

## ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНА $\beta$ -ДЕФЕНСИН-3 ЧЕЛОВЕКА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЛОР-ОРГАНОВ

Тырнова Е.В.<sup>1</sup>, Алешина Г.М.<sup>2</sup>, Янов Ю.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Целью исследования явилась оценка экспрессии гена  $\beta$ -дефенсин-3 человека (hBD-3) в поверхностном эпителии слизистой оболочки ЛОР-органов. Исследовали 210 образцов операционного материала, полученных при наиболее частой хирургической патологии 5 анатомо-функциональных областей: нос и околоносовые пазухи, среднее ухо, носоглотка, ротоглотка, гортань. Контролями служили: 1) нижние носовые раковины, 2) нормальная слизистая среднего носового хода. Оценку экспрессии генов hBD-3 и  $\beta$ -актина проводили методом обратной транскрипции и ПЦР в режиме реального времени. В слизистой оболочке носа и околоносовых пазух очень низкая экспрессия выявлена в 14,29-33,33% случаев, наиболее часто в ткани полипов среднего носового хода и решетчатого лабиринта (53,84%), отсутствовала в гипертрофических нижних носовых раковинах. В полости среднего уха частота детекции экспрессии гена hBD-3 варьировала от 7,69% в слизистой суперструктур стемени до 53,85% образцов слизистой при наличии холестеатомы. Экспрессия гена hBD-3 детектирована в большинстве образцов тканей с высоким микробным обсеменением: небные миндалины 100%, гипертрофия аденоидов 84,62%, аденоиды при гипертрофии аденоидов и небных миндалин 87,5%, фиброзно-сосудистые полипы гортани 87,5%, другая патология гортани 77,78% образцов. Самые высокие уровни экспрессии гена hBD-3 выявлены в гортани при фиброзно-сосудистых полипах. Полученные данные свидетельствуют о двух функционально различных типах иммунного ответа слизистой ЛОР-органов. В анатомо-функциональных областях, выстланных мерцательным эпителием (средний и нижний носовые ходы, верхнечелюстные, решетчатые пазухи, среднее ухо) детектированы достоверно низкие частота (точный тест Фишера,  $p < 0,05$  до  $p < 0,001$ ) и уровни (тест Манна-Уитни,  $p < 0,05$  до  $p < 0,001$ ) экспрессии гена hBD-3, за исключением ткани полипов среднего носового хода и решетчатого лабиринта и слизистой барабанной полости при холестеатоме, что, возможно, связано с характером патологического процесса. В зонах, выстланных плоским эпителием или сочетанием плоского и реснитчатого эпителиев, экспрессия гена hBD-3 детектирована практически повсеместно и на достоверно более высоких уровнях. В контексте хронического воспаления и связанных с инфекцией заболеваний ЛОР-органов, помимо прямой микробоцидной активности hBD-3 на первой линии защиты, возможно нарушение регуляции пептида и даже неблагоприятные патогенетические эффекты hBD-3: повышенная чувствительность к инфекциям, патологические изменения состава комменсалов, фиброзное ремоделирование.

**Ключевые слова:**  $\beta$ -дефенсин-3 человека, экспрессия гена, аденоиды, небные миндалины, слизистая носа, слизистая околоносовых пазух, полипы носа, полипы околоносовых пазух, хронический средний отит, отосклероз, гортань

### Адрес для переписки:

Тырнова Елена Валентиновна  
ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» Министерства здравоохранения РФ  
190013, Россия, Санкт-Петербург, ул. Бронницкая, 9.  
Тел.: 8 (812) 710-17-55  
E-mail: 7101755@mail.ru

### Address for correspondence:

Tyrnova Elena V.  
St. Petersburg Research Institute of Ear, Nose, Throat and Speech  
190013, Russian Federation, St. Petersburg, Bronnitskaya str., 9.  
Phone: 7 (812) 710-17-55  
E-mail: 7101755@mail.ru

### Образец цитирования:

Е.В. Тырнова, Г.М. Алешина, Ю.К. Янов «Оценка экспрессии гена  $\beta$ -дефенсин-3 человека в слизистой оболочке ЛОР-органов» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 4. С. 779-792.  
doi: 10.15789/1563-0625-HBD-2384

© Тырнова Е.В. и соавт., 2022

### For citation:

E.V. Tyrnova, G.M. Aleshina, Yu.K. Yanov "Human  $\beta$ -defensin-3 gene expression in mucosa of ORL organs", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 4, pp. 779-792.  
doi: 10.15789/1563-0625-HBD-2384

DOI: 10.15789/1563-0625-HBD-2384

## HUMAN $\beta$ -DEFENSIN-3 GENE EXPRESSION IN MUCOSA OF ORL ORGANS

Tyrnova E.V.<sup>a</sup>, Aleshina G.M.<sup>b</sup>, Yanov Yu.K.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg Research Institute of Ear, Nose, Throat and Speech, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** The aim of present study was to investigate the hBD-3 gene expression in the surface epithelium of mucosa in ORL organs. We have studied a total of 210 mucosal samples, obtained at the most frequent surgical interventions from 5 different anatomical functional areas: nose and paranasal sinuses, middle ear, nasopharynx, oropharynx, larynx. The inferior turbinate mucosa (1) and the normal middle nasal passage mucosa (2) served as controls. Estimation of hBD-3 and  $\beta$ -actin gene expression was performed by reverse transcription and real-time PCR. In the nasal and sino-nasal mucosa, only negligible expression levels were detected in 14.29–33.33% of samples, most often in the specimens from the middle nasal passage and ethmoid labyrinth polyps (53.84%), being absent in hypertrophic inferior turbinate. In the middle ear cavity, the frequency detection of the hBD-3 gene expression varied from 7.69% in the stapes superstructures mucosa to 53.85% of the mucosal samples in the presence of cholesteatoma. hBD-3 gene expression was detected in most tissue samples with high microbial contamination: palatine tonsils (100%); adenoid hypertrophy (84.62%); adenoids in hypertrophic states of adenoids and palatine tonsils (87.5%); laryngeal fibrous-vascular polyps (87.5%); other laryngeal pathology (77.78% of the samples). The highest levels of hBD-3 gene expression were found in laryngeal fibrous-vascular polyps. The findings presumed two functionally different types of immune response in mucosa of the ORL organs. In the anatomical-functional areas lined with ciliated epithelium (middle and inferior nasal passages, maxillary and ethmoid sinuses, middle ear), significantly lower frequencies (Fisher's exact test,  $p < 0.05$  to  $p < 0.001$ ) and levels (Mann–Whitney test,  $p < 0.05$  to  $p < 0.001$ ) of hBD-3 gene expression were detected, except of polyps of the middle nasal passage and ethmoid labyrinth, and mucosa of the tympanic cavity in cholesteatoma, which may be related to the nature of the pathological process. In the areas lined with squamous epithelium or a combination of squamous and ciliated epithelium, hBD-3 gene expression was detected almost everywhere and at significantly higher levels. In the context of chronic inflammation and infection-related diseases of the ORL organs, in addition to the direct microbicidal activity of hBD-3 as the first line of immune response, one may suggest peptide dysregulation and, even, pathogenetic effects of hBD-3, e.g., increased sensitivity to infections, pathological changes in the composition of the commensal bacteria, fibrous remodeling.

**Keywords:** human  $\beta$ -defensin-3, gene expression, adenoids, palatine tonsils, nasal mucosa, sinonasal mucosa, nasal polyps, sinonasal polyps, chronic otitis media, otosclerosis, larynx

### Введение

Первая линия защиты респираторного тракта представлена эпителием дыхательных путей, псевдомногослойным (многорядным) эпителием базальных клеток, реснитчатых мерцательных клеток и бокаловидных эпителиальных клеток. Клетки эпителиального пласта участвуют во врожденном иммунитете слизистой оболочки верхних дыхательных путей путем выполнения функций механического барьера, мукоцилиарного клиренса и секреции антимикробных веществ. Эпителий дыхательных путей считают иммунологически активной тканью, которая влияет на такие функции, как распознавание патогенов, нейтрализация патогенов и активация дополнительных, более отдаленных иммунных механизмов. В пределах сети врожденного иммунитета дыхательных путей одним из первых защитных

механизмов, встречающихся вторгающиеся патогены, являются антимикробные пептиды [35]. Антимикробные катионные пептиды, такие как дефенсины и кателицидин, обладают широким спектром микробоцидной активности в отношении респираторных бактерий, вирусов и грибов. Однако их функции простираются за пределы антимикробного действия и включают модуляцию врожденных и адаптивных иммунных реакций на инфекцию, а также репарацию после повреждения. Антимикробные пептиды играют важную роль при заживлении ран в ангиогенезе, аттракции лейкоцитов, разрешении воспаления и пролиферации [2, 38]. Предполагают, что антимикробные пептиды вовлечены в поддержание равновесия про- и противовоспалительных сигнальных путей, тем самым защищая организм от чрезмерной иммуностимуляции [35].

β-дефенсин-3 человека (human β-defensin-3 (hBD-3)) обладает широким спектром антибактериальной активности, в частности в отношении *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* [16, 30], *S. pneumoniae* [31], нетипируемого *Haemophilus influenzae* (NTHi) [36, 39], *Pseudomonas aeruginosa* [34], *Moraxella catarrhalis* [15], дрожжам *Candida albicans* и *Malassezia furfur* [34]. Подобно α-дефенсинам hBD-3 ингибирует заражение вирусом простого герпеса HSV-1 путем связывания с вирусным гликопротеином gB и клеточным гликозаминогликаном гепаран сульфатом, предпочтительным для прикрепления рецептором клетки хозяина [17]. Благодаря прямому взаимодействию с вирионом и посредством модуляции ко-рецепторов CXCR4 hBD-3 тормозит заражение вирусными штаммами фенотипов X4 и R5 HIV-1-инфекции (ВИЧ-1) [40]. hBD-3 приписывают многочисленные присущие цитокинам функции, включая свойства хемоаттрактанта (моноцитов, макрофагов и нейтрофилов через хемокиновый рецептор CCR2, незрелых дендритных клеток и Т-клеток памяти через CCR6 и тучных клеток через фосфолипазу C) [29], антагонизм с рецептором CXCR4 [11], активацию тучных клеток с повышением сосудистой проницаемости [6]. Эти иммуномодулирующие свойства связывают врожденную иммунную защиту с адаптивной (клеточной). В дополнение к хемокиновой природе hBD-3 способен выступать в качестве эндогенного агониста TLR и активирует TLR1 и TLR2 [12], тем самым индуцируя экспрессию цитокинов и активацию иммунных клеток (моноцитов и нейтрофилов).

hBD-3 проявляет низкую базальную экспрессию на поверхности слизистой, но экспрессия усиливается при стимуляции различными провоспалительными стимулами, включая цитокины и химические вещества бактериального [16] и вирусного [4] происхождения [35].

Хронические инфекции верхних дыхательных путей связывают с дисбиозом микробиома респираторного тракта. Эти дисбиозы (функциональные нарушения или изменения состава микробиома) часто характеризуются потерей полезных, комменсальных бактерий, которые защищают от чрезмерного роста условно-патогенных бактерий [22]. Дефекты физиологических механизмов антимикробных пептидов на границе раздела с окружающей средой связывают с повышенной чувствительностью к инфекциям, подверженностью хроническому воспалению слизистой оболочки и нарушениям (патологическим отклонениям) состава комменсальной микробиоты [28].

В связи с этим целью исследования явилась оценка экспрессии гена β-дефенсина-3 человека в поверхностном эпителии слизистой оболочки

ЛОР-органов больных хроническими воспалительными заболеваниями носа и околоносовых пазух, среднего уха, носоглотки, ротоглотки и гортани для уточнения его роли в патогенетических механизмах возникновения хронического воспаления верхних дыхательных путей.

## Материалы и методы

Объектом исследования служили образцы ткани слизистой оболочки ЛОР-органов, полученные от больных хроническими воспалительными заболеваниями во время планового хирургического вмешательства в условиях общей анестезии (табл. 1). Операционный материал немедленно помещали в стабилизирующий раствор RNAlater (Ambion, США) в отношении 1:5 и хранили до проведения молекулярно-генетических исследований при температуре -20 °С.

Исследовали 210 образцов операционного материала от 201 больного. В качестве контрольных тканей служили нижние носовые раковины больных с искривлением перегородки носа (контроль 1), наиболее часто используемые по данным литературы с этой целью, а также образцы здоровой ткани слизистой оболочки среднего носового хода, полученные попутно в ходе операций (контроль 2). Хирургическое лечение проведено больным в период вне обострения заболевания.

Общую РНК выделяли в соответствии с протоколом Gen Elute Mammalian Total RNA Miniprep Kit и On-Column DNase I Digestion Set (Sigma-Aldrich, США) из поверхностного эпителия образцов операционного материала. Синтез первой цепи комплементарной ДНК (кДНК) проводили с использованием обратной транскриптазы M-MLV (Promega, США) в присутствии oligo(dT) и dNTPs (Медиген, РФ). Амплификацию проводили с использованием специфических праймеров hBD-3 (прямого 5'-tatctctgtttgcttctctcc-3' и обратного 5'-cctctgactctgcaataatattctgtaat-3') и β-актина человека (прямой праймер 5'-gggtcagaaggattcctatg-3', обратный 5'-ggctcaaacatgatctggg-3') [3] и реактивов iQ™ SYBR Green Supermix (Bio-Rad, США) методом ПЦР в режиме реального времени с помощью системы детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX96 Touch™ и программного обеспечения CFX Manager™ версия 2.1 (Bio-Rad, США). Режим проведения реакции амплификации: инициальный нагрев 5 мин при t = 95 °С, затем 40 циклов: 10 с при t = 95 °С, 1 мин при t = 60 °С. Считывание проводили при 72 °С. Специфичность продуктов реакции оценивали по кривым плавления. Температура плавления продуктов амплификации – 78 °С для hBD-3 и 88 °С для β-актина. Уровни экспрессии гена hBD-3

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ОБРАЗЦОВ, ЧАСТОТА ДЕТЕКЦИИ И УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА  $\beta$ -ДЕФЕНСИН-3 ЧЕЛОВЕКА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЛОР-ОРГАНОВ

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF THE SURGICAL SAMPLES, FREQUENCY DETECTION AND LEVELS OF HUMAN  $\beta$ -DEFENSIN-3 GENE EXPRESSION IN THE ENT ORGANS MUCOSA

№ группы Number of the group	Операционный материал – слизистая оболочка Surgical mucosal samples	Количество образцов Samples number	Частота детекции экспрессии гена hBD-3 Frequency of detection of hBD-3 gene expression		Экспрессия гена hBD-3 относительно гена $\beta$ -актина, усл. ед. hBD-3 gene expression relatively $\beta$ -actin gene expression		Анатомо-функциональная область Anatomical functional area
			Абс. ч. Abs.	%	Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )	M $\pm$ m	
1	Нижние носовые раковины (контроль 1, без воспаления) Inferior turbinate mucosa (control 1, without inflammation)	13	2/13*	15,38	0,0 (0,0-0,0)*	0,000003077 $\pm$ 0,000002371	Искривление перегородки носа Nasal septum deviation
2	Слизистая среднего носового хода (контроль 2, без воспаления) Middle nasal passage mucosa (control 2, without inflammation)	13	4/13#	30,77	0,0 (0,0000000-0,0000055)#	0,000010850 $\pm$ 0,000008425	Киста лобной пазухи / сфеноидит / киста верхнечелюстной пазухи / искривление перегородки носа / эпифора / ликворея / дакриоцистит / инородное тело верхнечелюстной пазухи Frontal sinus cyst / sphenoiditis / maxillary sinus cyst / nasal septum deviation / epiphora / liquorhea nasalis / dacryocystitis / maxillary sinus foreign body
3	Гипертрофические нижние носовые раковины Hypertrophic inferior turbinate mucosa	13	0/13#	0	0,0 (0,0-0,0)	0,0 $\pm$ 0,0	Искривление перегородки носа, гипертрофический ринит Nasal septum deviation and hypertrophic rhinitis
4	Слизистая верхнечелюстной пазухи Maxillary sinus mucosa	14	2/14	14,29	0,0 (0,0-0,0)	0,000011430 $\pm$ 0,000007764	Иородное тело / кистоподобное образование верхнечелюстной пазухи Foreign body / cystiform formation of maxillary sinus

Таблица 1 (продолжение)  
Table 1 (continued)

№ группы Number of the group	Операционный материал – слизистая оболочка Surgical mucosal samples	Количество образцов Samples number	Частота детекции экспрессии гена hBD-3 Frequency of detection of hBD-3 gene expression		Экспрессия гена hBD-3 относительно гена β-актина, усл. ед. hBD-3 gene expression relatively β-actin gene expression		Анатомо-функциональная область Anatomical functional area
			Абс. ч. Abs.	%	Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> )	M±m	
5	Носовые, хоанальные полипы Nasal, choanal polyp mucosa	13	2/13	15,38	0,0 (0,0-0,0)	0,0000008462 ±0,0000007667	Хронический полипозный риносинусит Chronic rhinosinusitis with nasal polyps
6	Полипы верхнечелюстной пазухи Maxillary sinus polyp mucosa	6	2/6	33,33	0,0 (0,00000-0,000001)	0,000003333 ±0,000002108	Хронический полипозный риносинусит Chronic rhinosinusitis with nasal polyps
7	Полипы среднего носового хода и решетчатого лабиринта Middle nasal passage and ethmoidal polyps mucosa	13	7/13	53,84	0,000001 (0,000000-0,000001)	0,00001038 ±0,0000008436	Хронический полипозный риносинусит Chronic rhinosinusitis with nasal polyps
8	Аденоиды Adenoids	13	11/13* #	84,62	0,00001 (0,000001-0,000110)* #	0,00007169 ±0,00003411	Гипертрофия аденоидов, приводящая к назальной обструкции Adenoid hypertrophy causing nasal obstruction
9	Аденоиды (ГНМ) Adenoids (PTH)	8	7/8* #	87,50	0,00001 (0,0000100-0,0000925)* #	0,00005375 ±0,00003257	Гипертрофия аденоидов и гипертрофия небных миндалин (ГНМ), приводящие к затруднению носового дыхания и развитию секреторного отита Adenoid hypertrophy and palatine tonsil hypertrophy (PTH), leading to difficulty in nasal breathing and the development of secretory otitis media

Таблица 1 (продолжение)  
Table 1 (continued)

№ группы Number of the group	Операционный материал – слизистая оболочка Surgical mucosal samples	Количество образцов Samples number	Частота детекции гена hBD-3 Frequency detection of hBD-3 gene expression		Экспрессия гена hBD-3 относительно гена β-актина, усл. ед. hBD-3 gene expression relatively β-actin gene expression		Анатомо-функциональная область Anatomical functional area
			Абс. ч. Abs.	%	Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> )	M±m	
10	Небные миндалины (ГНМ) Palatine tonsils (PTN)	8	8/8*	100	0,00025 (0,0001850-0,0008475)*#	0,0007925 ±0,0004350	Гипертрофия аденоидов и ГНМ, приводящие к затруднению носового дыхания и развитию секреторного отита Adenoid hypertrophy and PTN, leading to difficulty in nasal breathing and the development of secretory otitis media  III. Небные миндалины III. Palatine tonsils (Oropharynx)
11	Небные миндалины (ХТ) Palatine tonsils (CT)	13	13/13*#	100	0,00034 (0,0000200-0,0008800)*#	0,0007254 ±0,0003039	Хронический декомпенсированный тонзиллит Chronic decompensated tonsillitis
12	Слизистая барабанной полости Tympanic cavity mucosa	13	6/13	46,15	0,0 (0,00000-0,00041)	0,002518 ±0,002240	Хронический туботимпанальный средний отит, центральная перфорация Chronic tubotympanic otitis media, central perforation
13	Слизистая барабанной полости при тимпаносклерозе Tympanic cavity mucosa with tympanosclerosis	13	5/13	38,46	0,0 (0,0000000-0,0000055)	0,00006015 ±0,00004113	Хронический туботимпанальный средний отит, тимпаносклероз Chronic tubotympanic otitis media, tympanosclerosis
14	Слизистая барабанной полости при холестеатоме Tympanic cavity mucosa with cholesteatoma	13	7/13	53,85	0,00001 (0,0000000-0,0000555)	0,0007715 ±0,0005070	Хронический гнойный эпантральный средний отит, холестеатома Chronic purulent epiantral otitis media, cholesteatoma

Таблица 1 (окончание)  
Table 1 (continued)

№ группы Number of the group	Операционный материал – слизистая оболочка Surgical mucosal samples	Количество образцов Samples number	Частота детекции экспрессии гена hBD-3 Frequency of detection of hBD-3 gene expression		Экспрессия гена hBD-3 относительно гена β-актина, усл. ед. hBD-3 gene expression relatively β-actin gene expression		Анатомо-функциональная область Anatomical functional area
			Абс. ч. Abs.	%	Me (Q <sub>0,25</sub> -Q <sub>0,75</sub> )	M±m	
15	Слизистая мастоидальной полости Mastoid cavity mucosa	14	4/14	28,57	0,0 (0,000000-0,000115)	0,001706 ±0,001562	Хронический гнойный эпантральный средний отит, холестеатома Chronic purulent epiantural otitis media, cholesteatoma
16	Слизистая суперструктур стремени Stapes superstructures mucosa	13	1/13	7,68	0,0 (0,0-0,0)	0,0000007692 ±0,0000007692	Отосклероз, тугоухость Otosclerosis, hearing loss
17	Слизистая гортани Laryngeal mucosa	8	7/8*	87,50	0,00314 (0,0000975-0,0130700)* #	0,007574 ±0,004148	Фиброзно-сосудистый полип Fibrous-vascular polyp
18	Слизистая гортани Laryngeal mucosa	9	7/9*	77,78	0,00001 (0,000005-0,000085)* #	0,004773 ±0,004746	Папилломатоз / киста / ангиофиброма / гипертрофический ларингит / стеноз Papillomatosis / cyst / angiofibroma / hypertrophic laryngitis / stenosis

Примечание. \* – p < 0,05 по сравнению с контрольной группой 1; # – p < 0,05 по сравнению с контрольной группой 2. Подробное описание различий между группами приведено в тексте статьи. Данные по экспрессии гена hBD-3 относительно экспрессии гена β-актина (усл. ед.) представлены как медиана (нижний квартиль – верхний квартиль) и среднее арифметическое ± стандартная ошибка среднего.

Note. \* , p < 0.05 compared to control 1; # , p < 0.05 compared to control 2. Detailed description of the differences between the groups is given in the article text. Data on hBD-3 gene expression relative to β-actin gene expression (conventional units) are presented as median (lower quartile – upper quartile) and mean ± standard error of the mean.

стандартизовали с помощью программного обеспечения прибора относительно гена внутреннего контроля  $\beta$ -актина.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы GraphPad Prism 5. Для проверки гипотезы о нормальном распределении использованы критерий согласия Колмогорова–Смирнова с поправкой Даллал–Вилкинсон–Лиллиефорса, тесты Д’Агостино и Пирсона и Шапиро–Уилка. Межгрупповой дисперсионный анализ выполнен с использованием критерия Краскела–Уоллиса. Уровни относительной экспрессии гена hBD-3 в исследуемых группах сравнивали с использованием U-теста Манна–Уитни и знакового теста Вилкоксона. Различия частоты детекции экспрессии гена hBD-3 оценивали с использованием точного теста Фишера и отношения шансов (odds ratio (OR)). Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Экспрессия гена hBD-3 детектирована во всех видах исследованных тканей, отсутствовала только в образцах гипертрофических нижних носовых раковин (группа 3). Частота детекции экспрессии гена hBD-3 варьировала в зависимости от типа ткани и нозологической формы (табл. 1). Самая низкая частота детекции экспрессии гена hBD-3 выявлена в слизистой оболочке носа и околоносовых пазух, за исключением ткани полипов среднего носового хода и решетчатого лабиринта (группа 7), в которых экспрессия гена hBD-3 обнаружена более чем в половине образцов (53,84%), статистически значимы различия между группами 3 (гипертрофический ринит) и 7 (OR 31,15, доверительный интервал (95% confidence interval (CI) 1,53÷633,6,  $p < 0,01$ ). Самая высокая частота детекции экспрессии гена hBD-3 наблюдалась в тканях, патофизиологические синдромы заболеваний которых включают повышенное микробное обсеменение (аденоиды, небные миндалины, гортань). Установлены статистически значимые различия частоты детекции экспрессии гена hBD-3 между анатомо-функциональными зонами. В контроле 1 (нижние носовые раковины) частота детекции экспрессии гена hBD-3 меньше, чем в аденоидах (группы 8 и 9) (OR 30,25, CI 3,59÷254,9,  $p < 0,002$  и OR 38,50, CI 2,91÷508,8,  $p < 0,01$  соответственно), небных миндалинах (группы 10 и 11) (OR 78,20, CI 3,31÷1850,  $p < 0,001$  и OR 124,2, CI 5,39÷2862,  $p < 0,001$  соответственно), гортани (группы 17 и 18) (OR 38,5, CI 2,91÷508,8,  $p < 0,01$  и OR 19,25, CI 2,18÷169,9,  $p < 0,01$  соответственно). В контроле 2 (слизистая среднего носового хода) частота детекции экспрессии гена hBD-3 ниже, чем в аденоидах (группы 8 и 9) (OR 12,38,

CI 1,83÷83,81,  $p < 0,02$  и OR 15,75, CI 1,42÷174,25,  $p < 0,05$  соответственно), небных миндалинах (группы 10 и 11) (OR 35,89, CI 1,67÷769,7,  $p < 0,01$  и OR 57,00, CI 2,73÷1189,  $p < 0,001$  соответственно), слизистой оболочке гортани при фибрино-сосудистых полипах (группа 17) (OR 15,75, CI 1,42÷174,25,  $p < 0,05$ ). В полости среднего уха минимальная частота детекции экспрессии гена hBD-3 отмечена при стерильном патологическом остеодистрофическом процессе отосклерозе (группа 16), максимальная – при холестеатоме (группа 14) (OR 14,00, CI 1,39÷141,6,  $p < 0,05$ ), различия частоты детекции экспрессии гена hBD-3 в слизистой среднего уха статистически значимы также по сравнению с тканью аденоидов, небных миндалин и гортани.

Уровни экспрессии гена hBD-3 в исследованных тканях варьировали подобно частоте детекции (табл. 1). Установленные достоверные различия уровней экспрессии гена hBD-3 в исследованных тканях, по-видимому, обусловлены в первую очередь анатомическими функциональными областями (нос и околоносовые пазухи, аденоиды, небные миндалины, среднее ухо, гортань), и в меньшей степени характером патологического процесса. Самые низкие уровни наблюдали в слизистой полости носа и околоносовых пазух, в пределах этой анатомической области статистически значимы различия между группами 3 (гипертрофический ринит) и 7 (полипы среднего носового хода и решетчатого лабиринта) ( $p < 0,05$ ). В аденоидах (группы 8 и 9,  $p < 0,01$  в обоих случаях), небных миндалинах (группы 10 и 11,  $p < 0,001$  в обоих случаях), барабанной полости при холестеатоме (группа 14,  $p < 0,05$ ) и гортани (группы 17 и 18,  $p < 0,001$  и  $p < 0,01$  соответственно) уровни экспрессии гена hBD-3 выше, чем в контроле 1 (нижние носовые раковины). По сравнению со слизистой оболочкой среднего носового хода (контроль 2) уровни экспрессии гена hBD-3 повышены в аденоидах (группы 8 и 9,  $p < 0,05$  в обоих случаях), небных миндалинах (группы 10 и 11,  $p < 0,001$  в обоих случаях) и гортани (группы 17 и 18,  $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно). В слизистой среднего уха минимальные уровни экспрессии гена hBD-3 отмечены при стерильном остеодистрофическом патологическом процессе отосклерозе (группа 16) ( $p < 0,05$  по сравнению с группами 12 и 14), максимальные – при холестеатоме (группа 14), различия уровней экспрессии гена hBD-3 в слизистой среднего уха статистически значимы по сравнению с тканью аденоидов, небных миндалин и гортани.

## Обсуждение

Эпителиальные клетки респираторного тракта играют важную роль в защите поверхности дыха-

тельных путей от внедряющихся патогенов путем выработки эффекторных молекул [35]. В дыхательных путях β-дефенсины 1–4 вырабатываются эпителиальными клетками, а также различными иммунными клетками [10, 37]. Прямая антимикробная активность основана на заряд-зависимом взаимодействии положительно заряженных антимикробных пептидов с отрицательно заряженной поверхностью микроорганизмов. Описаны также заряд-независимые механизмы действия антимикробных пептидов, которые отчасти включают специфические взаимодействия с мембранными рецепторами или внутриклеточными молекулами. β-дефенсины обычно секретируются в ответ на воспалительные или микробные стимулы в областях (сайтах) входных ворот инфекции. Каждый антимикробный пептид проявляет уникальный спектр антимикробной активности.

hBD-3 обладает самым высоким положительным зарядом (+11) среди β-дефенсинов человека. В отличие от многих других дефенсинов, hBD-3 сохраняет антимикробную активность против широкого круга патогенов даже в условиях с высоким содержанием соли. hBD-3 считают наиболее сильным бактерицидным агентом в отношении мультирезистентных штаммов *S. aureus*, подобно ванкомицину [30, 32, 34]. Этот условно патогенный микроорганизм бессимптомно колонизирует кожу и нос человека, а также способен вызывать как вялые хронические инфекции, так и острые и агрессивные инфекции в случаях чрезмерного, беспорядочного роста [22].

Целостность носового барьера служит предпосылкой для функционирования защитных систем верхних дыхательных путей, в особенности при постоянной угрозе вдыхания потенциально опасных микроорганизмов. Антимикробные пептиды играют важную роль в поддержании барьерной функции, т. к. механический барьер, мукоцилиарный транспорт и местные врожденные противомикробные реакции составляют так называемый иммунный барьер [33].

Общей чертой иммунопатогенеза многих форм хронического риносинусита и полипоза носа является повреждение иммунного барьера, включая повышенную проницаемость эпителия слизистой оболочки и снижение выработки важных антимикробных веществ и реакций. Полипозный риносинусит – хроническое заболевание слизистой оболочки носа и околоносовых пазух, основным клиническим проявлением которого является образование и рецидивирующий рост полипов. Принято считать, что при хроническом риносинусите нарушен назальный микробиом, и определенные микроорганизмы участвуют в стимуляции воспаления у части больных. Сравнение

образцов слизистой из различных участков полости носа здоровых людей показало, что средний носовой ход и пазухи клиновидной и решетчатой кости (сфено-этмоидальный карман) практически идентичны по составу микробного сообщества [22]. Характер назального микробиома определил ряд гипотез патогенеза полипоза носа: грибковая гипотеза (*Aspergillus* или *Alternaria spp.*), гипотеза образующих биопленки бактерий (*NTHi*, *S. pneumoniae*, *S. aureus* и др.), гипотеза респираторных вирусов (риновирус, грипп), до 50% случаев хронического риносинусита, особенно тяжелой формы с полипами, описывает гипотеза колонизации *S. aureus* [33]. До настоящего времени исследования микробиома носа не выявили единый причинный агент заболевания; основные результаты демонстрируют увеличение численности и снижение разнообразия назального микробиома при хроническом риносинусите [18, 33]. Дисбиотические сообщества у больных хроническим риносинуситом состоят, в основном, из представителей родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Moraxella* [23]. Эпидемиологическими исследованиями характера носительства *S. aureus* в общей популяции установлено, что бессимптомное носительство *S. aureus* в полости носа может встречаться у 20–30% населения в целом, с преобладающей локализацией в преддверии носа [25]. Недостаточность индуцированной повреждением экспрессии hBD-3 связывают с тяжестью кожных инфекций и носовым носительством *S. aureus* [27, 41, 42]. Носовое носительство *S. aureus* может быть постоянным или интермиттирующим и может создать резервуар для аутогенных инфекций и перекрестной передачи [25]. В нашей работе частота детекции экспрессии гена hBD-3 в контрольных тканях слизистой полости носа составила 15,38–30,77%, частота детекции и уровни экспрессии гена hBD-3 в слизистой носовых хоанальных полипов, слизистой и полипов верхнечелюстных пазух не отличались от контрольных тканей. Самая большая (53,84%) в анатомической области «нос и околоносовые пазухи» частота детекции экспрессии гена hBD-3 в ткани полипов среднего носового хода и решетчатого лабиринта (группа 7) может быть обусловлена природой заболевания, поскольку полипы растут в средний носовой ход, а также колонизацией *S. aureus*, индуцирующей экспрессию гена hBD-3.

hBD-3 считают важнейшим антимикробным пептидом защиты среднего уха. Микробные агенты попадают в полость среднего уха как через слуховую трубу, так и через наружный слуховой проход при перфорации барабанной перепонки. hBD-3 обладает бактерицидной активностью *in vitro* в отношении множества патогенов челове-

ка, включая три главных бактериальных патогена среднего отита, каждый из которых способен формировать биопленки, *S. pneumoniae*, *NTHi* и *M. catarrhalis* [20, 39], с преобладанием *NTHi* в случаях хронического среднего отита [24]. Наиболее частыми патогенами хронического гнойного среднего отита, характеризующегося персистирующей инфекцией с воспалением среднего уха и ячеистой структуры сосцевидного отростка, перфорацией барабанной перепонки и отореей, являются *P. aeruginosa* и *S. aureus* [1, 9, 26]. Известна мощная антимикробная активность hBD-3 в отношении *S. aureus* и *P. aeruginosa* [16, 30, 34]. В нашей работе максимальная частота детекции и уровни экспрессии индуцибельного гена пептида hBD-3 выявлены в слизистой барабанной полости при холестеатоме. Вероятно, персистенция этих микроорганизмов в данном случае может служить индуктором экспрессии гена hBD-3. Реализация механизмов иммунного уклонения обеспечивает выживание планктонного *NTHi*, других бактерий и вирусов в среднем ухе, однако неэффективность защиты этой биологической ниши во время хронического заболевания, включающего компонент биопленок, также может оказывать модулирующие эффекты на экспрессию гена hBD-3 при катаральных формах хронического среднего отита.

Ротовая полость человека сильно колонизирована вирусами, грибами, простейшими, археями и бактериями, как комменсалами, так и условно патогенными. Анализ, проведенный в рамках проекта «микробиом человека», показал, что среди систем организма с наибольшим бактериальным разнообразием микробиом полости рта уступает только ободочной кишке, при этом горло (миндалины) содержали уникальных членов сообщества [18, 22]. Индуцибельные  $\beta$ -дефенсины человека всегда экспрессированы в нормальном эпителии ротовой полости [40], в том числе в эпителии крипт и поверхности небных миндалин [5], но это свойство не разделяют другие слизистые барьеры. Считают, что в ротовой полости антимикробные пептиды, в том числе hBD-3, не только ограничивают чрезмерный рост комменсальных микроорганизмов, но также предупреждают колонизацию патогенами [28]. Показано, что комменсальные бактерии с иммуномодулирующими свойствами способны стимулировать иммунные реакции организма для обеспечения эффективной и быстрой защиты от патогенов, они индуцируют hBD и другие антимикробные пептиды в нормальных эпителиальных клетках ротовой полости человека и тем самым защищают область, постоянно подвергающуюся действию бактерий, от колонизации оппортунистическими патогенами. В частности, охарактеризован липо-

протеин FAD-I (*Fusobacterium*-ассоциированный индуктор дефенсинов), связанный с наружной мембраной *F. nucleatum*, который способен выступать в качестве гомеостатического агента путем активации эндогенных антимикробных пептидов [13]. На уровне бактериальных семейств в ротоглотке наиболее распространенным является *Streptococcaceae*. Показано, что изменение пропорционального относительного содержания многочисленных ротоглоточных бактерий способствует рецидивирующему тонзиллиту [18]. Сравнение микробиома небных миндалин больных рецидивирующим тонзиллитом взрослых и гипертрофией миндалин детей установило присутствие стрептококков во всех образцах, тогда как *NTHi*, виды *Neisseria* и *S. pneumoniae* чаще присутствовали у детей [18]. Показано, что уровни экспрессии мРНК hBD-3 в небных миндалинах при тонзиллярной гипертрофии ниже, чем при рецидивирующем тонзиллите и очаговой инфекции миндалин, что свидетельствует о том, что хроническое воспаление индуцирует экспрессию дефенсинов. Примечательно, что мРНК hBD-2 и hBD-3 были специфически экспрессированы в ткани небных миндалин, но не в моноцитах периферической крови и слизистой тонкого кишечника [21].

Аденоиды (глочные миндалины) и небные миндалины являются частью лимфоидной ткани носоглотки и служат основными участками микробного распознавания и защиты [22]. Аденоидно-тонзиллярная болезнь (гипертрофия аденоидов и небных миндалин) является широко распространенной ЛОР-патологией, этиологию и патогенез которой связывают с хроническим воспалением, инициируемым синергическими и антагонистическими взаимодействиями между вирусами и бактериальной инфекцией, главным образом, *S. aureus*, *Haemophilus spp.* и *Streptococcus spp.*, персистирующей преимущественно внутриклеточно или внутри биопленок слизистых оболочек. Рецидивирующее или хроническое воспаление аденоидов и небных миндалин приводит к хронической активации клеточно-опосредованных и гуморальных иммунных реакций, заканчивающейся гипертрофией лимфоидной ткани миндалин лимфоэпителиального глоточного кольца. Эту гипертрофическую ткань считают причиной известных клинических симптомов: обструкция верхних дыхательных путей, храп, сонное апноэ, дисфункции слуховой трубы. Эффективность хирургического удаления гипертрофированной ткани связывают не только с элиминацией механических препятствий дыхательных путей, но также устранением основы для этиологической причины — «носительства биопленок» [43]. Полученные в нашей работе данные о высокой ча-

стоте и уровнях экспрессии гена hBD-3 в поверхностном эпителии небных миндалин и аденоидов согласуются с представлениями о том, что избыточная нагрузка микроорганизмами и бактериальное многообразие в миндалинах лимфоэпителиального глоточного кольца могут объяснять более выраженное присутствие индуцибельных β-дефензинов в этих тканях [8].

Гортань считают важным органом развития иммунных реакций дыхательных путей, учитывая воздействие на нее вдыхаемых, проглоченных и возвращаемых при рефлюксе микроорганизмов и раздражителей [19]. Состоящие из многослойного плоского эпителия и подлежащей собственной пластинки, голосовые складки расположены в гортани на стыке дыхательного и желудочно-кишечного трактов [19]. Наиболее доступны образцы ткани для лабораторных исследований при доброкачественных заболеваниях голосовых складок, включая полипы голосовых складок, узелки, кисты, отек Рейнке, хронический ларингит [18, 19, 22, 23], а также рак гортани [14]. В образцах папилломы всех больных рецидивирующим респираторным папилломатозом гортани были детектированы мРНК hBD-1, hBD-2 и hBD-3, а уровни экспрессии были выше, чем в нормальной ткани слизистой полости рта здоровых лиц. Показана корреляция уровней экспрессии мРНК hBD-2 и hBD-3 ( $r = 0,837$ ,  $p < 0,01$ ), свидетельствующая об их совместной индукции в вызванных папилломавирусами патологических поражениях [7]. Подобно ротоглотке, наиболее распространенным родом гортанного микробиома является *Streptococcus*, который доминировал и в нормальной гортани (36%), и при доброкачественных поражениях голосовых складок (56% – 69,3%), и даже в образцах плоскоклеточной карциномы гортани (21%) и прилегающих к опухолям образцах, соответствующих нормальной ткани (29%) [14, 18, 19, 22, 23]. Высказано предположение об ассоциации между микробными сообществами с преобладанием рода *Streptococcus* и патологией голосовых складок [19, 23]. Микробиота и болезнь могут взаимодействовать в качестве причины и следствия на разных стадиях болезни [14]. В нашей работе большинство образцов слизистой гортани также получено при доброкачественных поражениях голосовых складок, а частота и уровни экспрессии гена hBD-3 сходны с аденоидами и небными миндалинами.

В исследованных нами образцах поверхностного эпителия больных хроническими воспалительными заболеваниями слизистых оболочек ЛОР-органов детектированы низкие уровни экспрессии гена hBD-3. Полученные данные согласуются с представлениями о том, что низкая базальная экспрессия на поверхности слизистой

служит способом защиты от болезней, а не поддержания болезненного состояния, т. к. антимикробные пептиды цитотоксичны в высоких концентрациях [35].

В целом, антимикробные пептиды могут способствовать тканевой регенерации и эпителиальной регенерации во время инфекции и воспаления путем индукции пролиферации структурных клеток, но они также потенциально способствуют повреждению эпителия и фиброзу ремоделированию во время воспаления дыхательных путей, когда присутствуют в высоких концентрациях. Измененная экспрессия антимикробных пептидов может приводить к колонизации дыхательных путей, обеспечивая резервуары для рецидивирующих инфекций. Повышенная чувствительность к рецидивирующим инфекциям дыхательных путей впоследствии приводит к хроническому воспалению, отклоняющейся от нормы экспрессии антимикробных пептидов и прогрессированию заболевания [35].

## Заключение

Частота детекции и уровни экспрессии гена β-дефензина-3 человека в поверхностном эпителии слизистых оболочек ЛОР-органов согласуются с представлениями об индуцибельном характере экспрессии этого пептида.

Верхние дыхательные пути предлагают множество экологических ниш для микробной колонизации, а колонизирующие микроорганизмы считают важными факторами поддержания здоровой естественной микробной среды человека или этиологическими агентами патологических процессов. Локальные микробные сообщества ЛОР-органов формируются под влиянием различных характеристик конкретного местоположения в верхних дыхательных путях. Ландшафт верхних дыхательных путей различается эпителиальной выстилкой, предоставляя многочисленные различные микро-ниши для микробных сообществ. Средний и нижний носовые ходы и околоносовые (верхнечелюстные, решетчатые, клиновидные и лобные) пазухи выстланы псевдомногослойным (многорядным) цилиндрическим мерцательным эпителием. Носоглотка характеризуется множеством крипт и складок, а на ее стенке преобладают ороговевающий и неороговевающий многослойный плоский эпителий и псевдомногослойный (многорядный) реснитчатый (мерцательный) эпителий. Зевная поверхность небных миндалин покрыта многослойным плоским неороговевающим эпителием (до 6-10 рядов), располагающимся на тонкой базальной мембране. Слизистая оболочка гортани выстлана многорядным реснитчатым эпителием, только истинные голосовые связки покрыты неорого-

вевающим плоским многослойным эпителием. Исследованные нами хирургические образцы слизистой гортани получены преимущественно из области голосовых складок. Полученные нами данные свидетельствуют о двух функционально различных типах иммунного ответа слизистой оболочки ЛОР-органов. В анатомо-функциональных областях, выстланных мерцательным эпителием (средний и нижний носовые ходы, верхнечелюстные, решетчатые пазухи, среднее ухо) детектированы низкие частота и уровни экспрессии гена hBD-3, за исключением ткани полипов среднего носового хода и решетчатого лабиринта и слизистой барабанной полости при холестеатоме, что, возможно, связано с характером патологического процесса. В зонах, выстланных плоским эпителием или сочетанием плоского и реснитчатого эпителиев, экспрессия гена hBD-3 детектирована практически повсеместно. Возможно, строение слизистой оболочки различных ЛОР-органов, отличающееся от слизистой других отделов верхних дыхательных путей, создает сайт-специфические экологические ниши для микробных сообществ, индуцирующих или подавляющих экспрессию гена hBD-3. Представляется, что род *Streptococcus* выступает в ка-

честве более мощного индуктора экспрессии гена hBD-3, чем род *Staphylococcus*.

Сложные микробные сообщества присутствуют на всем протяжении верхних дыхательных путей. Бактериальная колонизация может частично поддерживать хроническое воспаление верхних дыхательных путей. hBD-3 оказывает сильное бактерицидное и бактериостатическое действие в отношении чрезвычайно широкого спектра патогенов, а иммунный ответ эпителиальных клеток ЛОР-органов включает секрецию hBD-3, который обладает антимикробным действием в отношении этих патогенов.

Экспрессия гена hBD-3 в контрольной ткани, по-видимому, связана с поддержанием резистентности к бактериальной инвазии и регулированием состава комменсальной микробиоты полости носа. В контексте хронического воспаления и связанных с инфекцией заболеваний ЛОР-органов, помимо прямой микробоцидной активности hBD-3 на первой линии защиты, возможно нарушение регуляции пептида и даже неблагоприятные патогенетические эффекты hBD-3: повышенная чувствительность к инфекциям, патологические изменения состава комменсалов, фиброзное ремоделирование.

## Список литературы / References

1. Бабаев С.Ю., Новожилов А.А., Абубакиров Т.Э., Митрофанова Н.Н., Козаренко Е.А., Шахов А.В. Микробиота барабанной полости у пациентов с хроническим гнойным средним отитом // Российская оториноларингология, 2019. Т. 18, № 3. С. 22-26. [Babaev S.Yu., Novozhilov A.A., Abubakirov T.E., Mitrofanova N.N., Kozarenko E.A., Shakhov A.V. Microbiota of the tympanic cavity in the patients with chronic suppurative otitis media. *Rossiiskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*, 2019, Vol. 18, no. 3, pp. 22-26. (In Russ.)]
2. Кокряков В.Н., Алешина Г.М., Шамова О.В., Орлов Д.С., Андреева Ю.В. Современная концепция об антимикробных пептидах как молекулярных факторах иммунитета // Медицинский академический журнал, 2010. Т. 10, № 4. С. 149-160. [Kokryakov V.N., Aleshina G.M., Shamova O.V., Orlov D.S., Andreeva Yu.V. Modern concept of antimicrobial peptides as molecular factors of the immunity. *Meditsinskiy akademicheskii zhurnal = Medical Academic Journal*, 2010, Vol. 10, no. 4, pp. 149-160. (In Russ.)]
3. Тырнова Е.В., Алешина Г.М., Янов Ю.К., Кокряков В.Н. Изучение экспрессии гена бета-дефенсин-3 человека в слизистой оболочке верхних дыхательных путей // Российская оториноларингология, 2015. № 2 (75). С. 77-84. [Tyrnova E.V., Aleshina G.M., Yanov Yu.K., Kokryakov V.N. Investigation of human beta-defensin-3 gene expression in the upper airway mucosa. *Rossiiskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*, 2015, no. 2 (75), pp. 77-84. (In Russ.)]
4. Albanesi C., Fairchild H.R., Madonna S., Scarponi C., de Pità O., Leung D.Y.M., Howell M.D. IL-4 and IL-13 negatively regulate TNF-alpha- and IFN-gamma-induced beta-defensin expression through STAT-6, suppressor of cytokine signaling (SOCS)-1, and SOCS-3. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 179, pp. 984-992.
5. Ball S.L., Siou G.P., Wilson J.A., Howard A., Hirst B.H., Hall J. Expression and immunolocalisation of antimicrobial peptides within human palatine tonsils. *J. Laryngol. Otol.*, 2007, Vol. 121, no. 10, pp. 973-978.
6. Chen X., Niyonsaba F., Ushio H., Hara M., Yokoi H., Matsumoto K., Saito H., Nagaoka I., Ikeda S., Okumura K., Ogawa H. Antimicrobial peptides human beta-defensin (hBD)-3 and hBD-4 activate mast cells and increase skin vascular permeability. *Eur. J. Immunol.*, 2007, Vol. 37, pp. 434-444.
7. Chong K.T., Xiang L., Wang X., Jun E.L., Xi L.F., Schweinfurth J.M. High level expression of human epithelial beta-defensins (hBD-1, 2 and 3) in papillomavirus induced lesions. *Viol. J.*, 2006, Vol. 3, 75. doi: 10.1186/1743-422X-3-75.
8. Claeys S., de Belder T., Holtappels G., Gevaert P., Verhasselt B., van Cauwenberge P., Bachert C. Human b-defensins and toll-like receptors in the upper airway. *Allergy*, 2003, Vol. 58, pp. 748-753. doi: 10.1034/j.1398-9995.2003.00180.x

9. Coleman A., Wood A., Bialasiewicz S., Ware R.S., Marsh R.L., Cervin A. The unsolved problem of otitis media in indigenous populations: a systematic review of upper respiratory and middle ear microbiology in indigenous children with otitis media. *Microbiome*, 2018, Vol. 6, no. 1, 199. doi: 10.1099/jmm.0.001368.
10. Doss M., White M.R., Tecle T., Hartshorn K.L. Human defensins and LL-37 in mucosal immunity. *J. Leuk. Biol.*, 2010, Vol. 87, pp. 79-92.
11. Feng Z., Dubyak G.R., Jia X., Lubkowski J.T., Weinberg A. Human β-defensin-3 structure motifs that are important in CXCR4 antagonism. *FEBS J.*, 2013, Vol. 280, no. 14, pp. 3365-3375.
12. Funderburg N.T., Jadlowsky J.K., Lederman M.M., Feng Z., Weinberg A., Sieg S.F. The toll-like receptor 1/2 agonists Pam(3) CSK(4) and human β-defensin-3 differentially induce interleukin-10 and nuclear factor-κB signalling patterns in human monocytes. *Immunology*, 2011, Vol. 134, no. 2, pp. 151-160.
13. Ghosh S.K., Feng Z., Fujioka H., Lux R., McCormick T.S., Weinberg A. Conceptual perspectives: bacterial antimicrobial peptide induction as a novel strategy for symbiosis with the human host. *Front. Microbiol.*, 2018, Vol. 9, 302. doi:10.3389/fmicb.2018.00302.
14. Gong H-L., Shi Y., Zhou L., Wu C-P., Cao P-Y., Tao L., Xu C., Hou D-S., Wang Y-Z. The composition of microbiome in larynx and the throat biodiversity between laryngeal squamous cell carcinoma patients and control population. *PLoS One*, 2013, Vol. 8, no. 6, e66476. doi: 10.1371/journal.pone.0066476.
15. Haarmann H., Steiner T., Schreiber F., Heinrich A., Zweigler J., N'Guessan P.D., Slevogt H. The role and regulation of *Moraxella catarrhalis*-induced human beta-defensin 3 expression in human pulmonary epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015, Vol. 467, no. 1, pp. 46-52.
16. Harder J., Bartels J., Christophers E., Schröder J.M. Isolation and characterization of human beta-defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J. Biol. Chem.*, 2001, Vol. 276, no. 8, pp. 5707-5713.
17. Hazrati E., Galen B., Lu W., Wang W., Ouyang Y., Keller M.J., Lehrer R.I., Herold B.C. Human alpha- and beta-defensins block multiple steps in herpes simplex virus infection. *J. Immunol.*, 2006, Vol. 177, no. 12, pp. 8658-8666.
18. Hong P., Liu C.M., Nordstrom L., Lalwani A.K. The role of the human microbiome in otolaryngology-head and neck surgery: a contemporary review. *Laryngoscope*, 2014, Vol. 124, no. 6, pp. 1352-1357.
19. Jetté M.E., Dill-McFarland K.A., Hanshew A.S., Suen G., Thibeault S.L. The human laryngeal microbiome: effects of cigarette smoke and reflux. *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, 35882. doi: 10.1038/srep35882.
20. Jones E.A., McGillivray G., Bakaletz L.O. Extracellular DNA within a nontypeable *Haemophilus influenzae*-induced biofilm binds human beta defensin-3 and reduces its antimicrobial activity. *J. Innate Immun.*, 2013, Vol. 5, no. 1, pp. 24-38.
21. Kamekura R., Imai R., Takano K., Yamashita K., Jitsukawa S., Nagaya T., Ito F., Hirao M., Tsubota H., Himi T. Expression and localization of human defensins in palatine tonsils. *Adv. Otorhinolaryngol.*, 2016, Vol. 77, pp. 112-118.
22. Kumpitsch C., Koskinen K., Schöpf V., Moissl-Eichinger C. The microbiome of the upper respiratory tract in health and disease. *BMC Biol.*, 2019, Vol. 17, no. 1, 87. doi: 10.1186/s12915-019-0703-z.
23. Lee J.T., Kim C.M., Ramakrishnan V. Microbiome and disease in the upper airway. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2019, Vol. 19, no. 1, pp. 1-6.
24. McGillivray G., Mason K.M., Jursisek J.A., Peeples M.E., Bakaletz L.O. Respiratory syncytial virus-induced dysregulation of expression of a mucosal beta-defensin augments colonization of the upper airway by non-typeable *Haemophilus influenzae*. *Cell Microbiol.*, 2009, Vol. 11, no. 9, pp. 1399-1408.
25. Mehraj J., Witte W., Akmatov M.K., Layer F., Werner G., Krause G. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage patterns in the community. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2016, Vol. 398, pp. 55-87.
26. Mittal R., Kodiyan J., Gerring R., Mathee K., Li J.D., Grati M., Liu X.Z. Role of innate immunity in the pathogenesis of otitis media. *Int. J. Infect. Dis.*, 2014, Vol. 29, pp. 259-267.
27. Nurjadi D., Herrmann E., Hinderberger I., Zanger P. Impaired beta-defensin expression in human skin links DEFB1 promoter polymorphisms with persistent *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *J. Infect. Dis.*, 2013, Vol. 207, no. 4, pp. 666-674.
28. Ostaff M.J., Stange E.F., Wehkamp J. Chapter 5 Antimicrobial Peptides in the Gut. Antimicrobial peptides: role in human health and disease, Birkhäuser advances in infectious diseases. Ed. Harder J., Schröder J.-M., Springer International Publishing Switzerland, 2016, pp. 67-88.
29. Röhrl J., Yang D., Oppenheim J.J., Hehlhans T. Human beta-defensin 2 and 3 and their mouse orthologs induce chemotaxis through interaction with CCR2. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 184, pp. 6688-6694.
30. Sass V., Schneider T., Wilmes M., Körner C., Tossi A., Novikova N., Shamova O., Sahl H.G. Human beta-defensin 3 inhibits cell wall biosynthesis in *Staphylococci*. *Infect. Immun.*, 2010, Vol. 78, no. 6, pp. 2793-800.
31. Scharf S., Zahlten J., Szymanski K., Hippenstiel S., Suttorp N., N'Guessan P.D. Streptococcus pneumoniae induces human β-defensin-2 and -3 in human lung epithelium. *Exp. Lung Res.*, 2012, Vol. 38, no. 2, pp. 100-110.
32. Schibli D.J., Hunter H.N., Aseyev V., Starner T.D., Wiencek J.M., McCray P.B. Jr., Tack B.F., Vogel H.J. The solution structures of the human beta-defensins lead to a better understanding of the potent bactericidal activity of HBD3 against *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.*, 2002, Vol. 277, no. 10, pp. 8279-8289.
33. Schleimer R.P. Immunopathogenesis of chronic rhinosinusitis and nasal polyposis. *Annu. Rev. Pathol.*, 2017, Vol. 12, pp. 331-357.

34. Schneider J.J., Unholzer A., Schaller M., Schäfer-Korting M., Korting H.C. Human defensins. *J. Mol. Med. (Berl)*, 2005, Vol. 83, no. 8, pp. 587-595.
35. Seiler F., Bals R., Beisswenger C. Chapter 3 Function of antimicrobial peptides in lung innate immunity. Antimicrobial peptides: role in human health and disease, Birkhäuser advances in infectious diseases. Ed. Harder J., Schröder J.-M., Springer International Publishing Switzerland, 2016, pp. 33-52.
36. Seiler F., Hellberg J., Lepper P.M., Kamyschnikov A., Herr C., Bischoff M., Langer F., Schäfers H.-J., Lammert F., Menger M.D., Bals R., Beisswenger C. FOXO transcription factors regulate innate immune mechanisms in respiratory epithelial cells. *J. Immunol.* 2013, Vol. 190, pp. 1603-1613.
37. Semple F., Dorin J.R. Beta-defensins: multifunctional modulators of infection, inflammation and more? *J. Innate Immun.*, 2012, Vol. 4, no. 4, pp. 337-348.
38. Sørensen O.E. Chapter 1 Antimicrobial Peptides in Cutaneous Wound Healing. Antimicrobial peptides: role in human health and disease, Birkhäuser advances in infectious diseases. Ed. Harder J., Schröder J.-M., Springer International Publishing Switzerland, 2016, pp. 1-15.
39. Starner T.D., Swords W.E., Apicella M.A., McCray P.B. Jr. Susceptibility of nontypeable *Haemophilus influenzae* to human beta-defensins is influenced by lipooligosaccharide acylation. *Infect. Immun.*, 2002, Vol. 70, no. 9, pp. 5287-5289.
40. Weinberg A., Quiñones-Mateu M.E., Lederman M.M. Role of human beta-defensins in HIV infection. *Adv. Dent. Res.*, 2006, Vol. 19, no. 1, pp. 42-48.
41. Zanger P., Holzer J., Schleucher R., Scherbaum H., Schittek B., Gabrysch S. Severity of *Staphylococcus aureus* infection of the skin is associated with inducibility of human beta-defensin 3 but not human beta-defensin 2. *Infect. Immun.*, 2010, Vol. 78, no. 7, pp. 3112-3117.
42. Zanger P., Nurjadi D., Vath B., Kreamsner P.G. Persistent nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is associated with deficient induction of human beta-defensin 3 after sterile wounding of healthy skin in vivo. *Infect. Immun.*, 2011, Vol. 79, no. 7, pp. 2658-2662.
43. Zautner A.E. Adenotonsillar disease. *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug Discov.*, 2012, Vol. 6, no. 2, pp. 121-129.

---

**Авторы:**

**Тырнова Е.В.** – к.м.н., старший научный сотрудник лабораторно-диагностического отдела ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

**Алешина Г.М.** – д.б.н., доцент, заведующая лабораторией, отдел общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Янов Ю.К.** – д.м.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт уха, горла, носа и речи» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

---

**Authors:**

**Tyrnova E.V.**, PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Department of Laboratory Diagnostics, Research Institute of Ear, Nose, Throat and Speech, St. Petersburg, Russian Federation

**Aleshina G.M.**, PhD, MD (Biology), Associate Professor, Head of the Laboratory, Department of General Pathology and Pathological Physiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Yanov Yu.K.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Main Research Associate, Research Institute of Ear, Nose, Throat and Speech, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 09.07.2021

Отправлена на доработку 07.11.2021

Принята к печати 20.11.2021

---

Received 09.07.2021

Revision received 07.11.2021

Accepted 20.11.2021