

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ТЕХНОЛОГИИ

УДК 616.211-002+616.216.1-002]-078.33

DOI 10.17816/pmj35623-28

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА И АНТИТЕЛ К НИМ В КРОВИ И В КЛЕТКАХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ НОСА ПРИ РИНИТАХ И РИНОСИНУСИТАХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

*М.О. Иванов**, *Н.М. Иванова*, *М.В. Максименя*, *Т.М. Караваева*,
Е.В. Егорова, *Е.В. Фефелова*, *Н.Н. Цыбиков*

Читинская государственная медицинская академия, Россия

CHANGED CONTENT OF HEAT SHOCK PROTEINS AND ANTIBODIES TO THEM IN BLOOD AND NASAL MUCOSA CELLS IN RHINITES AND RHINOSINUSITES OF DIFFERENT ETIOLOGY

*M.O. Ivanov**, *N.M. Ivanova*, *M.V. Maksimenya*, *T.M. Karavaeva*,
E.V. Egorova, *E.V. Fefelova*, *N.N. Tsybikov*

Chita State Medical Academy, Russian Federation

Цель. Определение содержания белка теплового шока с молекулярной массой 70 кДа (БТШ 70) и антител к ним в крови и назальном секрете у пациентов с аллергическими ринитами и инфекционными риносинуситами различной этиологии.

Материалы и методы. В работе представлены результаты обследования 10 пациентов с аллергическими ринитами и 30 больных инфекционными риносинуситами в возрасте от 25 до 35 лет. Пациенты с инфекционными риносинуситами были разделены на три группы согласно нозологической форме заболевания. В контрольную группу вошли 10 практически здоровых людей, сопоставимых по полу и возрасту с больными.

© Иванов М.О., Иванова Н.М., Максименя М.В., Караваева Т.М., Егорова Е.В., Фефелова Е.В., Цыбиков Н.Н., 2018
тел: +7 924 274 03 61
e-mail: ivanov5826@yandex.ru

[Иванов М.О. (*контактное лицо) – аспирант кафедры патологической физиологии, врач-оториноларинголог; Иванова Н.М. – аспирант кафедры патологической физиологии, врач-дерматовенеролог; Максименя М.В. – кандидат медицинских наук, заведующий биохимической лабораторией; Караваева Т.М. – старший научный сотрудник биохимической лаборатории; Егорова Е.В. – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой оториноларингологии; Фефелова Е.В. – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии; Цыбиков Н.Н. – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии].

Результаты. Анализ показал, что в назальном секрете у всех пациентов значительно повышался уровень БТШ 70 по сравнению с группой контроля. Максимальные значения регистрировались при бактериальном риносинусите и были выше, чем у пациентов с вирусным и грибковым, в 1,9 ($p = 0,015$) и 2,9 раза ($p = 0,001$) соответственно. В сыворотке крови концентрация БТШ 70 в сравнении с контролем увеличивалась у пациентов с аллергическим ринитом и бактериальным риносинуситом на 103,67 % ($p = 0,015$) и 32,11 % ($p = 0,049$) соответственно, при этом значения данного показателя в последних двух группах превышали таковые у больных грибковым риносинуситом в 2,37 ($p = 0,01$) и 1,54 раза ($p = 0,035$).

Выводы. Выявлено, что в группе пациентов с аллергическим ринитом и хроническим бактериальным риносинуситом в назальном секрете и сыворотке крови наибольшее значения БТШ 70, причем в назальном секрете уровень БТШ 70 выше, чем в крови. Количество аутоантител к БТШ 70 в крови увеличивается при аллергических ринитах, при грибковых и вирусных формах риносинуситов, что отражает иммунологический эффект белков-шаперонов.

Ключевые слова. Ринит, риносинусит, белок теплового шока, БТШ 70, аллергический риносинусит.

Aim. To determine the content of heat shock proteins with molecular weight 70 kDa (HSP 70) and antibodies to them in blood and nasal secretion in patients with allergic rhinites and infectious rhinosinusites of different etiology.

Materials and methods. The paper presents the results of examination of 10 patients with allergic rhinitis and 30 patients, infected with rhinosinusites (the age range 25–35 years). The patients with infectious rhinosinusites were divided into 3 groups according to nosologic form of disease. The control group included 10 practically healthy persons in the ratio, comparable by their gender and age with sick persons.

Results. The analysis showed that in the nasal secretion of all patients, HSP 70 level significantly raised compared to the control. Maximum values were registered in patients with bacterial rhinosinusitis and were higher than in patients with viral and fungous ones by 1.9 times ($p = 0.015$) and 2.9 times ($p = 0.001$), respectively. In blood serum, HSP 70 concentration compared with the control increased in patients with allergic rhinitis and bacterial rhinosinusitis by 103.67 % ($p = 0.015$) and 32.11 % ($p = 0.049$), respectively; these values in the last two groups exceeded the latter in patients with fungous RS by 2.37 times ($p = 0.01$) and by 1.54 times ($p = 0.035$).

Conclusions. It was detected that in the group of patients with allergic rhinitis and chronic bacterial rhinosinusitis in the nasal secretion and blood serum, HSP 70 values were the highest. In the nasal secretion, HSP 70 level was higher than in blood. The amount of autoantibodies to HSP 70 in blood grew in allergic rhinitis, fungous and viral forms of rhinosinusites that reflects the immunological effect of chaperone proteins.

Key words. Rhinitis, rhinosinusitis, heat shock protein, HSP 70, allergic rhinosinusitis.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы отмечен значительный рост распространенности заболевания слизистой оболочки носа (риниты) и околоносовых пазух (риносинуситы) [9]. Данные патологии чаще всего характеризуются синдромом, который включает заложенность носа, ринорею, приступы чихания, головную боль и другие, что отрицательно сказывается на социальных, физических и психических аспектах жизни человека [1]. Проблема патогенетической терапии этих

состояний занимает особое место в современной ринологии, что объясняется недостаточной эффективностью лечения и высокой частотой рецидивов. Раскрытие новых звеньев патогенеза ринитов и риносинуситов позволит расширить перспективы открытия новых путей терапии данных заболеваний.

Являясь стресс-лимитирующими факторами, шапероны, или белки теплового шока (БТШ), активно синтезируются при многих патологических состояниях. Выявлено, что их концентрация в крови существенно уве-

личивается при хронических воспалительных процессах [2, 8].

Доказано, что БТШ экспрессируются как в клетках слизистой носа, так и в микроорганизмах [7, 10]. Данные вещества участвуют в разнообразных клеточных функциях, таких как сборка и фолдинг макромолекулярных комплексов, транспортировка и сортировка протеинов, диссоциация денатурированных агрегатов белка, контроль клеточного цикла и запрограммированной гибели клеток. Кроме того, являясь эволюционно стабильными и, как следствие этого, обладая высокой антигенностью, они способны стимулировать врожденный и приобретенный иммунитет [4].

Однако работы по выявлению роли БТШ в механизмах формирования местной резистентности, их участия в развитии патологического процесса в полости носа и носовых пазухах весьма немногочисленны [3].

Целью данного исследования было изучение содержания БТШ 70 и антител к ним в крови и назальном секрете у пациентов с аллергическими ринитами и инфекционными риносинуситами различной этиологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе представлены результаты обследования 10 пациентов с аллергическими ринитами и 30 больных инфекционными риносинуситами, находившихся на лечении в оториноларингологических отделениях НУЗ «Дорожная клиническая больница» и ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы с 2012 по 2016 г. Возраст больных – от 25 до 35 лет. Пациенты с инфекционными риносинуситами были разделены на три группы согласно нозологической форме заболевания: 1-я группа – 10 человек с острым

вирусным риносинуситом; 2-я группа – 10 человек с обострением хронического гнойного риносинусита; 3-я группа – 10 человек с хроническим риносинуситом грибковой этиологии. В контрольную группу вошли 10 практически здоровых людей, сопоставимых по полу и возрасту с больными. Все участники предоставили информированное согласие на участие в исследовании.

Выявление причины развития синусита осуществляли следующим образом: вирусный – на основании сроков заболевания не более 10 дней и ДНК-диагностики конкретного возбудителя, бактериальный – на основании бактериологического исследования, грибковый – по данным компьютерной томографии придаточных пазух носа и микробиологического культурального исследования. Диагностику аллергического ринита проводили по определению специфического антигена класса IgE (sIgE). Для постановки диагноза при каждой нозологической форме опирались на данные эндоскопического исследования и анамнез заболевания.

Оценку клинической картины течения заболевания производили методом анкетирования.

У обследуемых забирали кровь из вены. В сыворотке крови всех обследуемых определяли количество белка БТШ 70 и антитела к БТШ 70 методом ИФА, применяя наборы реактивов Enzo Life Science (США). Кроме того, уровень БТШ 70 оценивали в назальном секрете, полученном путем введения в полость носа сухой марлевой турунды, которую извлекали через 10 минут и помещали в пробирку с 0,9%-ным натрия хлоридом, затем тщательно отжимали. Стандартизация образцов осуществлялась по уровню белка, определяемого методом спектрофотометрии при длине волны 280 нм. Далее 3 мл полу-

ченной жидкости центрифугировали и хранили при -70°C .

Расчет полученных данных проводили с помощью программы Microsoft Excel. Описательная статистика представлена медианой и межквартильным интервалом (25-й; 75-й перцентили); для сравнения двух независимых выборочных совокупностей применяли критерий Манна – Уитни. Статистически достоверными считались различия при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ показал (таблица), что в назальном секрете у всех пациентов значительно повышался уровень БТШ 70 по сравнению с контролем: при аллергическом рините в 4,9 ($p < 0,001$), при вирусном риносинусите – в 3,1 ($p < 0,001$), при бактериальном – в 5,9 ($p < 0,001$), при грибковом – в 2,0 раза ($p < 0,001$). Максимальные значения регистрировались при бактериальном риносинусите и были выше, чем у пациентов с вирусным и грибковым в 1,9 ($p = 0,015$) и 2,9 раза ($p = 0,001$) соответственно. При аллерги-

ском рините цифры также были высокими и превышали таковые при грибковом риносинусите в 2,4 раза ($p = 0,001$). В исследованиях Н.Ж. Мин и соавт. (2016, 2017) также отмечено увеличение содержания данного белка в назальном секрете при аллергических ринитах [5, 6] и хронических полипозных риносинуситах [5, 10].

В сыворотке крови концентрация БТШ 70 в сравнении с контролем увеличивалась у пациентов с аллергическим ринитом и бактериальным риносинуситом на 103,67 ($p = 0,015$) и 32,11 % ($p = 0,049$) соответственно, при этом значения данного показателя последних двух группах превышали таковые у больных грибковым риносинуситом в 2,37 ($p = 0,01$) и 1,54 раза ($p = 0,035$).

Вероятно, повышение БТШ 70 как в сыворотке крови, так и назальном секрете при аллергических ринитах и при инфекционных риносинуситах связано с гиперпродукцией БТШ 70 как фагоцитирующими клетками организма человека, так и микроорганизмами. Можно предположить, что в формировании белков теплового шока

Уровень БТШ 70 и антител к нему в сыворотке крови и назальном секрете при аллергическом рините и риносинуситах различной этиологии (Ме (25-й; 75-й))

Параметр, нг/мл	Контроль (n = 10)	Аллергический ринит (n = 10)	Вирусный риносинусит (n = 10)	Бактериальный риносинусит (n = 10)	Грибковый риносинусит (n = 10)
БТШ 70 в секрете	30,96 (20,25; 41,46)	152,55* (71,65; 223,95)	96,97* (63,74; 115,27)	183,19* (81,88; 294,29) $p_2 = 0,015$	62,51* (35,72; 104,11) $p_1 = 0,001$ $p_3 = 0,001$
БТШ 70 в крови	3,27 (3,07; 3,34)	6,66* (5,23; 13,36)	3,64 (3,18; 4,30)	4,32* (2,92; 6,11)	2,81 (2,44; 4,04) $p_1 = 0,035$
Антитела к БТШ 70 в крови	278,51 (254,14; 436,53)	509,43* (287,56; 625,53)	599,39* (421,61; 808,36)	439,55 (314,75; 648,75)	787,42* (582,28; 919,64)

П р и м е ч а н и е: * – достоверные различия с контрольными результатами; p_1 – уровень значимости различий по сравнению с аллергическим ринитом; p_2 – по сравнению с вирусным риносинуситом; p_3 – по сравнению с бактериальным риносинуситом.

принимают участие множество клеток в очаге воспаления: эндотелиоциты, эпителиальные, и клетки соединительной ткани, и другие вовлекаемые в патологические процессы.

Стресс-белки обладают не только защитными свойствами, они могут являться одними из звеньев патогенеза ринитов и риносинуситов, так как, будучи высокоиммуногенными, способны индуцировать выработку аутоантител [4, 5, 8].

В нашем исследовании при бактериальных риносинуситах накопления аутоантител к БТШ 70 в крови не наблюдалось, что, возможно, свидетельствует о сбалансированности иммунного ответа при этом патологическом процессе. В то же время концентрация аутоантител к БТШ 70 в группе пациентов с аллергическим ринитом была выше в 1,83 раза ($p = 0,049$), в группе с вирусным риносинуситом – в 2,15 ($p = 0,043$), а в группе с грибковым – в 2,83 раза ($p = 0,04$) по сравнению с контрольными результатами.

Выводы

1. При аллергических ринитах и инфекционных риносинуситах различной этиологии повышается концентрация БТШ 70 в назальном секрете. Наибольшие значения регистрируются при аллергическом рините и хроническом бактериальном риносинусите, причем уровень БТШ 70 в назальном секрете выше, чем в сыворотке крови.

2. В сыворотке крови содержание белков-шаперонов возрастает при аллергических ринитах и при бактериальных риносинуситах.

3. Количество аутоантител к БТШ 70 в крови увеличивается при аллергических ринитах, при грибковых и вирусных формах

риносинуситов, что отражает иммунологический эффект белков-шаперонов.

Библиографический список

1. Смирнов Д.С., Курбачева О.М. Возможности азеластина в терапии хронического ринита. Вестник оториноларингологии 2017; 82 (6): 52–59.

2. Цыбиков Н.Н., Баранов С.В., Кузник Б.И., Малежик Л.П., Исакова Н.В. Уровень белка теплового шока-70, цитокинов и аутоантител к ним в сыворотке крови, ротовой и зубодесневой жидкости при пародонтите. Стоматология 2014; 93 (1): 16–18.

3. Chalastras T., Nicolopoulou-Stamati P., Patsouris E., Eleftheriadou A., Kandiloros D., Yiotakis I., Gonidi M., Athanassiadou P. Expression of substance P, vasoactive intestinal peptide and heat shock protein 70 in nasal mucosal smears of patients with allergic rhinitis: investigation using a liquid-based method. J Laryngol Otol 2008; 122 (7): 700–706. DOI: 10.1017/S0022215107001454

4. Martinez-Rossi N.M., Jacob T.R., Sanches P.R., Peres N.T., Lang E.A., Martins M.P., Rossi A. Curr genomics. Heat shock proteins in dermatophytes: current advances and perspectives 2016, 17 (2): 99–111. DOI: 10.2174/1389202917666151116212437

5. Min H.J., Kim K.S., Yoon J.H., Kim C.H., Cho H.J. T-helper 2 cytokine-induced heat shock protein 70 secretion and its potential association with allergic rhinitis. Int. Forum Allergy Rhinol 2017; 7 (5): 530–535. DOI: 10.1002/alr.21905

6. Min H.J., Yoon J.H., Kim C.H. HSP70 is associated with the severity of inflammation in chronic rhinosinusitis. Am J Rhinol Allergy 2016; 30 (4): 101–106. DOI: 10.2500/ajra.2016.30.4259.

7. *Sbarma D., Masison D.C.* Hsp70 structure, function, regulation and influence on yeast prions protein *Pept. lett* 2009; 16 (6): 571–581.

8. *Tsybikov N.N., Egorova E.V., Kuznik B.I., Fefelova E.V.* Anticytokine autoantibodies in chronic rhinosinusitis. *Allergy and Asthma Proceedings* 2015; 36 (6): 473–480.

9. *Tsybikov N.N., Egorova E.V., Kuznik B.I., Fefelova E.V., Magen E.* Heat shock protein 70 and anti-heart shock protein 70 antibodies

in nasal secretions of patients with chronic rhinosinusitis. *Allergy Rhinol* 2016; 7: 1–7.

10. *Wirk B.* Heat shock protein inhibitors for the treatment of fungal infections. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 2011; 6 (1): 38–44. Review. *Curr Genomics* 2016; 17 (2): 99–111. DOI: 10.2174/1389202917666151116212437

Материал поступил в редакцию 8.10.2018