

Уровни циркулирующих цитокинов у детей с рассеянным склерозом при разной эффективности интерфероновой терапии

RAR — научная статья

<https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-4-31-39>

Статья поступила 27.10.2023

Статья принята в печать 01.12.2023

УДК: 577.175.14; 577.175.142; 577.175.149

Конфликт интересов:

Источник финансирования и конфликт интересов:

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



Радыгина Т. В., Петричук С. В., Курбатова О. В., Купцова Д. Г., Фисенко А. П., Семикина Е. Л., Фрейдлин Е. В., Абдуллаева Л. М., Бурсагова Б. И.

ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, 119296, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, Россия

Радыгина Татьяна Вячеславовна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0003-4704-6885, e-mail: radigina.tv@nczd.ru.

Петричук Светлана Валентиновна — д. б. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0003-0896-6996, e-mail: cito@list.ru.

Курбатова Ольга Владимировна — к. м. н., старший научный сотрудник, и. о. заведующего лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0002-9213-5281, e-mail: putintseva@mail.ru.

Купцова Дарья Геннадьевна — младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0001-7771-3314, e-mail: dg.kuptsova@gmail.com.

Фисенко Андрей Петрович — д. м. н., профессор, директор ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0001-8586-7946, e-mail: fisenko@nczd.ru.

Семикина Елена Леонидовна — д. м. н., главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии, заведующий лабораторным отделом ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0001-8923-4652, e-mail: semikinaelena@yandex.ru.

Фрейдлин Екатерина Валерьевна — лаборант-исследователь лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0002-5645-5181, e-mail: frdl-cito@mail.ru.

Абдуллаева Луизат Муслимовна — младший научный сотрудник лаборатории редких наследственных болезней у детей Медико-генетического центра, врач-невролог отделения психоневрологии и нейрореабилитации Центра детской психоневрологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0003-1574-2050, e-mail: abdullaeva.lm@nczd.ru.

Бурсагова Бэлла Ибрагимовна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории редких наследственных болезней у детей Медико-генетического центра, заместитель по лечебной работе отделения психоневрологии и нейрореабилитации Центра детской психоневрологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, ORCID ID: 0000-0001-8506-2064, e-mail: bursagova@nczd.ru

Аннотация. Рассеянный склероз (РС) — это хроническое, демиелинизирующее заболевание, приводящее к инвалидизации. Понимание этиологии РС способствует разработке патогенетических методов лечения, а поиск информативных биомаркеров эффективности лечения позволит вовремя скорректировать терапию. Целью данной работы было выявить информативные цитокины и цитокиновые профили для прогноза эффективности терапии ИНФ-β1а у детей с РС.

Материалы и методы. Обследовано 66 детей с РС в возрасте 16 [14,2–17,5] лет, находящихся на терапии ИНФ-β1а: 1-я группа — пациенты в обострении РС (с активными очагами демиелинизации, по данным МРТ), n = 34; 2-я группа — пациенты в ремиссии РС (без активных очагов), n = 32. Содержание цитокинов в сыворотке крови пациентов измеряли с помощью мультиплексной панели Human Th17 Magnetic Bead Panel.

Результаты: у пациентов в обострении РС выявлено достоверное увеличение концентрации цитокинов IL5, IL6, IL9, IL12p70, IL17E/IL25, IL21, IL28A, GM-CSF, TNFβ по сравнению с детьми в ремиссии. Пороговые значения cut-off составили для IL9 (AUC = 0,785), IL6 (AUC = 0,750), TNFβ (0,740), IL28A (AUC = 0,744), выше которых можно прогнозировать у пациентов обострение РС: IL9 — 3,9 пг/мл (Sn — 70,6, Sp — 71,9), IL6 — 4,0 пг/мл (Sn — 70,6, Sp — 68,8), TNFβ — 6,6 пг/мл (Sn — 70,6, Sp — 71,9), IL28A — 243,0 пг/мл (Sn — 70,6, Sp — 71,9). Проведена оценка уровней цитокиновых профилей, ассоциированных с Т-лимфоцитами, а также с их функциями с использованием метода z-score.

Для корреспонденции:

Радыгина Татьяна Вячеславовна, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Адрес: 119296, Россия, г. Москва, Ломоносовский пр., 2/1.

E-mail: radigina.tv@nczd.ru.

For correspondence:

Tatiana Vyacheslavovna Radygina, Senior Research Associate of Laboratory of Experimental Immunology and Virology of FSAI "National Medical Research Center of Children's" under Ministry of Health of Russia.

Address: Address: 2/1 Lomonosovskij prospect, 119296, Moscow, Russia.

E-mail: radigina.tv@nczd.ru.

Выводы. Впервые продемонстрировано увеличение уровней цитокинов у детей с активными очагами демиелинизации по сравнению с пациентами, находящимися в ремиссии РС. Обнаружено увеличение провоспалительных цитокинов, ассоциированных с Th1- и Th17-, а также с Th2- и Th22-лимфоцитами. Применение пороговых значений cut-off для IL9, IL6, TNF β , IL28A позволяет прогнозировать развитие обострения у пациентов с РС.

Ключевые слова: цитокины, рассеянный склероз, дети, Th1-цитокины, Th2-цитокины, Th17-цитокины, ИНФ- β 1a.

Для цитирования: Радыгина ТВ, Петричук СВ, Курбатова ОВ, Купцова ДГ, Фисенко АП, Семикина ЕЛ, Фрейдлин ЕВ, Абдуллаева ЛМ, Бурсагова БИ. Уровни циркулирующих цитокинов у детей с рассеянным склерозом при разной эффективности интерфероновой терапии. *Аллергология и иммунология в педиатрии*. 2023; 4: 31–39. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-4-31-39>

Levels of circulating cytokines in children with multiple sclerosis with different effectiveness of interferon therapy

<https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-4-31-39>

Received 27.10.2023

The article is accepted for publication 01.12.2023

Conflict of Interest:

Source of funding and conflict of interest:

The study was conducted within the framework of the state assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation, № ААААА19-119013090093-2.

Tatiana V. Radygina, Svetlana V. Petrichuk, Olga V. Kurbatova, Daria G. Kuptsova, Andrei P. Fisenko, Elena L. Semikina, Ekaterina V. Freydlin, Luizat M. Abdullaeva, Bella I. Bursagova

FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under the Ministry of Health of Russia, 2/1, Lomonosovskij prospect, 119296, Moscow, Russia

Tatiana Vyacheslavovna Radygina — PhD (Medicine), Senior Research Associate of Laboratory of Experimental Immunology and Virology of FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under the Ministry of Health of Russia, ORCID ID: 0000-0003-4704-6885, e-mail: radigina.tv@nczd.ru.

Svetlana Valentinovna Petrichuk — PhD, MD (Biology), Professor, Chief Scientist of Laboratory of Experimental Immunology and Virology of FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under the Ministry of Health of Russia, ORCID ID: 0000-0003-0896-6996, e-mail: cito@list.ru.

Olga Vladimirovna Kurbatova — PhD (Medicine), Senior Research Associate, Head of Laboratory of Experimental Immunology and Virology of FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under the Ministry of Health of Russia, ORCID ID: 0000-0002-9213-5281, e-mail: putintseva@mail.ru.

Daria Gennadievna Kuptsova — Junior Researcher of Laboratory of Experimental Immunology and Virology of FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under Ministry of Health of Russia, ORCID ID: 0000-0001-7771-3314, e-mail: dg.kuptsova@gmail.com.

Andrei Petrovich Fisenko — PhD, MD (Medicine), Professor, Head of FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under the Ministry of Health of Russia, ORCID ID: 0000-0001-8586-7946, e-mail: fisenko@nczd.ru.

Elena Leonidovna Semikina — PhD, MD (Medicine), Chief Scientist of Laboratory of Experimental Immunology and Virology, Head of Laboratory Department of FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under the Ministry of Health of Russia, ORCID ID: 0000-0001-8923-4652, e-mail: semikinaelena@yandex.ru.

Ekaterina Valeryevna Freydlin — Research assistant of Laboratory of Experimental Immunology and Virology of FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under the Ministry of Health of Russia, ORCID ID: 0000-0002-5645-5181, e-mail: frdl-cito@mail.ru.

Luizat Muslimovna Abdullaeva — Junior Research Assistant of Laboratory of Rare Hereditary Diseases in Children of the Medical Genetic Center, Neurologist of Department of the Psychoneurology and Neurorehabilitation of Pediatric Center of Psychoneurology of FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under the Ministry of Health of Russia, ORCID ID: 0000-0003-1574-2050, e-mail: abdullaeva.lm@nczd.ru.

Bella Ibragimovna Bursagova — PhD (Medicine), Senior Research Associate of Laboratory of Rare Hereditary Diseases in Children of the Medical Genetic Center, Deputy for Medical Work of Department of the Psychoneurology and Neurorehabilitation of Pediatric Center of Psychoneurology of FSAI “National Medical Research Center of Children’s Health” under the Ministry of Health of Russia, ORCID ID: 0000-0001-8506-2064, e-mail: bursagova@nczd.ru.

Resume. Multiple sclerosis (MS) is a chronic, demyelinating disease that leads to disability. Understanding the etiology of MS contributes to the development of pathogenetic methods of treatment, and the search for informative biomarkers of the effectiveness of treatment will allow the patient to adjust therapy in time. The aim of this work was to determine informative cytokines and cytokine profiles to predict the effectiveness of IFN- β 1a therapy in children with MS.

Materials and methods. 66 children with MS aged 16 [14.2–17.5] years who are on IFN β -1a therapy were examined: group 1 — patients with exacerbation of MS (with active foci of demyelination by MRI), n=34; group 2 — patients in remission of MS (without active foci), n=32. The content of cytokines in the blood serum of patients was assessed using the multiplex panel Human Th17 Magnetic Bead Panel.

Results: There was a significant increase in cytokine concentrations in patients with exacerbation of MS compared with children in remission:

IL5, IL6, IL9, IL12p70, IL17E/IL25, IL21, IL28A, GM-CSF, TNF β . Threshold values for IL9 (AUC=0,785), IL6 (AUC=0,750), TNF β (0,740), IL28A (AUC=0,744) were obtained above which it is possible to predict an exacerbation of MS in patients: IL9 – 3.9 pg/ml (Sn – 70.6, Sp – 71.9), IL6 – 4.0 pg/ml (Sn – 70.6, Sp – 68.8), TNF β – 6.6 pg/ml (Sn – 70.6, Sp – 71.9), IL28A – 243.0 pg/ml (Sn – 70.6, Sp – 71.9). Cytokine profiles associated with T-lymphocytes and their functions were evaluated using z-score.

Conclusions. For the first time, an increase in cytokine levels was demonstrated in children with active foci of demyelination compared to patients in remission of MS. An increase in proinflammatory cytokines and cytokine profiles associated with Th1 and Th17, as well as with Th2 and Th22 has been shown. The use of threshold values for IL9, IL6, TNF β , IL28A will help predict the development of exacerbation in patients with MS.

Keywords: cytokines, multiple sclerosis, children, Th1-cytokines, Th2-cytokines, Th17-cytokines, ИНФ- β 1a.

For citation: Radygina TV, Petrichuk SV, Kurbatova OV, Kuptsova DG, Fisenko AP, Semikina EL, Freydlin EV, Abdullaeva LM, Bursagova BI. Levels of circulating cytokines in children with multiple sclerosis with different effectiveness of interferon therapy. *Allergology and Immunology in Pediatrics*. 2023; 4: 31–39. <https://doi.org/10.53529/2500-1175-2023-4-31-39>

ВВЕДЕНИЕ

Рассеянный склероз (РС) — это хроническое, демиелинизирующее заболевание, которое возникает у генетически предрасположенного индивидуума под действием различных неблагоприятных факторов окружающей среды и приводит к поражению центральной нервной системы с последующей инвалидизацией. Около 2,8 миллиона человек в мире страдает РС [1]. Распространенность РС в России колеблется в разных регионах от 36 до 79 случаев на 100 тысяч населения, при этом дети составляют примерно 4–5% от всех пациентов [2]. У подавляющего большинства детей (97–99%) заболевание носит ремитирующее течение, а средний возраст дебюта заболевания составляет $14,2 \pm 1,3$ года [2]. Современные препараты позволяют уменьшить количество обострений и прогрессирование заболевания [3]. Пациентам назначают продолжительную терапию препаратами, изменяющими течение РС (ПИТРС). Используется 2 подхода к лечению РС — эскалационный и индукционный. Эскалационный подход подразумевает назначение ПИТРС 1-й линии, при их неэффективности назначаются препараты 2-й линии. При индукционном подходе уже на начальном этапе терапии применяются препараты 2-й линии, которые считаются более эффективными, но обладают большим количеством побочных реакций [4]. К разрешенным препаратам для лечения РС у детей в России относятся ИНФ- β 1a — препарат 1-й линии (разрешен с 12 лет) и финголимод (препарат 2-й линии, разрешен с 10 лет) [5]. Механизм действия ИНФ- β 1a заключается в снижении активации и адгезивности Т-клеток, ингибировании матриксных металлопротеиназ и потере способности лимфоцитов проходить через гематоэнцефалический барьер. Действие финголимода направлено на подавление выхода лимфоцитов из лимфатических узлов [4].

Основным механизмом патогенеза РС является дисфункция иммунной системы [6]: в частности, превалирование Т-хелперов 1-го типа (Th1) во время обострения над Т-хелперами 2-го типа (Th2) и продукция повышенных уровней таких провоспалительных цитокинов, как IFN γ и IL-12 [7]. Выявлена также критическая роль Т-хелперов 17 (Th17) в патогенезе РС, продуцирующих IL-17 и IL-23 [8]. У взрослых с РС обнаружено увеличение концентрации цитокинов как Th1- (IL-1 β , IL-2 и TNF α), так и Th17-лимфоцитов (IL-17A, IL-21 и IL-22), что подтверждает участие в патогенезе РС обеих популяций Т-лимфоцитов [9]. Воспалительная реакция и нарушения во взаимодействии иммунных клеток при РС, опосредованные цитокинами, представляют собой привлекательную мишень для иммунотерапии РС [10]. За последнее десятилетие возросло количество исследований, посвященных поиску прогностических биомаркеров прогрессирования заболевания и ответа на медикаментозное лечение [11, 12]. У взрослых пациентов с РС было показано, что увеличение концентрации цитокинов IL-1 α , IL-4, IL-18, CCL7 CCL27, INF γ , LIF, M-CSF, SCF и TNF α позволяет с высокой степенью точности дифференцировать фазы течения РС [13]. Работ по исследованию уровней цитокинов при РС у детей крайне мало. Показано увеличение ряда цитокинов (IL-10, IL-21, IL-23, IL-27) у детей с РС как в состоянии обострения, так и в ремиссии по сравнению с группой здоровых детей [14]. Понимание патогенеза РС будет способствовать разработке методов лечения, модифицирующих течение заболевания, а поиск предикторов неэффективности используемых препаратов позволит вовремя скорректировать проводимую терапию.

Целью данной работы было выявить основные цитокины и цитокиновые профили для прогноза эффективности терапии ИНФ- β 1a у детей с рассеянным склерозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 66 детей с РС в возрасте от 14,2 до 17,5 года (средний возраст — 16 лет), находящихся на терапии ИНФ- β 1 α . Пациенты были разделены на группы с учетом клинико-анамнестических данных и наличия активных очагов демиелинизации по результатам магнитно-резонансного анализа (МРТ): 1-ю группу составили пациенты в обострении РС (с активными очагами) ($n = 34$); 2-ю группу — пациенты в ремиссии РС (без активных очагов) ($n = 32$). Группы были сравнимы по продолжительности заболевания: обострение — [Me 1,2 (0,6–2,2)], ремиссия — [Me 1,5 (0,7–3,4)], $p = 0,545$ — и по длительности терапии ИНФ- β 1 α : обострение — [Me 67,4 (14,8–95,7)], ремиссия — [Me 41,4 (4,9–138,0)], $p = 0,498$.

Обследование всех детей проводилось согласно нормативным документам Российской Федерации после получения одобрения локального этического комитета ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» МЗ РФ (протокол № 6 от 11 июня 2019 г.) и информированного согласия родителей и согласия детей старше 14 лет в соответствии с Хельсинкской декларацией.

Образцы венозной крови для исследования получали путем забора из локтевой вены натошак в пробирки BD Vacutainer® с активатором свертывания. Пробирки с кровью центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин., полученную сыворотку хранили при -80°C до проведения анализа.

Измерение концентрации цитокинов в пробах осуществляли с помощью мультиплексного анализа (xMAP-технология) с использованием панели MILLIPLEXMAP Human Th17 Magnetic Bead Panel (EMD Millipore Corporation, США). Постановка анализа осуществлялась согласно инструкции производителя с последующим анализом на проточном флуориметре Bio-Plex™ 200 Assay System (Bio-Rad, США) с использованием программного обеспечения xPONENT 4.2 и Milliplex Analyst 5.1. Панель исследованных цитокинов включала: IL-17F, GM-CSF, IFN- γ , IL10, CCL20/MIP3 α , IL12p70, IL13, IL15, IL17A, IL22, IL9, IL1 β , IL33, IL2, IL21, IL4, IL23, IL5, IL6, IL17E/IL25, IL27, IL31, TNF α , TNF β , IL28A. Результаты цитокинов были получены в пг/мл. Анализировали различия между группами пациентов в обострении и ремиссии РС по отдельным

цитокинам, а также по комплексу цитокинов, ассоциированных с разными клетками и их функциями: макрофагальные M (IL-1 + IL-6 + TNF- α), регуляторные Reg (IL4 + IL5 + IL10 + IL13 + IL33) ассоциированные с определенными клетками (c), функциями клеток (f): Th1-ассоциированные (cTh1) — (IFN- γ + IL12p70 + TNF- β + IL2); Th2-ассоциированные (cTh2) — (IL4 + IL5 + IL10 + IL13 + IL17E/IL25 + IL33), Th17-ассоциированные (cTh17) — (IL1 β + IL6 + IL17A + IL17F + IL21 + IL22 + IL23), fTh2 + mast-ассоциированные fTh2 + mast) — (IL4 + IL5 + IL31 + IL13); семейство IL-12 (fIL12) — (IL12 + IL23 + IL27); fTh17 — (IL17A + IL17F); fTh2 (IL4 + IL5 + IL13); fTh22 (IL13 + IL22) [14, 15, 16, 17].

Для анализа и нормализации данных для профилей цитокинов мы применили подход, который был описан в работе Cataldi C. [18]. Для цитокинов была проведена z-стандартизация (z-score) с использованием следующей формулы: $z = (x_i - \mu) / \sigma$, где z — стандартизованная оценка, x_i — исходный элемент выборки, μ — среднее арифметическое, σ — стандартное отклонение. Для определения z-score цитокиновых комплексов были суммированы z отдельных цитокинов.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft, США). Описательная статистика количественных признаков представлена в формате: медиана (нижние и верхние квартили) — Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). Достоверность различий между группами в состоянии обострения и ремиссии оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна — Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Для выявления пороговых значений цитокинов при состояниях обострения и ремиссии был проведен ROC-анализ, определялась площадь под кривой, чувствительность и специфичность (SPSS, версия 25, США). Для оценки влияния продолжительности заболевания и длительности терапии на уровень цитокинов у пациентов с РС был проведен корреляционный анализ Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание цитокинов в сыворотке крови у пациентов с РС в группах с активными очагами демиелинизации и без активных очагов показано в таблице 1. В частности, при сравнении двух групп выявлены достоверные отличия для 9 про-

Таблица 1. **Содержание цитокинов в группах пациентов с РС с активными очагами и без активных очагов**
 Table 1. **Cytokine content in groups of MS patients with active foci and without active foci**

Название цитокина	Группа 1 Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$), пг/мл N=34	Группа 2 Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$), пг/мл N=32	p ₁₂
IL1 β	1,7 (0,3–2,0)	1,7 (0,5–2,0)	0,084
IL2	6,3 (4,3–10,8)	5,2 (2,5–10,8)	0,237
IL4	95,2 (27,6–130,4)	38,6 (4–124,2)	0,165
IL5	5,3 (3,7–6,5)	1,9 (0,1–4,1)	0,013
IL6	11,7 (0,9–30,2)	1,5 (0,3–5,4)	<0,001
IL9	8,5 (1,8–25,5)	0,2 (0,2–4,9)	<0,001
IL10	2,6 (0,1–5,1)	2,4 (0,1–5,1)	0,814
IL12p70	2,2 (1,9–2,6)	1,7 (0,2–2,0)	0,021
IL13	198,2 (101,7–313,1)	133,9 (57,4–235,7)	0,092
IL15	5,5 (3,9–9,2)	5,5 (1,9–10,8)	0,784
IL17A	0,5 (0,3–0,8)	0,3 (0,2–1,2)	0,0985
IL17E/IL25	25,6 (10,5–33,4)	7,7 (2,0–29,9)	0,049
IL17F	45,6 (9,7–55,9)	16,8 (2,2–39,6)	0,062
IL21	7,5 (5,3–8,8)	5,3 (0,9–7,7)	0,031
IL22	709,3 (36,0–1444,0)	36,0 (36,0–797,8)	0,146
IL23	928,9 (8,0–1343,0)	83,6 (8,0–1025,0)	0,185
IL27	518,7 (394,5–745,5)	558,6 (334,5–860,9)	0,924
IL28A	369,9 (45,0–808,9)	45,0 (45,0–255,1)	<0,001
IL31	35,1 (18,2–66,3)	4,2 (0,7–50,5)	0,098
IL33	20,9 (6,2–28,2)	2,4 (0,1–22,1)	0,105
CCL20	21,5 (16,9–25,6)	20,1 (8,5–32,0)	0,579
GM-CSF	212,4 (148,1–255,0)	12,4 (2,0–217,2)	0,019
IFN γ	3,8 (3,0–9,0)	3,3 (0,9–8,3)	0,495
TNF α	15,0 (9,7–16,8)	11,1 (7,4–30,7)	0,479
TNF β	71,9 (3,0–149,0)	3,0 (3,0–7,9)	<0,001

Примечание: группа 1 — с активными очагами, группа 2 — без активных очагов.

Note: group 1 — with active foci, group 2 — without active foci.

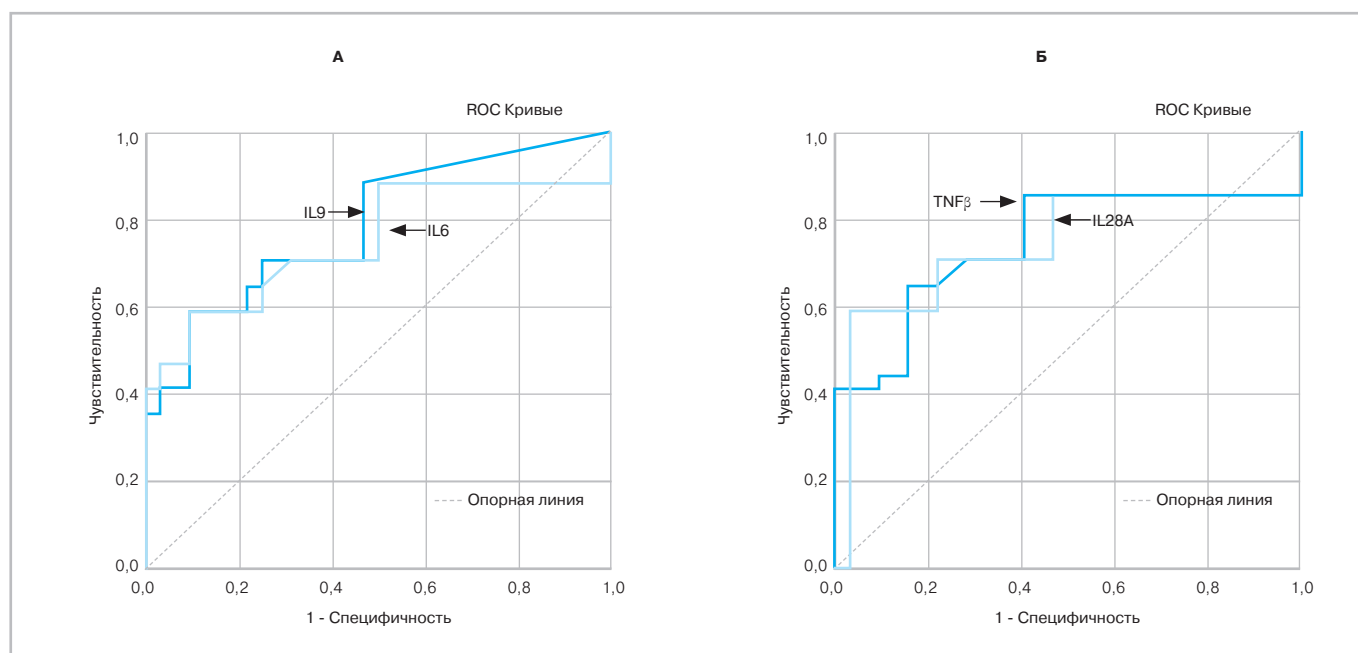
воспалительных цитокинов из 25 исследованных (IL5, IL6, IL9, IL12p70, IL17E/IL25, IL21, IL28A, GM-CSF, TNF β). Также концентрации всех вышеперечисленных цитокинов были выше в группе пациентов с активными очагами по сравнению с группой пациентов без активных очагов (табл. 1).

Выявлена слабая обратная корреляция между продолжительностью заболевания у детей с РС и уровнем цитокинов: IL33 ($R = -0,26$); IL23 ($R = -0,27$); IL6 ($R = -0,32$); IL31 ($R = -0,27$); IL28A ($R = -0,25$). Аналогичная зависимость выявлена между длительностью терапии у детей с РС и уровнем цитокинов: IL17F ($R = -0,38$); IL10 ($R = -0,48$); IL12p70 ($R = -0,49$); IL2 ($R = -0,37$); IL4 ($R = -0,40$); IL5 ($R = -0,34$);

IL6 ($R = -0,34$); IL17E/IL25 ($R = -0,33$); TNF β ($R = -0,33$); IL28A ($R = -0,37$). Таким образом, при увеличении продолжительности заболевания и длительности терапии ИНФ- β 1a имело место снижение уровней цитокинов в сыворотке крови у детей с РС. Проведенный ROC-анализ показал хорошее качество разделительной модели состояний обострение/ремиссия для следующих цитокинов: IL9 (AUC = 0,785), IL6 (AUC = 0,750), TNF β (0,740), IL28A (AUC = 0,744) (рис. 1).

Получены пороговые значения cut-off, выше которых можно прогнозировать у пациентов обострение РС (табл. 2.)

Проведена оценка цитокиновых комплексов по z-score в группах пациентов с РС. Анализ резуль-

Рис. 1. ROC-кривые для цитокинов сыворотки крови у детей с РС. А — IL9, IL6; Б — TNF β , IL28AFig. 1. ROC curves for serum cytokines in children with MS. A — IL9, IL6; B — TNF β , IL28A

татов показал, что цитокиновые профили М и с Th1 по z-score достоверно отличались у пациентов с активными очагами по сравнению с пациентами в ремиссии, тогда как профили цитокинов, ассоциированные с Th2 и Th17 клетками, между группами достоверно не различались (рис. 2А). В то же время отличия между группами пациентов с РС для профилей цитокинов Reg, fTh22 и fTh2 были достоверными (рис. 2Б).

Таким образом, у пациентов в обострении РС продемонстрировано достоверное увеличение провоспалительных цитокинов, участвующих в дифференцировке и активации разных типов Th-клеток, по сравнению с пациентами, находящимися в ремиссии заболевания. Установлено также, что у пациентов в обострении РС достоверно увеличивается выработка цитокинов, необходимых для дифференцировки из наивных CD4⁺-клеток в Th1-клетки и достоверно возрастает цитокиновый профиль, характерный

для М1-макрофагов, а также уровни цитокинов, связанных с активацией и функцией Th2-клеток: IL5, IL17E/IL25, IL13, IL33. Интересно отметить, что у пациентов в обострении выявлено достоверное увеличение цитокинов регуляторного профиля (IL4, IL6, IL10, IL11 и IL13, IL33). Известно, что эти цитокины, с одной стороны, выполняют нейропротекторную роль, а с другой стороны, могут участвовать в повреждении тканей мозга, активируя Th2-клетки, с последующей стимуляцией В-клеток и активацией комплемента [19]. Ранее нами было показано, что у пациентов с активными очагами демиелинизации количество Т-регуляторных лимфоцитов достоверно ниже по сравнению с группой в ремиссии РС, что объясняется, возможно, компенсаторной реакцией Т-клеток [20]. В последнее время появились исследования по изучению роли Th22 при аутоиммунных заболеваниях, которые продуцируют IL22 и IL13 [21, 22].

Таблица 2. Пороговые значения цитокинов для состояний обострение/ремиссия у детей с РС

Table 2. Cytokine thresholds for exacerbation/remission conditions in children with MS

Цитокин	Чувствительность (Sn), %	Специфичность (Sp), %	cut-off, пг/мл
IL9	70,6	71,9	3,9
IL6	70,6	68,8	4,0
TNF β	70,6	71,9	6,6
IL28A	70,6	71,9	243,0

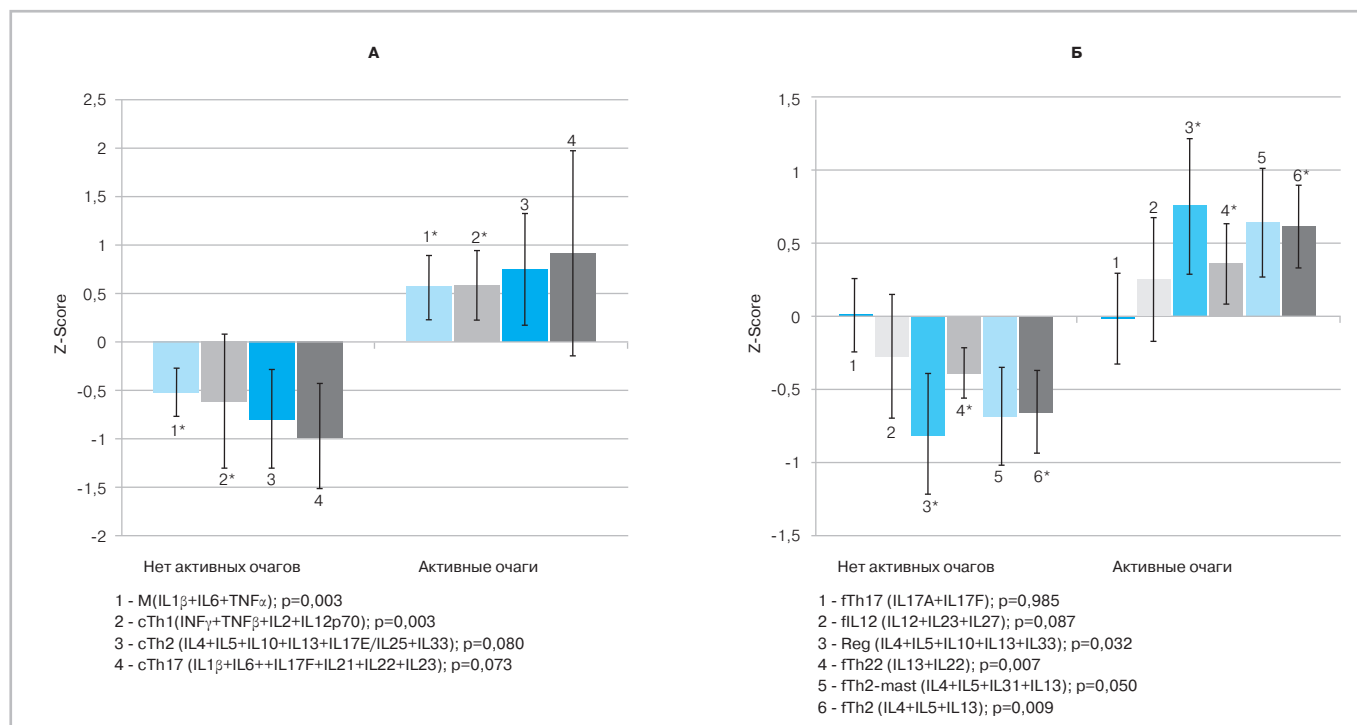


Рис. 2. Z-score профилей цитокинов у пациентов с активными очагами и без активных очагов. А — М, cTh1, cTh2, cTh17. Б — профили цитокинов, ассоциированные с функцией: fTh17, fIl12, Reg, fTh22, fTh2-mast, fTh2

Fig. 2. Z-score of cytokine profiles. А — М, cTh1, cTh2, cTh17. Б — cytokine profiles associated with the function: fTh17, fIl12, Reg, fTh22, fTh2-mast, fTh2

Примечание: * отмечены достоверные результаты ($p < 0,05$); по оси ОУ — отложены средние значения в z-трансформации с указанием стандартной ошибки.

Note: * — reliable results are marked ($p < 0,05$); on the OY axis — the average values in the z-transformation are postponed, indicating the standard deviation.

Известно, что в зависимости от микроокружения Th22 могут дифференцироваться в Th1- или Th2-клетки. Кроме того, IL22 может играть синергетическую роль с IL17, повреждая целостность ГЭБ [21]. Как показало наше исследование, у пациентов в обострении РС достоверно увеличен профиль цитокинов, синтезируемых Th22-клетками.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые нами получены данные, которые показывают увеличение уровней цитокинов у пациентов с активными очагами демиелинизации по сравнению с пациентами в ремиссии РС. Обнаружено увеличение провоспалительных цитокинов,

необходимых для дифференцировки наивных CD4⁺ Т-клеток в эффекторные клетки, и активация хелперных популяций не только Th1 и Th17, но также Th2 и Th22. Наиболее значимые отличия отмечались для цитокинов, ассоциированных с Th1-клетками. Уровни противовоспалительных цитокинов IL10 и IL13 не отличались между группами пациентов. Однако профиль регуляторных цитокинов был повышен у пациентов в обострении, что может говорить о компенсаторной реакции клеток на воспаление. Получены пороговые значения cut-off для IL9, IL6, TNF β , IL28A, позволяющие прогнозировать развитие обострения у пациентов РС.

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCE

- Walton C, King R, Rechtman L, Kaye W, et al. Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition. Mult Scler. 2020; 26 (14): 1816–1821. <https://doi.org/10.1177/1352458520970841>.
- Бойнова ИВ, Самарина ДВ, Каторова АВ, Токарева НГ. Клинико-эпидемиологические особенности рассеянного склероза в Российской Федерации. Современные проблемы науки и образования. 2022; 5. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=32006>. [Boynova IV, Samarina DV, Katorova AV, Tokareva NG. Clinical and epidemiological features of multiple sclerosis in the Russian Federation. Modern problems of science and education. 2022; 5. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=32006>.]

- rosis in the Russian Federation. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2022; 5. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=32006>. (In Russ.)]
3. Wei W, Ma D, Li L and Zhang L. Progress in the application of drugs for the treatment of multiple sclerosis. *Front. Pharmacol*. 2021; 12: 724718. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.724718>.
 4. Куликова СЛ, Кузнецова АВ, Лихачев СА, Голец ЮН. Рассеянный склероз у детей: диагностика, лечение (обзор). *Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа*. 2021; 11 (1): 69–81. [Kulikova S, Kuzniatsova A, Likhachev S, Golets Y. Pediatric multiple sclerosis: diagnostics and treatment (Review). *Neurology and Neurosurgery. Eastern Europe*. 2021; 11 (1): 69–81. (In Russ.)]
 5. Абдуллаева ЛМ, Бурсагова БИ, Куренков АЛ, Кузенкова ЛМ. Лечение рассеянного склероза у детей: обзор клинических исследований. *Неврологический журнал им. Л. О. Бадаляна*. 2023; 4 (1): 43–51. <https://doi.org/10.46563/2686-8997-2023-4-1-43-51>. [Abdullaeva LM, Bursagova BI, Kurenkov AL, Kuzenkova LM. Treatment of multiple sclerosis in children: review of clinical trials L. O. Badalyan neurological journal. 2023; 4 (1): 43–51. <https://doi.org/10.46563/2686-8997-2023-4-1-43-51>. (In Russ.)]
 6. Schreiner B, Becher B. Perspectives on cytokine-directed therapies in multiple sclerosis. *Swiss Med Wkly*. 2015. 145: w14199. <https://doi.org/10.4414/sm.w.2015.14199>.
 7. Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat. Med*. 2007; 13: 139–145. <https://doi.org/10.1038/nm1551>.
 8. Luchtman DW, Ellwardt E, Larochelle C, Zipp F. IL-17 and related cytokines involved in the pathology and immunotherapy of multiple sclerosis: Current and future developments. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014; 25: 403–413. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2014.07.013>.
 9. Berek K, Bauer A, Rudzki D, Auer M, et al (2023). Immune profiling in multiple sclerosis: a single-center study of 65 cytokines, chemokines, and related molecules in cerebrospinal fluid and serum. *Front. Immunol*. 2023; 14: 1200146. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1200146>.
 10. Bai Z, Chen D, Wang L, Zhao Y, et al. Cerebrospinal fluid and blood cytokines as biomarkers for multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis of 226 studies with 13,526 multiple sclerosis patients. *Front. Neurosci*. 2019; 13: 1026. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01026>.
 11. Fitzner B, Hecker M, Zettl UK. Molecular biomarkers in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *Autoimmun. Rev*. 2015; 14: 903–913. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.06.001>.
 12. Salehi M, Bagherpour B, Shayghannejad V, Mohebi F, Jafari R. Th1, Th2 and Th17 cytokine profile in patients with multiple sclerosis following treatment with rapamycin. *Iran. J. Immunol*. 2016; IJIV13i2A7.
 13. Martynova E, Goyal M, Johri S, Kumar V, et al. Serum and cerebrospinal fluid cytokine biomarkers for diagnosis of multiple sclerosis Hindawi Mediators of Inflammation. Volume 2020, Article ID 2727042, 10 pages. <https://doi.org/10.1155/2020/2727042>.
 14. Cala CM, Moseley CE, Steele C, Dowdy SM, et al. T cell cytokine signatures: Biomarkers in pediatric multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology*. 2016; 297: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.04.015>.
 15. Maes M, Carvalho AF. The Compensatory Immune-Regulatory Reflex System (CIRS) in Depression and Bipolar Disorder. *Molecular neurobiology*. 2018; 55 (12): 8885–8903. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1016-x>.
 16. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007 Spring; 45 (2): 27–37. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>.
 17. Chen Z, Bozec A, Ramming A, et al. Anti-inflammatory and immune-regulatory cytokines in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2019; 15: 9–17. <https://doi.org/10.1038/s41584-018-0109-2>.
 18. Cataldi C, Mari NL, Lozovoy MAB et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine profiles in psoriasis: use as laboratory biomarkers and disease predictors. *Inflamm Res*. 2019 Jul; 68 (7): 557–567. <https://doi.org/10.1007/s00011-019-01238-8>.
 19. Anderson WD, Vadigepalli R. Neuroinflammation, Glia, and Cytokines: Networks of Networks. In: Jaeger D, Jung R (eds). *Encyclopedia of Computational Neuroscience*. Springer, New York, NY. 2022. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1006-0_100694.
 20. Радыгина ТВ, Купцова ДГ, Курбатова ОВ, Петричук СВ, Семикина ЕЛ, Фисенко АП, и др. Особенности показателей клеточного иммунитета в зависимости от активности очагов демиелинизации у детей с рассеянным склерозом. *Медицинская иммунология*. 2023; 25 (5): 1019–1026. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-FOP-2777>. [Radygina TV, Kuptsova DG, Kurbatova OV, Petrichuk SV, Semikina EL, Fisenko AP, et al. Features of parameters of cellular immune depending on the activity of foci of demyelination in children with multiple sclerosis. *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*. 2023; 25 (5): 1019–1026 (In Russ.). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-FOP-2777>. (In Russ.)]

21. Chen W, Wang J, Yang H, Sun Y, et al. Interleukin 22 and its association with neurodegenerative disease activity. *Front. Pharmacol.* 2022; 13: 958022. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.958022>.
22. Jiang Q, Yang G, Xiao F, Xie J, et al. Role of Th22 Cells in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Front. Immunol.* 2021; 12: 688066. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.688066>.

ВКЛАД АВТОРОВ В РАБОТУ

Радыгина Т. В. — сбор материала, проведение исследования, написание текста, статистическая обработка, редактирование текста.

Петричук С. В. — написание текста, статистическая обработка, редактирование текста.

Курбатова О. В., Купцова Д. Г. — написание текста, редактирование текста.

Фисенко А. П., Семикина Е. Л., Абдуллаева Л. М., Бурсагова Б. И. — редактирование текста.

Фрейдлин Е. В. — обработка и подготовка биологического материала к исследованию.

THE AUTHORS' CONTRIBUTION TO THE WORK

Tatiana V. Radygina — material collecting, research conducting, text writing, statistical processing, text editing.

Svetlana V. Petrichuk — text writing, statistical processing, text editing.

Olga V. Kurbatova, Daria G. Kuptsova — text writing, text editing.

Andrei P. Fisenko, Elena L. Semikina, Luizat M. Abdullaeva, Bella I. Bursagova — text editing.

Ekaterina V. Freydlin — processing and preparation of biological material for research.