

УДК: 616-092.11

Иванов М.О., Цыбиков Н.Н., Егорова Е.В., Фефелова Е.В.

**ПРОФИЛЬ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА HPS70 И АУТОАНТИТЕЛ К НИМ
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И НАЗАЛЬНОМ СЕКРЕТЕ У БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКИМИ РИНОСИНСИТАМИ**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 672000, г. Чита, ул. Горького, 39 а

Цель исследования. Предметом исследования были смывы с полости носа и сыворотка крови. Целью работы уровня белков теплового шока с молекулярной массой 70 кДа и ауто-Ат к ним в сыворотке крови и носовом секрете у здоровых, а также больных хроническими гнойными (ХГРС) и вирусным риносинуситом.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие здоровые (20 человек), пациенты с аллергическим ринитом (20 человек) и по 20 человек с риносинуситами вирусной, грибковой и бактериальной этиологии. Возраст добровольцев от 25 до 35 лет без соматической и ЛОР-патологии. Уровни БТШ и аАт к ним определяли иммуноферментным методом. Стандартизация образцов осуществлялась по уровню белка, определяемого методом спектрофотометрии. Пациентам проводился эндоскопический осмотр лор органов, ДНК и бактериологическая диагностика, а также мультиспиральная компьютерная томография придаточных пазух носа по показаниям.

Результаты. Зафиксировано, что в группе пациентов с аллергическим ринитом и хроническом бактериальном риносинуситом в назальном секрете и сыворотке крови наибольшее значения БТШ 70. Причем в назальном секрете уровень БТШ 70 выше, чем в крови. Количество аутоантител (аАт) к БТШ 70 в крови увеличивается при аллергических ринитах, при грибковых и вирусных формах риносинуситов, что отражает иммунологический эффект белков шаперонов.

Заключение. Таким образом, уровень БТШ 70 и аутоантител к ним в носовом смыве более точно отображает текущий в организме патологический процесс.

Ключевые слова: ринит, риносинусит, белки теплового шока, БТШ70

Ivanov M.O., Tsybikov N.N., Egorova E.V., Fefelova E.V.

**PROFILE OF HEAT SHOCK PROTEINS HPS70 AND AUTOANTIBODIES TO THEM IN BLOOD
SERUM AND NASAL SECRETIONS IN PATIENTS WITH CHRONIC RHINOSINUSITIS.**

Chita State Medical Academy, Chita, Russia, 39A Gorky str., 672000

The aim of the research. The subject of the study was flushing from the nasal cavity and blood serum. The aim of the study was to study the level of heat shock proteins (HSP) with a molecular weight of 70 kDa and aAt to them in blood serum and nasal secretions in healthy, as well as patients with chronic purulent and viral rhinosinusitis.

Materials and Methods. The study involved healthy (20 people), patients with allergic rhinitis (20 people) and 20 people each with rhinosinusitis of viral, fungal and bacterial etiology.

The age of the volunteers is from 25 to 35 years without somatic and ENT pathology.

The levels of heat shock proteins and their aAt were determined by enzyme immunoassay. The samples were standardized according to the protein level determined by spectrophotometry.

Patients underwent endoscopic examination of ENT organs, DNA and bacteriological diagnostics, as well as multispiral computed tomography of the paranasal sinuses according to indications.

Results. It was recorded that in the group of patients with allergic rhinitis and chronic bacterial rhinosinusitis in the nasal secretions and blood serum the highest values of HSP 70. Moreover, in the nasal secret, the level of HSP 70 is higher than in the blood. The amount of aAt HSP 70 in the blood increases in allergic rhinitis, fungal and viral forms of rhinosinusitis, which reflects the immunological effect of chaperone proteins.

Conclusion. Thus, the level of HSP 70 and aAt to them in the nasal flush more accurately reflects the current pathological process in the body.

Key words: rhinitis, rhinosinusitis, heat shock proteins, HSP70.

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 увеличивается 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, обладающие высокой антигенностью, они способны стимулировать врожденный и приобретенный иммунитет [6].

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. В работе представлены результаты обследования 15 пациентов с аллергическими ринитами и 20 больных инфекционными риносинуситами, находившихся на лечении в оториноларингологических отделениях НУЗ Дорожной клинической больницы и ГУЗ Городской клинической больницы № 1 г. Читы с 2018 г. по 2020 г. в возрасте от 25 до 35 лет. Пациенты с инфекционными риносинуситами были разделены на 3 группы согласно нозологической форме заболевания: 1 группа – 20 человек с острым вирусным риносинуситом; 2 группа – 20 человек с обострением хронического гнойного риносинусита; 3 группа – 20 человек с хроническим риносинуситом грибковой этиологии. В контрольную группу вошли 20 практически здоровых людей в соотношении сопоставимом 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 Ат БТШ 70 методом ИФА, применяя наборы реактивов Enzo Life Science (США). Кроме того, уровень БТШ 70 оценивали в назальном секрете, который был получен путем введения в полость носа сухой марлевой турунды, которую извлекали из носа через 10 минут и помещали в пробирку с 0,9% натрия хлорида

затем тщательно отжимали. Стандартизация образцов осуществлялась по уровню белка, определяемого методом спектрофотометрии при длине волны 280 нм. Далее 3 мл полученной жидкости центрифугировали и хранили при -70 °С.

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

Результаты и обсуждение. Анализ показал (Табл. 1), 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 ($p < 0,001$).

Таблица 1

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))

Группы \ Параметры	Контроль (n=2)	Аллергический ринит (n=20)	Вирусный риносинусит (n=20)	Бактериальный риносинусит (n=20)	Грибковый риносинусит (n=20)
БТШ-70 в секрете (нг/мл)	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 (нг/мл)	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 $p_1=0,035$
Ат к БТШ-70 в крови (нг/мл)	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

Примечание: n – число обследованных лиц; * – статистически значимые различия с контрольными результатами; p_1 – уровень значимости различий по сравнению с аллергическим ринитом; p_2 – уровень значимости различий по сравнению с вирусным риносинуситом; p_3 – уровень значимости различий по сравнению с бактериальным риносинуситом.

Максимальные значения регистрировались при бактериальном риносинусите и были выше, чем у пациентов с вирусным и грибковым в 1,9 ($p=0,015$) и в 2,9 раза ($p=0,001$) соответственно. При аллергическом рините цифры данного показателя также были высокими и превышали таковые при грибковом риносинусите в 2,4 раза ($p=0,001$). В исследованиях Н.А. Мин и соавт. (2016, 2017) также отмечено увеличение содержания данного белка в назальном секрете при аллергических ринитах [4, 5] и хронических полипозных риносинуситах [4, 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 групп превышали таковые у больных грибковым РС 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 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, но и могут являться одними из звеньев патогенеза ринитов и риносинуситов, так как, являясь высокоиммуногенными, они способны индуцировать выработку аутоантител (аАт) [4, 6, 8].

В нашем исследовании при бактериальных риносинуситах накопления аАт к БТШ 70 в крови не наблюдалось, что, возможно, свидетельствует о сбалансированности иммунного ответа при этом патологическом процессе. В тоже время, концентрация аАт 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 РС – в 2,83 ($p=0,04$) от контрольных результатов.

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 аАт к БТШ 70 в крови увеличивается при аллергических ринитах, при грибковых и вирусных формах риносинуситов, что отражает иммунологический эффект белков шаперонов.

Список литературы:

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., Малезик 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). 700-6. doi: 10.1017/S0022215107001454.
4. 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.
5. 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). 101-6. doi: 10.2500/ajra.2016.30.4259.
6. Martinez-Rossi N.M., Jacob T.R., Sanches P.R., Peres N.T., Lang E.A., Martins M.P., Rossi A. Heat Shock Proteins in Dermatophytes: Current Advances and Perspectives. 2016. 17 (2). 99-111. doi: 10.2174 / 1389202917666151116212437.
7. Sharma 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): 473-80.
9. Tsybikov N.N., Egorova E.V., Kuznik B.I., Fefelova E.V., Magen E. Heat shock protein 70 and anti-heat shock protein 70 antibodies in nasal secretions of patients with chronic rhinosinusitis. AllergyRhinol. 2016. 7. 1-7.
10. Wirk B. Heat shock protein inhibitors for the treatment of fungal infections. Recent Pat Antiinfect Drug Discov. 2011 Jan; 6 (1): 38-44. Review. Curr Genomics. 2016. 17 (2). 99-111. doi: 10.2174/1389202917666151116212437.

References:

1. Smirnov D.S., Kurbacheva O.M. Possibilities of azelastine in the treatment of chronic rhinitis. Vestnikotorinolaringologii. 2017. 82(6). 52-59. in Russian.

2. Cybikov N.N., Baranov S.V., Kuznik B.I., Malezhik L.P., Isakova N.V. The level of heat shock protein-70, cytokines and autoantibodies to them in blood serum, oral and periodontal fluid in periodontitis. *Stomatologija*. 2014. 93(1). 16-18. in Russian.
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). 700-6. doi: 10.1017/S0022215107001454.
4. 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.
5. 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). 101-6. doi: 10.2500/ajra.2016.30.4259.
6. Martinez-Rossi N.M., Jacob T.R., Sanches P.R., Peres N.T., Lang E.A., Martins M.P., Rossi A. Heat Shock Proteins in Dermatophytes: Current Advances and Perspectives. 2016. 17 (2). 99-111. doi: 10.2174 / 1389202917666151116212437.
7. Sharma 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): 473-80.
9. Tsybikov N.N., Egorova E.V., Kuznik B.I., Fefelova E.V., Magen E. Heat shock protein 70 and anti-heat 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 Jan; 6 (1): 38-44. Review. *Curr Genomics*. 2016. 17 (2). 99-111. doi: 10.2174/1389202917666151116212437.