

© Коллектив авторов, 2021
УДК 612.017.11: 616.514-053.2
DOI 10.21886/2219-8075-2021-12-3-50-54

Роль транскрипционного фактора FoxP3 как предиктора развития острой и хронической крапивницы у детей

С.В. Мальцев, Л.П. Сизякина, А.А. Лебеденко

Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

Цель: изучить транскрипционный фактор FoxP3 у детей с острой и хронической спонтанной крапивницей, как возможный предиктор тяжести и хронизации крапивницы. **Материалы и методы:** обследовано 264 ребенка обоих полов, 6 – 16 лет с различными вариантами течения крапивницы. Клинические методы исследования включали анализ анамнестических данных, объективный осмотр ребенка с определением степени тяжести крапивницы. Иммунологические методы исследования включали идентификацию Т-регуляторных лимфоцитов с иммунофенотипом CD4+CD25+Foxp3+CD45+. **Результаты:** установлено значительное снижение уровня транскрипционного фактора FoxP3 у детей с тяжёлым течением острой крапивницы и при хронической крапивнице по сравнению с контрольной группой. **Заключение:** степень снижения уровня FoxP3 значительно влияет на вероятность развития тяжелого течения острой крапивницы и возможную хронизацию заболевания.

Ключевые слова: крапивница, дети, иммунная система, FoxP3.

Для цитирования: Мальцев С.В., Сизякина Л.П., Лебеденко А.А. Роль транскрипционного фактора FoxP3 как предиктора развития острой и хронической крапивницы у детей. *Медицинский вестник Юга России*. 2021;12(3):X-X. DOI 10.21886/2219-8075-2021-12-3-50-54.

Контактное лицо: Мальцев Станислав Викторович, steve30@yandex.ru

The role of transcription factor FoxP3 as a predictor of acute and chronic urticaria in children

S.V. Maltsev, L.P. Sizyakina, A.A. Lebedenko

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Objective: To study the transcription factor FoxP3 in children with acute and chronic spontaneous urticaria as a possible predictor of the severity and chronicity of urticaria. **Materials and Methods:** A total of 264 children of both sexes aged from 6 to 16 years old with different variants of urticaria course were examined. Clinical methods of the study included the analysis of anamnestic data and an objective examination of the child with the determination of the severity of urticaria. Immunological methods of the study included the identification of T-regulatory lymphocytes with the CD4+CD25+ Foxp3+CD45+immunophenotype. **Results:** A significant decrease in the level of transcription factor FoxP3 was found in children with severe acute urticaria and chronic urticaria compared to the control group. **Conclusion:** The degree of reduction in the level of FoxP3 significantly affected the likelihood of the development of a severe course of acute urticaria and possible chronization of the disease.

Keywords: urticaria, children, immune system, FoxP3.

For citation: Maltsev S. V., Sizyakina L. P., Lebedenko A.A. The role of transcription factor FoxP3 as a predictor of acute and chronic urticaria in children. *Medical Herald of the South of Russia*. 2021;12(3):X-X. DOI 10.21886/2219-8075-2021-12-3-50-54.

Corresponding author: Stanislav V. Maltsev, steve30@yandex.ru

Введение

Крапивница продолжает оставаться актуальной, но не до конца изученной проблемой аллергологии детского возраста. Распространённость острой крапивницы (ОК) в детской популяции достигает 6,7% [1]. Согласно современным гайдлайнам, острая крапивница – это спонтанное возникновение волдырей и/или ангиоотёков на протяжении временного периода менее шести недель. Хроническая спонтанная крапивница (ХК) диагностируется при сохранении симптомов на протяжении временного периода более шести недель [2].

Визуальные признаки крапивницы одинаковы у всех пациентов: волдырь, ангиоотек, при этом этиология и патогенез их развития многообразны. Алгоритм диагностики и лечения крапивницы описан в отечественных и

зарубежных согласительных документах, но чаще всего он не приводит к выявлению причины заболевания, что является следствием не всегда определяемых клинико-патогенетических характеристик различных вариантов течения крапивницы [3].

Вопрос зависимости развития различных вариантов течения крапивницы от функциональной активности иммунной системы ребёнка остаётся до конца не изученным [4 – 8]. Реализация иммунного ответа происходит через сложную систему межклеточных взаимодействий и осуществляется благодаря транскрипционным факторам, некоторые механизмы этих взаимодействий непонятны до сих пор. Нарушения в работе иммунных механизмов лежат в основе развития многих соматических заболеваний, в том числе аллергического характера. FoxP-гены являются составной частью семейства Fox, в

которое входит группа транскрипционных факторов, объединённых доменом forkhead. На современном этапе открыты четыре представителя данного подсемейства, при этом FoxP3 специфичен для иммунных клеток и обнаруживается в CD4+CD8-CD25+ тимокитах, является важным фактором дифференцировки и реализации функций CD4+CD25+T-регуляторных клеток. Установлена важная роль регуляторных T-клеток в патогенезе бронхиальной астмы [9], однако эти сведения противоречивы. Исследования Lee J.H. с соавт. (2007) показали наличие повышенного количества FoxP3 клеток у детей с тяжёлым течением бронхиальной астмы по сравнению с пациентами с лёгким течением астмы [10]. При этом, по данным Vale-Pereira S. с соавт., уровень FoxP3 оказался значительно выше у здоровых людей, чем у больных бронхиальной астмой [11]. В нашей работе интерес представляет исследование уровня FoxP3 при аллергической патологии, в частности при крапивнице у детей.

Неоднозначность представлений о роли отдельных структур иммунной системы в патогенезе крапивницы, в том числе транскрипционных факторов, представляет научный интерес изучение уровня и роли FoxP3 у детей с различным течением крапивницы, а также его участие в трансформации крапивницы в хроническую форму.

Цель исследования – изучение транскрипционного фактора FoxP3 у детей с острой и хронической спонтанной крапивницей как возможного предиктора тяжести и хронизации крапивницы.

Материалы и методы

Для реализации поставленной цели обследовано 264 ребенка обоих полов в возрасте от 6 до 16 лет с различными вариантами течения крапивницы. В контрольную группу были включены 30 детей обоих полов аналогичного возраста I и II групп здоровья. Обследование пациентов проводилось в первый день поступления ребенка до начала терапии в стационаре. Анамнестическим критерием включения пациентов в исследование явилось наличие эпизодов крапивницы длительностью не более шести недель для острой, более шести недель – для хронической спонтанной крапивницы.

Клинические методы исследования включали анализ анамнестических данных, объективный осмотр ребенка с определением степени тяжести крапивницы по Zuberbier T. с соавт. (расчёт индекса активности крапивницы в течение семи дней пребывания пациента в стационаре – UAS7) [12]. Для идентификации T-регуляторных лимфоцитов с иммунофенотипом CD4+CD25+ Foxp3+CD45+ у обследуемого пациента проводился забор периферической крови из локтевой вены утром натощак в пробирку с напылением натриевой соли гепарина. В цитометрическую пробирку добавлялись 100 мкл цельной гепаринизированной крови и по 20 мкл моноклональных антител (mAT) к CD4+, окрашенных флуорохромом PE (R-phycoerythrin, фикоэритрин), CD25+, окрашенных PC5 (Phycoerythrin Cyanin 5.1, фикоэритрин цианин 5.1), CD45+, окрашенных ECD (Phycoerythrin-Texas Red, фикоэритрин тексасский красный) производителя Beckman Coulter, США. Содержимое цитометрической пробирки микшировалось на вортексе и инкубировалось 20 мин. при температуре 18 – 20° С в темном месте. Данный этап обеспечивал

окрашивание поверхностных маркеров T-лимфоцитов. Далее проводилась обработка T-лимфоцитов с применением Intra Prep Permeabilization Reagent (Immunotech) в соответствии с инструкцией производителя, затем проводилось внутриклеточное окрашивание Foxp3 (FITC) с помощью соответствующих моноклональных антител (производитель eBioscience). Анализ экспрессии исследуемых антигенов T-лимфоцитов в результате многоцветного окрашивания проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter). Результаты представлены в виде процента позитивных клеток. Клеточные популяции идентифицировали с помощью программного обеспечения CXP (Beckman Coulter, США), на основании полученных параметров проводили выделение лимфоидного региона на точечном графике (дот-плот) для последующего анализа субпопуляций клеток с обязательным контролем чистоты выделения лимфоидного гейта по окрашиванию CD45. В каждой изучаемой пробе было подсчитано не менее 25 тыс. событий. Все лабораторные исследования были проведены однократно. На проведение клинического исследования и взятие крови из вены получены информированные согласия от родителей детей до 15 лет и от подростков 15 лет и старше.

Проверка данных на нормальность распределения была выполнена с помощью теста Шапиро-Уилка. В качестве описательных статистик для количественных показателей посчитаны средние \pm средние квадратические отклонения, медиана и квартили, минимальные и максимальные значения в выборке. Сравнение медиан в группах проводилось с помощью теста Краскала-Уоллиса (парные апостериорные сравнения производились с помощью метода Немени). Различия признавались статистически значимыми на уровне $p < 0,05$. Расчёты выполнялись в R (версия 3.2, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Анализ силы связи производился с помощью коэффициентов корреляции. Связь между качественным и количественным (или порядковым) показателями анализировали с помощью корреляции гамма Гудмана. Корреляции признавались статистически значимыми на уровне $p < 0,05$.

Результаты

Анализ анамнестических данных, клинических проявлений (уртикарии, зуд), значений UAS7 установил, что лёгкое течение острой крапивницы (UAS7 7 – 15 баллов) отмечалось у 36 детей, среднетяжелое (UAS7 16 – 27 баллов) – у 139 детей, тяжелое течение острой крапивницы (UAS7 28 – 42 балла) – у 61 ребенка, хроническая спонтанная крапивница различной степени активности регистрировалась у 28 детей.

При определении уровней транскрипционного фактора FoxP3 у детей с различными вариантами течения крапивницы зафиксировано значительное снижение его уровня у детей с тяжёлым течением острой крапивницы и при хронической крапивнице по сравнению с контрольной группой здоровых детей ($1.23 \pm 0.3\%$, медиана 1,37% при тяжелом течении ОК, $0.89 \pm 0.084\%$, медиана 0,88% при хроническом течении крапивницы; $4.08 \pm 0.041\%$, медиана 4,15% в контрольной группе).

Показатель FoxP3 во всех исследуемых и в контрольной группах не обнаружил статистически значимого

отличия от нормального закона распределения (тест Шапиро-Уилка). Таким образом, можно предполагать нормальность распределения по показателю функционирования иммунной системы «FoxP3» (табл. 1).

Статистически значимые различия по показателю FoxP3 были обнаружены в следующих группах обследо-

мых детей: «Контроль / Среднетяжёлая ОК», «Контроль / Тяжёлая ОК», «Контроль / ХК», «Лёгкая ОК / Тяжёлая ОК», «Лёгкая ОК / ХК», «Среднетяжёлая ОК / Тяжёлая ОК», «Среднетяжёлая ОК / ХК».

Далее в ходе работы была оценена взаимосвязь между уровнем показателя FoxP3 и вероятностью развития тя-

Таблица / Table 1

Описательные статистики показателя FoxP3 в группах детей с острым и хроническим течением крапивницы
Descriptive statistics of the FOXP3 index in groups of children with acute and chronic urticaria

| Показатель / Indicator Форма крапивницы / Form of urticaria | Среднее значение ± СКО / Average ± standard deviation | Медиана / Median | Квартили / Quartile | Мин. значение / Minimum value | Макс. значение / Maximum value | p (тест Шапиро- Уилка) / p (Shapiro- Wilk test) |
|---|--|---------------------|------------------------|--|---|---|
| CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ при легком течении ОК, % / CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ with a light current of AU, % | 2.81±0.32 | 2.75 | [2.59; 2.87] | 2.48 | 3.36 | 0.003 |
| CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ при среднетяжелом течении ОК, % / CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ with a moderate current of AU, % | 1.89±0.23 | 1.97 | [1.77; 2.08] | 1.54 | 2.21 | 0.002 |
| CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ при тяжелом течении ОК, % / CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ with a severe course of AU, % | 1.23±0.3 | 1.37 | [1.02; 1.47] | 0.73 | 1.73 | 0.08 |
| CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ при хроническом течении крапивницы, % / CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ in chronic urticaria, % | 0.89±0.084 | 0.88 | [0.85; 0.93] | 0.74 | 1.04 | 0.24 |
| CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ в контрольной группе, % / CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ in the control group, % | 4.08±0.41 | 4.15 | [3.87; 4.35] | 3.25 | 4.83 | 1 |

Таблица / Table 2

Уровни статистической значимости для сравнения медиан показателя CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ попарно в группах (контроль, лёгкая ОК, среднетяжёлая ОК, тяжёлая ОК, хроническая крапивница)

Levels of statistical significance for comparing the medians of the index

CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ in pairs in groups (CONTROL, Mild AU, Moderate AU, Severe AU, Chronic urticaria)

| | Контроль & лёгкая ОК / Control & Mild AU | Контроль & среднетяжёлая ОК / Control & Moderate AU | Контроль & тяжёлая ОК / Control & Severe AU | Контроль & хроническая крапивница / Control & Chronic urticaria | Лёгкая ОК & среднетяжёлая ОК / Mild AU & Moderate AU |
|---------------------------|---|--|--|---|---|
| CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ | 0.6 | 0.001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.2 |
| | Лёгкая ОК & тяжёлая ОК / Mild AU & Severe AU | Лёгкая ОК & хроническая крапивница / Mild AU & Chronic urticaria | Среднетяжёлая ОК & тяжёлая ОК / Moderate AU & Severe AU | Среднетяжёлая ОК & хроническая крапивница / Moderate AU & Chronic urticaria | Тяжёлая ОК & хроническая крапивница / Severe AU & Chronic urticaria |
| CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ | <0.0001 | <0.0001 | 0.004 | <0.0001 | 0.2 |

Примечание: сравнение проводилось с помощью теста Краскала-Уоллиса, попарные апостериорные сравнения осуществлялись с помощью метода Неманья.

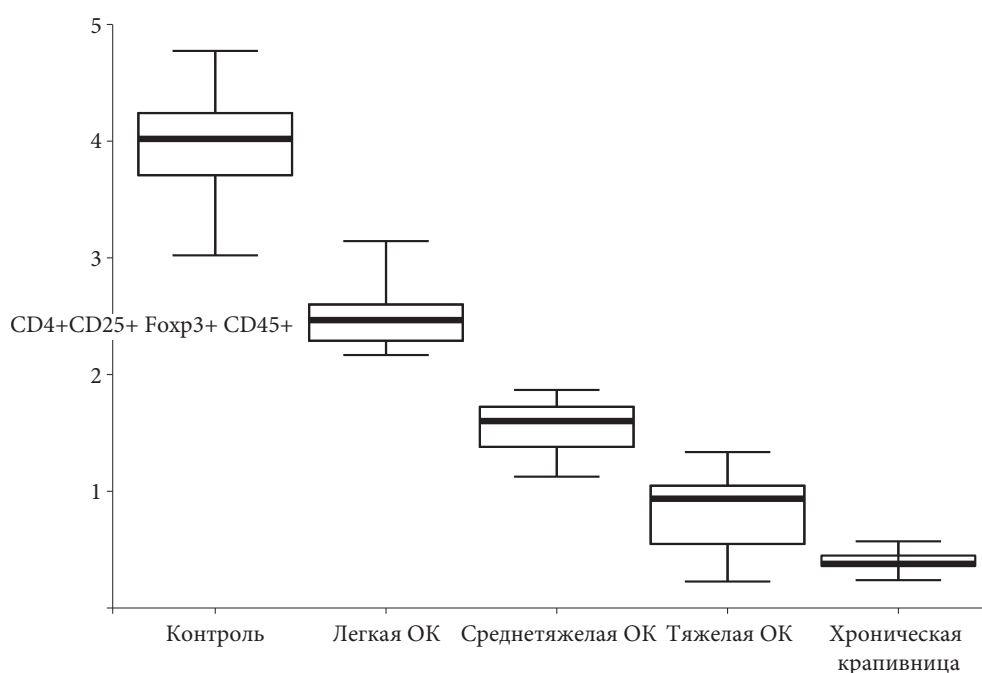


Рисунок 1. Диаграмма размаха для «FoxP3, %».

Figure 1. Span chart for "FoxP3, %".

Таблица / Table 3

Статистически значимая корреляция между исследуемыми показателями
Statistically significant correlation between the studied indicators

| Первый показатель / The first indicator | Второй показатель / The second indicator | Коэффициент корреляции / Correlation coefficient | Уровень значимости, р / Significance level, p |
|--|---|---|--|
| CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ | Тяжесть течения крапивницы / Severity of urticaria | 0.97 | <0.0001 |

желого течения крапивницы (табл. 2).

Как видно из табл. 3, значимая сильная связь обнаружена между переменными «CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+» и «Тяжесть течения крапивницы».

Обсуждение

Таким образом, в нашей работе показано, что для всех пациентов с острой и хронической крапивницей характерно достоверное уменьшение доли CD4+CD25+ Foxp3+ CD45+ в периферической крови, что, вероятно, обуславливает снижение их функциональной активности. При этом имеется статистически значимая связь между уровнем показателя Foxp3 и степенью тяжести крапивницы.

Заключение

1. Впервые установлено, что для детей с острой и хронической крапивницей характерно снижение в перифе-

рической крови функционально активных CD4+CD25+ Foxp3+CD45+.

2. Определено, что степень снижения количества FoxP3 влияет на вероятность развития более тяжелого течения острой крапивницы и возможную хронизацию заболевания.

3. Впервые FoxP3 может быть предложен в качестве иммунологического показателя как предиктор тяжелого течения ОК у детей и её трансформации в хроническую форму.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Financing. The study did not have sponsorship.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. Authors declares no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

- Горячкина Л.А., Ненасева Н.М., Борзова Е.Ю. Крапивница // *Лечащий врач*. – 2003. – №9. – С. 43-45.
- Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с крапивницей. – М.: Союз педиатров России, 2016.

REFERENCES

- Goryachkina LA, Nenasheva NM, Borzova EYU. Urticaria. *Attending physician*. 2003;(9):43-45. (In Russ)
- Federal clinical guidelines for the care of children with urticaria. Union of pediatricians of Russia; 2015. (In Russ).

3. Яловега Г.Э., Лебеденко А.А., Калмыкова Т.С., Аверкина Л.А., Посевина А.Н., и др. Особенности микроэлементного статуса у детей с острой крапивницей // *Педиатрическая фармакология*. – 2016. – №2. – С. 101-104. DOI: 10.15690/pf.v13i2.1550
4. Мальцев С.В., Сизыкина Л.П., Лебеденко А.А. Особенности адаптивного и врожденного иммунитета у детей с различными вариантами течения острой крапивницы // *Цитокины и воспаление*. – 2014. – №3. – С. 117-118. eLIBRARY ID: 22840551
5. Сизыкина Л.П., Андреева И.И. *Справочник по клинической иммунологии*. – Ростов-на-Дону, 2005.
6. Сизыкина Л.П., Лебеденко А.А., Мальцев С.В., Посевина А.Н., Аверкина Л.А. Крапивница у детей: современный взгляд на проблему // *Медицинский вестник Юга России*. – 2015. – №4. – С. 5-13. DOI: 10.21886/2219-8075-2015-4-5-13
7. Lin Y.R., Liu T.H., Wu T.K., Chang Y.J., Chou C.C., Wu H.P. Predictive factors of the duration of a first-attack acute urticaria in children // *Am J Emerg Med*. – 2011. – Vol. 29. – P.883-889. DOI: 10.1016/j.ajem.2010.04.004.
8. Mathur A.N., Mathes E.F. Urticaria mimickers in children // *Dermatol Ther*. – 2013. – Vol. 26. – P. 467-475. DOI: 10.1111/dth.12103.
9. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Еремеева А.В., Нема М.А., Беденко А.С. Патогенетическая роль кооперативных взаимодействий транскрипционных факторов FoxP3, GATA-3, PAX-5 при бронхиальной астме // *Медицинская иммунология*. – 2013. – №4. – С. 303-312. eLIBRARY ID: 20143594
10. Lee J.H., Yu H.H., Wang L.C., Lin Y.-T., Chiang B.L. The levels of CD4+CD25+ regulatory T cells in paediatric patients with allergic rhinitis and bronchial asthma // *Clin. Exp. Immunol*. – 2007. – Vol. 148, iss. 1. – P. 53-63. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03329.x
11. Vale-Pereira S., Todo-Bom A., Geraldes L., Schmidt-Weber C., Akdis C.A., Mota-Pinto A. FoxP3, GATA-3 and T-bet expression in elderly asthma. // *Clin. Exp. Allergy*. – 2011. – Vol. 41, iss. 4. – P. 490-496. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2010.03640.x
12. Zuberbier T., Asero R., Bindslev-Jensen C., Walter Canonica G., Church M.K., et al. EAACI/GA(2)LEN/EDF/WAO guideline: definition, classification and diagnosis of urticarial // *Allergy*. – 2009. – Vol. 64. №10. – P. 1417-1426. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02179.x
3. Yalovega G.E., Lebedenko A.A., Mal'tsev S.V., Kalmykova T.S., Averkina L.A., et al. Features of the microelement status in children with acute urticaria. *Pediatric pharmacology*. 2016;13(2):101-104. (In Russ.). DOI: 10.15690/pf.v13i2.1550
4. Malcev S.V., Sizyakina L.P., Lebedenko A.A. Features of adaptive and innate immunity in children with different variants of acute urticarial. *Cytokines and inflammation*. 2014;(3): 117-118. (In Russ). eLIBRARY ID: 22840551
5. Sizyakina LP, Andreeva II. *Handbook of clinical immunology*. Rostov-on-Don; 2005. (In Russ).
6. Sizyakina L.P., Lebedenko A.A., Malcev S.V., Posevina A.N., Averkina L.A. Murticaria in children: a modern view on the problem. *Medical Herald of the South of Russia*. 2015;(4):5-13. (In Russ.) DOI: 10.21886/2219-8075-2015-4-5-13
7. Lin YR, Liu TH, Wu TK, Chang YJ, Chou CC, Wu HP. Predictive factors of the duration of a first-attack acute urticaria in children. *Am J Emerg Med*. 2011;29(8):883-9. DOI: 10.1016/j.ajem.2010.04.004
8. Mathur AN, Mathes EF. Urticaria mimickers in children. *Dermatol Ther*. 2013;26(6):467-75. DOI: 10.1111/dth.12103.
9. Mineev V.N., Sorokina L.N., Eremeeva A.V., Nema M.A., Bedenko A.S. Pathogenetic role of cooperative interactions of transcription factors FoxP3, GATA-3, PAX-5 in bronchial asthma. *Medical immunology*. 2013;(4):303-312. (In Russ). eLIBRARY ID: 20143594
10. Lee JH, Yu HH, Wang LC, Yang YH, Lin YT, Chiang BL. The levels of CD4+CD25+ regulatory T cells in paediatric patients with allergic rhinitis and bronchial asthma. *Clin Exp Immunol*. 2007;148(1):53-63. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03329.x
11. Vale-Pereira S, Todo-Bom A, Geraldes L, Schmidt-Weber C, Akdis CA, Mota-Pinto A. FoxP3, GATA-3 and T-bet expression in elderly asthma. *Clin Exp Allergy*. 2011;41(4):490-6. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2010.03640.x
12. Zuberbier T, Asero R, Bindslev-Jensen C, Walter Canonica G, Church MK, et al. EAACI/GA(2)LEN/EDF/WAO guideline: definition, classification and diagnosis of urticaria. *Allergy*. 2009;64(10):1417-26. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02179.x

Информация об авторах

Мальцев Станислав Викторович, к.м.н., доцент, заведующий педиатрическим отделением клиники, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия. E-mail: steve30@yandex.ru.

Сизыкина Людмила Петровна, д.м.н., проф., заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия.

Лебеденко Александр Анатольевич, д.м.н., проф., заведующий кафедрой детских болезней №2, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия.

Information about the authors

Stanislav V. Maltsev, Cand. Sc. (Med.), associate Professor, head of pediatric Department of clinic, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia. e-mail: steve30@yandex.ru.

Lyudmila P. Sizyakina, Dr. Sc. (Med.), Professor, head of the Department of clinical immunology and Allergology, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

Alexander A. Lebedenko, Dr. Sc. (Med.), Professor, head of the Department of children's diseases №2, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

Вклад авторов: авторский вклад в написание статьи был равным.

Authors' contribution: the contribution of the authors in writing the work is equivalent.

Получено/ Received: 20.05.2021

Принято к печати/ Accepted: 24.07.2021