферонам и Цитокинам в Амстердаме (5-9 ноября, 2000), Турине (6-10 октября, 2002), Вене (27-31 августа, 2006), Оксфорде (16-19 сентября, 2007), Флоренции (9-12 октября, 2011); IV съезде иммунологов и аллергологов СНГ в Москве (12-14 сентября, 2001); VIII Всероссийском съезде неврологов в Казани (21-24 мая, 2001); II Российской конференции «Нейроиммунопатология» в Москве (21-23 мая, 2002); VI конгрессе Европейской Федерации неврологических обществ в Вене (26-29 октября, 2002); XV Европейском иммунологическом конгрессе в Родосе (8-12 июня, 2003); V, X, XII Конгрессах РААКИ «Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии» в Москве (12-14 ноября, 2002), Казани (20-23 мая, 2009), Москве (11-13 марта 2013 г.), соответственно; III Международной конференции «Клинические исследования лекарственных средств» в Москве (15-17 октября, 2003); IV Всемирном конгрессе по астме IX Объединенных иммунологических форумах в Екатеринбурге (31 мая-4 июня, 2004), Санкт-Петербурге (30 июня-5 июля, 2008), Нижнем Новгороде (30 июня-5 июля, 2013); II Всемирном конгрессе по иммунопатологии и аллергии в Москве (14-17 мая, 2004); XVII, XIX, XXI Национальных Конгрессах по болезням органов дыхания в Казани (2-5 октября, 2007), Москве (10-13 ноября, 2009), Уфе (25-28 октября, 2011), соответственно; XX Всемирном аллергологическом конгрессе в Бангкокке (2-6 декабря, 2007); научной конференции с международным участием «Дни иммунологии в Сибири-2008» в Томске (16-19 сентября, 2008); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы клинической неврологии» в Санкт-Петербурге (29-30 сентября, 2009); Российских Национальных Конгрессах «Человек и лекарство» в Москве (2001, 2003, 2006, 2007, 2009, 2010); Всероссийских научных Форумах «Дни иммунологии» в Санкт-Петербурге (2000, 2001, 2006, 2008, 2009, 2011); XIV Международном конгрессе иммунологии в Кобе (22-27 августа, 2010); Национальной конференции «Клиническая иммунология и аллергология – практическому здравоохранению» в Москве (20-21 февраля, 2012); XIV Международном конгрессе МАКМАХ по антимикробной терапии в Москве (23-25 мая, 2012); Межрегиональном Форуме «Клиническая иммунология и аллергология- междисциплинарные проблемы» в Казани (25-27 сентября, 2012); I Научно-практической конференции «Простуда и Грипп» в Москве (3-5 октября, 2012); XII Конгрессе «Современные проблемы иммунологии, аллергологии и иммунофармакологии» в Москве (11-13 марта, 2013); I Конгрессе Российского комитета исследователей рассеянного склероза с

международным участием «Демиелинизирующие заболевания и нейроинфекции, вопросы диагностики и терапии» в Казани (11-13 сентября, 2013); I Межрегиональной научно-практической конференции «Достижения нейронаук: теория и практика» в Нижнем Новгороде (13 - 15 марта, 2013); VIII Всероссийской научно-практической конференции по молекулярной диагностике с международным участием в Москве (18-20 марта, 2014); Международном форуме «Клиническая иммунология и аллергология - Междисциплинарные проблемы» в Казани (14-17 мая 2014); Европейском конгрессе по аллергии и клинической иммунологии в Копенгагене (7-11 июня 2014 г.); Юбилейной научно-практической конференции «Современные проблемы иммунофармакологии, биотехнологии и цитокиновой регуляции» в Санкт-Петербурге (25-27 июня, 2014); Конгрессе Европейского респираторного общества в Мюнхене (7-10 сентября, 2014); XX Всероссийской конференции «Нейроиммунология. Рассеянный склероз» в СПб (28-31 мая, 2015); II конгрессе РОКИРС с международным участием в Ярославле (10-12 сентября, 2015); Научно-практической школе-конференции «Аллергология и клиническая иммунология» (иммунодиагностика, иммунопрофилактика и иммунотерапия), Крым (27 сентября - 3 октября, 2015); I Калининградском научном иммунологическом форуме (27 - 30 июня, 2016); IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика» в Москве (18-20 апреля, 2017); Всероссийской научно-практической конференции «Демиелинизирующие заболевания центральной и периферической нервной системы. Редкие и атипичные формы» в Ярославле (24-25 мая, 2017); XVI Всеросс. научном форуме с междунар. участием академика В.И.Иоффе «Дни иммунологии в СПб» (5-8 июня, 2017); XXVII Национальном конгрессе по болезням органов дыхания в СПб (17-20 октября, 2017); IV Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием в Сочи (1-4 ноября, 2017); III Межрегиональном Форуме специалистов «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (совместно с заседанием профильной комиссии МЗ РФ по специальности «Инфекционные болезни» в СПб (25-26 апреля, 2018); Третьем конгрессе российского комитета исследователей рассеянного склероза «Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания» в Екатеринбурге (14-16 сентября, 2018); IX Сибирской межрегиональной научно-практической конференции «Аутоиммунные заболевания нервной системы – от диагноза к терапии» в Новосибирске (14-16 февраля, 2019); 15-м Международном междисциплинарном конгрессе по аллергологии и иммунологии в Москве (22-24 мая, 2019); Объединённом иммунологическом форуме в Новосибирске (24-29 июня, 2019); 7th Annual Meeting of the International Cytokine&Interferon Society in Vienna, Austria (20-23 October, 2019); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию кафедры микробиологии и вирусологии СибГМУ «Фундаментальные аспекты инфекционной патологии

человека: вызовы и поиск решений» в Томске (20-21 ноября, 2019); Конференции Европейского респираторного общества 2020 “Метаболические альтерации в развитии респираторных заболеваний” в Эшторил, Португалия (7-10 марта, 2020); 10-й Юбилейной международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика 2020» в Москве (14-16 апреля, 2020); Всероссийской научно-практической конференции «Типовые патологические процессы: современные тренды в науке», посвященная 130-летию кафедры патофизиологии Императорского томского университета – Томского медицинского института – Сибирского государственного медицинского университета в Томске (20-21 мая, 2020); Всероссийском конгрессе лабораторной медицины в Москве (19-21 октября, 2021); Lung Science conference in Estoril, Portugal (10-13 march, 2022); III Междисциплинарной онлайн-конференции по инфектологии Приволжского района в Казани (30 ноября 2022); Конгрессе с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность-2023» в Москве (27-28 апреля, 2023); Юбилейной конференции по медицинской микологии и микробиологии в Москве (17-18 мая, 2023); IX Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням в Санкт-Петербурге (23-25 мая, 2023); XVII Всероссийском научном форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (6-8 июня, 2023); X Российской научной конференции с международным участием, посвященной 300-летию Российской академии наук, Десятилетию науки и технологий в Оренбурге (20-22 сентября, 2023); Российском диагностическом саммите - 9 Российском конгрессе лабораторной медицины в Москве (04-06 октября, 2023); Всероссийской конференции «COVID-19 – экспертный опыт работы в условиях пандемии и межковидный период. Все о диагностике, лечении, реабилитации пациентов. Коморбидный пациент — междисциплинарный подход». 10 октября 2023, онлайн; Научно-практической конференции «Современная иммунопрофилактика 2023» в Москве (12-13 октября, 2023)

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б.1 – Результаты определения концентраций (пг/мл) биомаркеров воспаления в сыворотке крови больных гриппом и здоровых добровольцев методом мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа xMAP с использованием магнитных микросфер

Цитокины		Грипп		Контроль		Статистическая значимость	
Th1		Me	min÷max	Me	min÷max	P<	
Семейство IFN	IFN α 2	12,1	6÷73	3,8	2,5÷11,7	0,05	↑
	IFN β	79	48÷113	79	55÷105	0,2	
	IFN γ	2,9	1,3÷6,1	2,1	1,3÷4,8	0,2	
	IL-29/IFN λ 1	5,9	3,2÷19,6	3,2	0,9÷9	0,1	
	IL-28A/IFN λ 2	6,3	3,1÷10,8	5,6	3,7÷28,8	0,7	
Семейство TNF	APRIL/ TNFSF13	3333	416÷7367	491	291÷2860	0,05	↑
	BAFF/ TNFSF13B	11680	4888÷16770	3242	2896÷4781	0,001	↑
Рецептор TNF	s TNF-R1	1390	647÷2505	787	390÷1405	0,05	↑
Рецептор TNF	s TNF-R2	8272	3774÷12350	2710	1092÷6040	0,0001	↑
	LIGHT / TNFSF14	<0,65		<0,65		1	
	TWEAK / TNFSF12	1006	617÷2469	1784	586÷2423	0,1	
	s CD30 / TNFRSF8	277	217÷1149	156	82÷514	0,1	
Семейство IL12	IL-12(p40)	6,4	2,3÷20,9	4,3	0,6÷26,3	0,7	
	IL-12(p70)	0,12	0,03÷0,4	0,08	0,03÷1,2	0,1	
	IL-27(p28)	<0,45		<0,45		1	
	IL-35 – Treg	44	22÷77	39	26÷62	0,2	
Индуктор IL12	Остеопонтин	17860	8210÷40170	5562	2181÷8423	0,0001	↑
	IL2	0,5	0,1÷0,8	0,4	0,2÷0,9	0,4	
	IL-32	0,8	0,1÷30,1	0,4	0,1÷15,4	0,4	
	IL-34	<7,14		<7,14		1	
	Пентраксин-3	808	127÷2634	433	134÷1265	0,1	
	Хитиназа-подобный белок 3	7718	3125÷11220	7822	3018÷15100	0,5	
Th2							
Семейство IL10	IL-10 – Treg	1,65	0,1÷2,84	0,06	0,01÷1,6	0,001	↑
	IL-19	1,3	0,3÷5	0,5	0,3÷3,2	0,1	
	IL-20	9,2	5,2÷16,4	8,6	5,2÷25,2	0,6	
	IL-22	2,2	0,5÷3,5	0,8	0,02÷4,4	0,2	

Продолжение Таблицы Б.1

	IL-26	45,1	32÷138	16,8	10,4÷164	0,2	
Индуктор Th2	TSLP	34	12÷60	22	14÷44	0,1	
Хемокин	IL-8	9,2	1,1÷19,6	10,9	5÷53,8	0,2	
Индукторы Th17							
Семейство IL6	IL-6Ra	6815	3543÷9367	7343	3863÷13250	0,3	
Рецептор IL-6	gp130/sIL-6Rβ	49270	34060÷55220	66710	27830÷89030	0,05	↓
	IL-11	0,02		0,02		1	
Матриксные металлопротеиназы (ММП)							
	MMP-1	264	21÷944	1471	79÷3644	0,005	↓
	MMP-2	2443	953÷6941	3560	1952÷5911	0,2	
	MMP-3	2442	619÷6982	2118	1006÷7637	0,2	
Белки воспаления							
	Остеокальцин	810	383÷1809	627	251÷1422	0,2	
	sCD163	1252	396÷2167	1214	511÷2635	0,5	

Примечание:

APRIL/ TNFSF13 - индуцирующий пролиферацию лиганд или лиганд суперсемейства фактора некроза опухолей номер 13 (a proliferation-inducing ligand (APRIL), также известный как tumor necrosis factor ligand superfamily member 13 (TNFSF13)).

BAFF/ TNFSF13B - активирующий фактор В-клеток (B-cell activating factor (BAFF), также известный как лиганд суперсемейства фактора некроза опухолей номер 13B (tumor necrosis factor ligand superfamily member 13B (TNFSF13B)).

s TNF-R1 и s TNF-R2 - растворимые рецепторы фактора некроза опухолей 1 и 2 (the soluble receptors of tumor necrosis factor 1 и 2).

LIGHT/TNFSF14 – гомолог лимфотоксина, индуцирующий экспрессию и конкурирующий с гликопротеином D вируса простого герпеса за связывание с медиатором проникновения герпесвирусов, рецептор экспрессируемый на Т-лимфоцитах (homologous to lymphotoxin, exhibits inducible expression and competes with HSV glycoprotein D for binding to herpesvirus entry mediator, a receptor expressed on T lymphocytes (LIGHT)), также известный как член суперсемейства фактора некроза опухолей номер 14 (tumor necrosis factor superfamily member 14 (TNFSF14)).

TWEAK/TNFSF12 – родственный фактору некроза опухолей (ФНО) слабый индуктор апоптоза (TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK), также известный как лиганд суперсемейства ФНО номер 12 (tumor necrosis factor ligand superfamily member 12 (TNFSF12)).

sCD30/TNFRSF8 - растворимый кластер дифференциации 30 (soluble cluster of differentiation 30 (sCD30)), также известный как рецептор суперсемейства ФНО 8 (TNF receptor superfamily member 8 (TNFRSF8)).

Остеопонтин (Osteopontin), также известный как костный сиалопротеин (bone sialoprotein I (BSP-1 или BNSP)), ранний активатор Т-лимфоцитов (early T-lymphocyte activation (ETA-1)), секретируемый фосфопротеин (secreted phosphoprotein 1 (SPP1)), фактор устойчивости к риккетсиям (Rickettsia resistance (Ric)).

Пентраксин (Pentraxin) -3 – белок 3, подобный пентраксину (pentraxin-related protein (PTX) 3), также известный как индуцируемый ФНО белок гена 14 (TNF-inducible gene 14 protein (TSG-14)).

Хитиназа-3-подобный белок - chitinase-3-like protein 1 (CHI3L1), также известный как секретируемый гликопротеин, кодируемый геном CHI3L1, который экспрессируется в астроцитах и хондроцитах и ассоциирован с нейровоспалительными заболеваниями, бронхиальной астмой, фиброзом и карциномой (YKL-40 – название включает три N-концевых аминокислотных остатка секретируемой формы и молекулярную массу приблизительно ~40 кДа).

TSLP - лимфопоэтин стромы тимуса (thymic stromal lymphopoietin).

sIL-6Ra – растворимый рецептор IL6 (the soluble interleukin 6 receptor).

gp130/sIL-6Rβ - комплекс гликопротеина 130 (gp130) и растворимого рецептора IL-6 (sIL-6Rβ) (s IL-6R (gp130 and soluble IL-6 receptor).

Остеокальцин (Osteocalcin), также известный как костный белок, содержащий гамма-карбоксиглутаминовую кислоту (bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein (BGLAP)).

sCD163 – растворимая клеточная детерминанта 163 (soluble cellular determinant 163 (CD163)).

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В.1 – Концентрации (пг/мл) биомаркеров воспаления в сыворотке крови больных COVID-19 и условно здоровых добровольцев методом мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа xMAP с использованием магнитных микросфер

Цитокины воспаления в сыворотке крови при COVID-19 (пг/мл)							
Цитокины		COVID-19		Контроль		Статистическая значимость	
Th1		Me	min÷max	Me	min÷max	P<	
Семейство IFN	IFN α 2	40	10,22÷83	3,8	2,5÷11,7	0,001	↑
	IFN β	28,5	15÷56	79	55÷105	0,001	↓
	IFN γ	23	4,56÷44	2,1	1,3÷4,8	0,001	↑
	IL-29/IFN λ 1	76,5	8,96÷224	3,2	0,9÷9	0,002	↑
	IL-28A/IFN λ 2	19,44	19,44÷257	5,6	3,7÷28,8	0,1	
Семейство TNF	APRIL/ TNFSF13	126183	14191÷454520	491	291÷2860	0,002	↑
	BAFF/ TNFSF13B	14332	4978÷36361	3242	2896÷4781	0,001	↑
Рецептор TNF	s TNF-R1	2931	1813÷6136	787	390÷1405	0,001	↑
Рецептор TNF	s TNF-R2	794,5	337÷1605	2710	1092÷6040	0,001	↓
	LIGHT / TNFSF14	14	2,73÷63	<0,65		0,001	↑
	TWEAK / TNFSF12	721,5	536÷780	1784	586÷2423	0,001	↓
	s CD30 / TNFRSF8	61556,5	27485÷111463	156	82÷514	0,001	↑
Семейство IL12	IL-12(p40)	111,5	67÷244	4,3	0,6÷26,3	0,001	↑
	IL-12(p70)	0,84	0,84÷10	0,08	0,03÷1,2	0,04	↑
	IL-27(p28)	14,08	14,08÷105	<0,45		0,001	↑
	IL-35 – Treg	172	20,51÷417	39	26÷62	0,001	↑
Индуктор IL12	Остеопонтин	70764	55427÷172683	5562	2181÷8423	0,001	↑
	IL2	39	19÷76	0,4	0,2÷0,9	0,001	↑
	IL-32	64,5	36÷135	0,4	0,1÷15,4	0,001	↑
	IL-34	181,1	181,1÷1476	<7,14		0,001	↑
	Пентраксин-3	77541,5	18639÷202526	433	134÷1265	0,001	↑
	Хитиназа-подобный белок 3	33393,5	13465÷59367	7822	3018÷1510 0	0,001	↑
	Th2						
Семейство IL10	IL-10 – Treg	13	5÷31	0,06	0,01÷1,6	0,001	↑
	IL-19	196,5	81÷371	0,5	0,3÷3,2	0,001	↑

Продолжение Таблицы В.1

	IL-20	38,5	10,68÷81	8,6	5,2÷25,2	0,01	↑
	IL-22	73,5	19,3÷186	0,8	0,02÷4,4	0,001	↑
	IL-26	2079	1167÷4367	16,8	10,4÷164	0,001	↑
Индуктор Th2	TSLP	26,5	13÷48	22	14÷44	0,5	
Хемокин	IL-8	5,23	5,23÷631	10,9	5÷53,8	0,3	
Индукторы Th17							
Семейство IL6	IL-6Ra	27281	15764÷43887	7343	3863÷13250	0,001	↑
Рецептор IL-6	gp130/sIL-6Rβ	151034	96031÷257730	66710	27830÷89030	0,001	↑
	IL-11	8,5	5÷21	20,02		0,001	↓
Матриксные металлопротеиназы (ММП)							
	MMP-1	2225,5	824÷9862	1471	79÷3644	0,1	
	MMP-2	103652	14269÷167903	3560	1952÷5911	0,001	↑
	MMP-3	51560	9428÷128358	2118	1006÷7637	0,001	↑
Белки воспаления							
	Остеокальцин	1456,5	356÷4458	627	251÷1422	0,02	↑
	sCD163	10035	7342÷24282	1214	511÷2635	0,001	↑

Примечания:

APRIL/ TNFSF13 - индуцирующий пролиферацию лиганд или лиганд суперсемейства фактора некроза опухолей номер 13 (a proliferation-inducing ligand (APRIL), также известный как tumor necrosis factor ligand superfamily member 13 (TNFSF13)); BAFF/ TNFSF13B - активирующий фактор В-клеток (B-cell activating factor (BAFF), также известный как лиганд суперсемейства фактора некроза опухолей номер 13В (tumor necrosis factor ligand superfamily member 13В (TNFSF13B)); s TNF-R1 и s TNF-R2 - растворимые рецепторы фактора некроза опухолей 1 и 2 (the soluble receptors of tumor necrosis factor 1 and 2); LIGHT/TNFSF14 – гомолог лимфотоксина, индуцирующий экспрессию и конкурирующий с гликопротеином D вируса простого герпеса (за связывание с медиатором проникновения герпесвирусов, рецептор экспрессируемый на Т-лимфоцитах (homologous to lymphotoxin, exhibits inducible expression and competes with HSV glycoprotein D for binding to herpesvirus entry mediator, a receptor expressed on T lymphocytes (LIGHT)), также известный как член суперсемейства фактора некроза опухолей номер 14 (tumor necrosis factor superfamily member 14 (TNFSF14)); TWEAK/TNFSF12 – родственный фактору некроза опухолей (ФНО) слабый индуктор апоптоза (TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK), также известный как лиганд суперсемейства ФНО номер 12 (tumor necrosis factor ligand superfamily member 12 (TNFSF12)); sCD30/TNFRSF8 - растворимый кластер дифференциации 30 (soluble cluster of differentiation 30 (sCD30)), также известный как рецептор суперсемейства ФНО 8 (TNF receptor superfamily member 8 (TNFRSF8)); Остеопонтин (Osteopontin), также известный как костный сиалопротеин (bone sialoprotein I (BSP-1 или BNSP)), ранний активатор Т-лимфоцитов (early T-lymphocyte activation (ETA-1)), секретируемый фосфопротеин (secreted phosphoprotein 1 (SPP1)), фактор устойчивости к риккетсиям (Rickettsia resistance (Ric)).

Пентраксин (Pentraxin) -3 – белок 3, подобный пентраксину (pentraxin-related protein (PTX) 3), также известный как индуцируемый ФНО белок гена 14 (TNF-inducible gene 14 protein (TSG-14)).

Хитиназа-3-подобный белок - chitinase-3-like protein 1 (CHI3L1), также известный как секретируемый гликопротеин, кодируемый геном CHI3L1, который экспрессируется в астроцитах и хондроцитах и ассоциирован с нейровоспалительными заболеваниями, бронхиальной астмой, фиброзом и карциномой (YKL-40 – название включает три N-концевых аминокислотных остатка секретируемой формы и молекулярную массу приблизительно ~40 кДа); TSLP - лимфопоэтин стромы тимуса (thymic stromal lymphopoietin).

sIL-6Ra – растворимый рецептор IL6 (the soluble interleukin 6 receptor).

gp130/sIL-6Rβ - комплекс гликопротеина 130 (gp130) и растворимого рецептора IL-6 (sIL-6Rβ) (s IL-6R (gp130 and soluble IL-6 receptor).

Остеокальцин (Osteocalcin), также известный как костный белок, содержащий гамма-карбоксиглутаминовую кислоту (bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein (BGLAP)).

sCD163 – растворимая клеточная детерминанта 163 (soluble cellular determinant 163 (CD163)).