

**НЕЛИНЕЙНЫЕ ГЛАВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ЦИТОКИНОВОГО  
ПРОФИЛЯ У ДЕТЕЙ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ**

Изюрова Н. В.<sup>1</sup>,  
Нохрин Д. Ю.<sup>2</sup>,  
Савочкина А. Ю.<sup>1</sup>,  
Узунова А. Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Челябинск, ул. Воровского, 64

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»,  
Минобрнауки РФ, Челябинск, ул. Братьев Кашириных, 129

**NONLINEAR MAIN COMPONENTS OF THE CYTOKINE PROFILE IN  
CHILDREN WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA**

Iziurova N. V.<sup>a</sup>,  
Nokhrin D. Yu.<sup>b</sup>,  
Savochkina A. Yu.<sup>b</sup>,  
Uzunova A. N.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "South Ural  
Medical State University" of the Ministry of Health of the Russian Federation,  
Chelyabinsk, Vorovsky str., 64a

<sup>b</sup> Federal State Budget Educational Institution of Higher Education « Chelyabinsk  
State University" Ministry of Education and Science of the Russian Federation,  
Chelyabinsk, Brothers Kashirin str., 129

## Резюме

Цитокины являются важнейшими медиаторами, которые контролируют и регулируют иммунные и воспалительные реакции через сложные сети и служат биомаркерами многих заболеваний. Количественное определение цитокинов помогает в определении иммунного статуса пациента и корректировке терапии при различных воспалительных заболеваниях, таких как сепсис, пневмония. Поскольку внебольничная пневмония остается распространенной причиной детской заболеваемости и смертности, прогноз тяжести заболевания у детей является актуальной проблемой на современном этапе. Целью исследования было выявление ассоциаций между цитокинами у здоровых детей и у детей с ВП в зависимости от возраста пациентов и тяжести патологического процесса. Работа проведена на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии, кафедре пропедевтики детских болезней и педиатрии и в НИИ иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральского государственного медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации. В исследование вошли 117 детей в возрасте от 1 года до 18 лет с рентгенологически подтвержденным диагнозом внебольничной пневмонии тяжелой и нетяжелой. Группа сравнения сформирована из 28 здоровых детей, не имеющих на момент обследования внебольничной пневмонии, а также других признаков острой респираторной вирусной инфекции и не состоящих на диспансерном наблюдении по поводу какой-либо хронической патологии. Были определены уровни IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-4, IL-10, IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), IL-8, MCP-1, IL-17AF, GM-CSF в сыворотке крови с помощью тест-систем, основанных на «сэндвич»-методе твердофазного ИФА с применением пероксидазы в качестве индикаторного фермента. Для статистического анализа использовали многомерный метод – нелинейный анализ главных компонент по алгоритму CATPCA. Проведённое исследование позволило обнаружить согласованное увеличение в сыворотке крови у детей с ВП IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), IL-8, MCP-1, IL-17AF, GM-CSF, причем наибольшую корреляцию с тяжестью показали IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B) и MCP-1, которые могут рассматриваться дополнительными биомаркерами тяжести внебольничной пневмонии. Также была обнаружена существенная вариабельность цитокинового профиля у здоровых детей и её существенное сужение при пневмониях, особенно тяжелой.

**Ключевые слова:** внебольничная пневмония, дети, цитокиновый профиль, тяжелая ВП, метод CATPCA, биомаркеры пневмонии.

**Abstract.**

Cytokines are the most important mediators that control and regulate immune and inflammatory responses through complex networks and serve as biomarkers of many diseases. Quantitative determination of cytokines helps in determining the patient's immune status and adjusting therapy for various inflammatory diseases, such as sepsis, pneumonia. Since community-acquired pneumonia remains a common cause of childhood morbidity and mortality, the prognosis of the severity of the disease in children is an urgent problem at the present stage. The aim of the study was to identify associations between cytokines in healthy children and in children with VP, depending on the age of patients and the severity of the pathological process. The work was carried out at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, the Department of Propaedeutics of Childhood Diseases and Pediatrics and at the Research Institute of Immunology of the South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. The study included 117 children aged 1 to 18 years with a radiologically confirmed diagnosis of community-acquired pneumonia, severe and mild. The comparison group was formed from 28 healthy children who did not have community-acquired pneumonia at the time of examination, as well as other signs of acute respiratory viral infection and were not under dispensary observation for any chronic pathology. The levels of IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-4, IL-10, IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), IL-8, MCP-1, IL-17AF were determined, GM-CSF in blood serum using test systems based on the "sandwich" method of solid-phase ELISA using peroxidase as an indicator enzyme. For statistical analysis, a multidimensional method was used – nonlinear analysis of the principal components using the CATPCA algorithm. The study revealed a consistent increase in blood serum in children with IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), IL-8, MCP-1, IL-17AF, GM-CSF, and the greatest correlation with severity was shown by IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B) and MCP-1, which can be considered additional biomarkers of the severity of community-acquired pneumonia. There was also a significant variability of the cytokine profile in healthy children and its significant narrowing in pneumonia, especially severe.

**Key words:** community-acquired pneumonia, children, cytokine profile, severe CAP, CATPCA method, biomarkers of pneumonia.

1 **Введение.**

2 Растущие знания о реакции цитокиновой сети привели к лучшему  
3 пониманию механизмов при различных патологических состояниях и  
4 разработке новых методов лечения с использованием биологических  
5 препаратов, способных блокировать специфические молекулы иммунного  
6 ответа. Поскольку иммунная система и ее реакция меняют свои свойства в  
7 связи с развитием и в зависимости от периода детства, следует учитывать  
8 различия в возрасте пациентов, как с физиологической точки зрения, так и при  
9 различных заболеваниях [11, 20].

10 Воспалительная реакция при различных патологических состояниях  
11 обусловлена сложной сетью медиаторов и сигнальных путей. Среди  
12 медиаторов воспаления важную роль играют цитокины, регулирующие  
13 воспалительную реакцию, включая интерлейкины, которые отвечают за связь  
14 между лейкоцитами, хемокины, которые способствуют хемотаксису, и  
15 интерфероны, которые оказывают противовирусное действие. Более того, эти  
16 молекулы участвуют в становлении как врожденного, так и адаптивного  
17 иммунитета, играя значительную физиологическую роль в онтогенезе  
18 лимфоидной ткани, органогенезе, васкулогенезе и восстановлении тканей.  
19 Когда экспрессия этих молекул длительно изменяется, может возникать  
20 различная патология [11, 20]. Следует отметить, что возникновение патологии  
21 у детей и взрослых часто имеет схожие клинические проявления, но в  
22 отношении физиологических параметров существуют специфические для  
23 детей проблемы, которые необходимо учитывать в случае определенного  
24 заболевания, чтобы обеспечить раннюю диагностику и соответствующее  
25 медицинское лечение [1, 11].

26 Несмотря на успехи, достигнутые в диагностике и лечении органов  
27 дыхания, заболеваемость пневмонией у детей и подростков остается высокой,  
28 особенно в возрасте до 5 лет. Незрелая иммунная система предрасполагает  
29 выраженную восприимчивость к инфекциям у детей раннего возраста [3, 9,  
30 12]. Иммунопатология внебольничной пневмонии (ВП) характеризуется  
31 воспалительной реакцией в нижних дыхательных путях, которая регулируется  
32 цитокинами, первоначально высвобождаемыми в дыхательных путях, с  
33 последующим усилением иммунного ответа в кровотоке [26]. В последние  
34 годы в ряде исследований была выявлена значимость различных цитокинов в  
35 патогенезе ВП. В частности, определена роль IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-17, GM-CSF, IFN-  
36  $\lambda$ , MCP-1 как факторов, отражающих тяжесть пневмонии [9, 19, 23, 26]. В  
37 ранее проведенном нами исследовании по изучению врожденного иммунитета  
38 было выявлено значительное повышение уровня IL-6, IL17A/F, MCP-1, IFN- $\lambda$ 2  
39 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), GM-CSF в сыворотке крови у детей с тяжелой  
40 формой внебольничной пневмонии. Кроме того, изменялся уровень IL-6, IFN-  
41  $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), GM-CSF в зависимости от возраста пациентов  
42 [2].

43 Более глубокое понимание взаимосвязи иммунных реакций при  
44 внебольничной пневмонии может способствовать улучшению оценки тяжести

45 заболевания, эффективности диагностики и, в конечном счете,  
46 благоприятному клиническому исходу у пациентов с ВП. Учитывая, что  
47 цитокины оказывают совместное действие, может быть недостаточно оценить  
48 только несколько из этих медиаторов для оценки тяжести воспаления [23].

49 **Целью исследования** было выявление ассоциаций между цитокинами у  
50 здоровых детей и у детей с ВП в зависимости от возраста пациентов и тяжести  
51 патологического процесса.

52 **Материалы и методы.**

53 Работа проведена на кафедре микробиологии, вирусологии и  
54 иммунологии, кафедре пропедевтики детских болезней и педиатрии и в НИИ  
55 иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральского государственного  
56 медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской  
57 Федерации. В исследование вошли 117 детей в возрасте от 1 года до 18 лет с  
58 рентгенологически подтвержденным диагнозом внебольничной пневмонии  
59 тяжелой и нетяжелой, госпитализированные в отделения респираторных  
60 инфекций МБУЗ ДГКБ №7 и МАУЗ ДГКБ №8 в г. Челябинска. Для оценки  
61 тяжести пациентов с ВП использованы критерии степени тяжести у детей с  
62 внебольничной пневмонией, представленные в клинических рекомендациях  
63 2022 года [3]. Группа сравнения сформирована из 28 здоровых детей, не  
64 имеющих на момент обследования внебольничной пневмонии, а также других  
65 признаков острой респираторной вирусной инфекции и не состоящих на  
66 диспансерном наблюдении по поводу какой-либо хронической патологии. Все  
67 дети были сопоставимы по полу и возрасту.

68 Для определения уровня IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-4, IL-2, IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-  
69 8, MCP-1 использованы тест-системы АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), IL-  
70 17AF, GM-CSF применялась система ELISA Kit Bender MedSystems (GmbH  
71 Campus Vienna Biocenter 2, Wien, Austria). Для определения уровня IFN- $\lambda$ 2 (IL-  
72 28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B) использована тест система OmniKine™ ELISA Kit  
73 (Assay Biotechnology Company, Inc. Fremont, United States of America).  
74 Исследование проводилось по методикам, приложенным к тест-системам. Эти  
75 тест-системы основаны на «сэндвич»-методе твердофазного ИФА с  
76 применением пероксидазы в качестве индикаторного фермента. Учет  
77 результатов проводили на ИФА анализаторе. Результаты выражались в пг/мл.

78 В ходе статистического анализа полученных данных использовали  
79 многомерный метод – нелинейный анализ главных компонент по алгоритму  
80 САТРСА [14]. Наряду с 13 иммунологическими показателями в него также  
81 были включены возраст, пол пациентов, а здоровые дети, дети с тяжелой и  
82 нетяжелой ВП были промаркированы соответствующей меткой (1–3), которая  
83 была включена в анализ в качестве дополнительной переменной: она  
84 отслеживалась в ходе ординации, однако не влияла на результаты. Пол и метки  
85 групповой принадлежности обрабатывались как номинальные категории  
86 (nominal), а все количественные показатели – как сглаженные сплайном  
87 порядковые переменные (spline ordinal) с последующим ранжированием в  
88 качестве способа дискретизации данных. Для минимизации потерь

89 объяснённой дисперсии количество внутренних узлов для сплайнов  
90 устанавливали в максимально возможное число, которое зависело от числа  
91 уникальных значений для переменной и определялось программой  
92 автоматически; в нашем случае оно варьировало от 26 для GM-CSF до 139 для  
93 возраста. При выборе числа главных компонент, необходимых и достаточных  
94 для редукции данных с обобщением, руководствовались критериями Кэттелла  
95 и Кайзера. Расчёты выполнены в пакете IBM® SPSS® Statistics (v. 23),  
96 графические построения – в пакетах PAST (version 4.11 [7]).

### 97 **Результаты.**

98 **Нелинейный анализ главных компонент.** Классический анализ  
99 главных компонент (Principal component analysis, PCA) основан на корреляции  
100 Пирсона и требует многомерного нормального распределения показателей, а  
101 также линейности их связей друг с другом. В то же время известно, что  
102 иммунологические показатели имеют обычно асимметричные распределения  
103 и распределены скорее логарифмически нормально [16, 22]. Также связи  
104 между биологическими показателями редко бывают линейными. Поэтому  
105 нами был использован нелинейный вариант PCA, называемый также  
106 оптимальным шкалированием, который был проведён по алгоритму CATPCA  
107 – Categorical Principal Component Analysis [14]. Поскольку этот вариант  
108 анализа не является распространённым в медицине, опишем его подробнее.

109 Алгоритм CATPCA позволяет задействовать в анализе одновременно  
110 качественные (номинальные, порядковые) и количественные показатели и  
111 состоит из нескольких этапов. На первом этапе задаются способы обработки  
112 исходных данных, которые включают возможность их сглаживания  
113 сплайнами, а также выбор способа дискретизации: умножение, ранжирование  
114 или группировка. На втором этапе проводится многомерное преобразование  
115 данных по Джифи, которое оцифровывает качественные номинальные и  
116 порядковые показатели, а также преобразует количественные показатели  
117 таким образом, чтобы связи между всеми показателями в наборе стали  
118 максимально взаимно линейными [6, 17]. В результате присутствующие в  
119 данных нелинейности связей, во-первых, не уходят в ошибку анализа, а во-  
120 вторых, появляется дополнительная возможность их изучения путём  
121 сопоставления исходных и оцифрованных значений. На третьем этапе на  
122 подготовленных таким образом данных проводится обычный PCA, результаты  
123 которого либо интерпретируют сразу, либо чаще используют только для  
124 выбора числа главных компонент, необходимых и достаточных для  
125 объяснения большей части дисперсии набора признаков. В последнем случае  
126 проводится ещё один – окончательный – анализ с сохранением настроек  
127 предыдущего, но с заданием выбранного числа главных компонент (как в  
128 эксплораторном факторном анализе). В ходе него часть дисперсии остаточных  
129 компонент переносится на несколько выбранных первых, что увеличивает  
130 долю объяснённой дисперсии в анализируемом наборе данных. В результате  
131 сочетания описанных настроек метода возможно получение результатов,  
132 аналогичных классическому анализу главных компонент (используются

133 исходные количественные данные с умножением в качестве способа  
134 дискретизации), анализу соответствий (используются исходные качественные  
135 данные с группировкой в качестве способа дискретизации), а также различных  
136 промежуточных вариантов. Использованные нами настройки метода,  
137 описанные в методическом разделе, позволяют отнести проведённый PCA к  
138 непараметрической основанной на рангах порядковой технике.

139

140 **Рис. 1. Выделение латентных переменных на графике «каменистой**  
141 **осыпи» Кэттелла. Пунктир – критерий Кайзера**

142 **Fig. 1. Finding of latent variables on Cattell's scree plot. Dotted line is Kaiser**  
143 **criterion**

144

145 Как видно из рис. 1, согласно критерию Кэттелла имело смысл выделять  
146 1 или 4 главные компоненты (ГК), а согласно критерию Кайзера – 6. Однако 5  
147 и 6 ГК имели собственные числа, близкие к 1, т.е. несли количество  
148 информации на уровне 1 признака, и, следовательно, обладали слабыми  
149 обобщающими свойствами. Поэтому на этапе 3 было выбрано решение из 4  
150 ГК, объясняющих в сумме 49,3% общей дисперсии данных, которое на  
151 последнем этапе усилилось до 63,5%. Его основные результаты представлены  
152 в табл. 1 и на рис. 2.

153 **Таблица 1**

154 Нагрузки показателей на нелинейные главные компоненты в анализе групп  
155 здоровых детей и детей с внебольничной пневмонией

156 Loadings of variables on nonlinear principal components in the healthy children and  
157 children with community-acquired pneumonia groups

158

159 Первая главная компонента объясняла 28,2% общей изменчивости  
160 (количественно – дисперсии) в наборе данных. В неё с высокими нагрузками  
161 вошли все цитокины за исключением IL-6 и IFN- $\gamma$ , а с максимальными – IL-  
162 28A, IL-28B и MCP-1. Также ГК 1 сильно положительно коррелировала с  
163 меткой тяжести ВП, а нагрузки для возраста и пола были близки к нулю.

164 На рис. 2 представлена разновидность ординационной диаграммы –  
165 сдвоенный график (биplot), на котором в пространстве двух первых ГК  
166 одновременно приведены как векторы признаков, так и метки детей трёх  
167 групп. Из него видно, что метки здоровых детей расположились  
168 преимущественно в левой отрицательной части графика вдоль оси ГК 1, а  
169 группы детей с ВП – в правой положительной, в которую направлены векторы  
170 всех кроме IL-6 и IFN- $\gamma$  цитокинов. Таким образом ГК 1 следует  
171 интерпретировать как независимое от возраста и пола увеличение  
172 концентрации большинства цитокинов в сыворотке крови детей с ВП,  
173 особенно тяжёлой.

174

175 **Рис. 2. Здоровые дети и дети с внебольничной пневмонией (ВП) в**  
176 **пространстве двух первых нелинейных главных компонент**

177 **Fig. 2. Healthy children and children with community-acquired pneumonia**  
178 **(CAP) in the space of the first two nonlinear principal components**

179

180 Вторая ГК объясняла 16,1% общей дисперсии. С максимальными  
181 положительными нагрузками в неё вошли IL-6 и IFN- $\gamma$ , менее выраженно – IL-  
182 2 и IL-10, т.е. как провоспалительные, так и противовоспалительные  
183 цитокины. Для понимания процессов, описываемых ГК 2 необходимо  
184 подробнее рассмотреть группы.

185 Из рис. 2 видно, что группа здоровых детей характеризовалась очень  
186 высокой изменчивостью, которую отражают размеры выпуклого  
187 многоугольника, описанного около факторных меток крайних вариантов на  
188 графике. В действительности она даже больше, чем на рисунке, поскольку в  
189 целях повышения читаемости графика на обеих его осях были установлены  
190 разрывы. Без последних площади выпуклых многоугольников, описанных  
191 около групповых меток детей здоровых, с нетяжёлой ВП и тяжёлой ВП,  
192 относились соответственно как 3,7 : 3,1 : 1. Это означает, что вариабельность  
193 иммунологических показателей в группе здоровых детей, была более чем в 3  
194 раза выше, чем у детей с ВП, а сама эта группа была неоднородна и в  
195 пространстве двух первых ГК представляла собой 4 кластера (пронумерованы  
196 курсивом). Рассмотрим их более подробно.

197 Кластер 1 состоял из 6 детей в возрасте 4-5 лет (в результате близости  
198 факторных меток они видны на рис. 2 как два наблюдения); он находился в  
199 максимально отрицательной зоне вдоль ГК 1. Соответственно эти дети имели  
200 минимальные концентрации практически всех цитокинов и особенно тех,  
201 проекции векторов которых расположены в максимально положительной зоне  
202 и свойственны детям с ВП (IL-28A, MCP-1 и IL-28A). Кластер 2 состоял из 4-  
203 х детей 6-7 лет, которые имели более высокие уровни цитокинов, но особенно  
204 тех, проекции векторов которых находились в максимально положительной  
205 зоне вдоль ГК 2 (IFN- $\gamma$  и IL-6). Кластер 4 был представлен 7-ю детьми 9-15 лет  
206 с наиболее высокими концентрациями всех цитокинов, за исключением IFN- $\gamma$   
207 и IL-6, которые обнаруживались в следовых количествах (соответственно  
208 около 1 и 0,1 пг/мл). Кластер 3 здоровых детей состоял из 11 человек 1-3 лет и  
209 16-17 лет, которые имели промежуточные значения как вдоль ГК 1, так и ГК 2.

210 Третья ГК объясняла 10,8% изменчивости и отражала возрастные  
211 изменения ряда цитокинов. С положительными нагрузками в неё вошли GM-  
212 CSF и IL-1 $\beta$ , с отрицательными – IL-8, IL-17A/F, IFN- $\gamma$ . ГК 4 характеризовала  
213 взаимодействие между возрастом и полом детей и объясняла лишь 8,5% общей  
214 изменчивости. С положительной нагрузкой пол и возраст был связан с IFN- $\gamma$  и  
215 IL-6, отрицательно – IL-2 и IL-10.

216 **Обсуждение.**

217 По данным проведенного исследования уровни в сыворотке крови IL-1 $\beta$ ,  
218 IL-4, IL-10, IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), IL-8, MCP-1, IL-  
219 17AF, GM-CSF достоверно коррелировали с тяжестью внебольничной  
220 пневмонией. Эти данные согласуются с некоторыми исследованиями,

221 проведенными при ВП как у детей, так и у взрослых, поскольку цитокины  
222 являются важными растворимыми медиаторами врожденного и  
223 приобретенного иммунного ответа. Дифференцировка клеток, хемотаксис,  
224 активаторы или регуляторы воспалительных и противовоспалительных  
225 процессов являются одними из некоторых основных функций цитокинов в  
226 ответ на патоген [2, 9, 19, 21, 23, 26]. На ранних стадиях внебольничной  
227 пневмонии выработка цитокинов и других медиаторов воспаления  
228 регулируется посредством сложной сети взаимодействий между  
229 врожденными иммунными клетками, “неиммунными” клетками (например,  
230 эпителиальными клетками, эндотелиальными клетками и фибробластами) и  
231 вторгающимися возбудителями [23].

232 Наиболее выраженную корреляцию с тяжестью ВП имели IFN- $\lambda$ 2 (IL-  
233 28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B) и MCP-1, которые имели более высокие показатели в  
234 сыворотке крови по сравнению с другими цитокинами.

235 Интерфероны III типа вырабатываются эпителиальными клетками  
236 дыхательных путей и имеют важное значение в их защите, обеспечивая  
237 противовирусный ответ, а также путем регуляции самого эпителия, контроля  
238 и поддержания адаптивных иммунных реакций и целостности эпителиального  
239 барьера. Важная растущая концепция в области интерферонов III типа  
240 заключается в том, что этот цитокин не только имеет решающее значение для  
241 контроля, очистки и предотвращения патогенной инфекции на уровне  
242 эпителия, но также играет роль в обеспечении долгосрочного иммунитета  
243 путем стимулирования адаптивного иммунитета [25]. Учитывая тот факт, что  
244 пневмония является инфекционным заболеванием, этиология которого у детей  
245 является вирусно-бактериальной, доказанная роль IFN- $\lambda$  при SARS-CoV-2  
246 имеет значение и при пневмонии. В исследовании, проведенном у пациентов  
247 с COVID-19, было показано, что высокая вирусная нагрузка SARS-CoV-2  
248 индуцирует эффективную выработку IFN-III не только в верхних дыхательных  
249 путях у более молодых пациентов или пациентов с легкой степенью тяжести,  
250 но и то, что тяжелые пациенты характеризуются самыми высокими уровнями  
251 IFN- $\lambda$  в нижних дыхательных путях [24]. В экспериментальном исследовании  
252 2022 года Zhenlu Chong и др. при назальном введении IFN- $\lambda$  мышам,  
253 зараженных вирусом SARS-CoV-2, ограничивалось поражение верхних и  
254 нижних дыхательных путей, не вызывая чрезмерного воспаления.  
255 Примечательно, что эквивалентные дозы IFN- $\lambda$ 2, доставляемые назальным, но  
256 не системным путем, ограничивали инфекцию SARS-CoV-2 [5]. В  
257 сравнительном исследовании 2023 года у детей и взрослых, зараженных  
258 вирусом SARS-CoV-2, уровни IFN- $\lambda$ 2/3 в сыворотке крови были значительно  
259 выше в группе детей с нетяжелым течением, чем в группах взрослых с  
260 нетяжелым и тяжелым течением, что, возможно, отражает особенности  
261 выработки IFN- $\lambda$  у детей в отличие от взрослых [10].

262 MCP-1, показавший в нашем анализе корреляцию с тяжестью ВП у  
263 детей, относится к семейству хемокинов и может продуцироваться  
264 различными клетками, включая моноциты, макрофаги, лимфоциты и

265 эпителиальные клетки дыхательных путей, однако моноциты / макрофаги  
266 являются его основным источником. Во время воспалительного процесса  
267 моноциты / макрофаги фагоцитируют и удаляют патогенные микроорганизмы  
268 из пораженной ткани. Таким образом, MCP-1 играет важную роль в рутинном  
269 иммунном надзоре и модуляции, а также в устранении острой бактериальной  
270 нагрузки [13, 18]. У взрослых пациентов с COVID-19 было выявлено, что  
271 уровень MCP-1 в сыворотке крови был значительно выше, чем у пациентов без  
272 инфекции и гораздо выше у пациентов отделения интенсивной терапии, что  
273 может рассматриваться независимым предиктором тяжести заболевания [4,  
274 15]. В исследовании Yia-Ting Li и др. 2019 года у взрослых пациентов с  
275 пневмонией MCP-1 в плазме крови был значительно повышен на острой  
276 стадии, при этом концентрация MCP-1 в плазме крови положительно  
277 коррелировала с показателями легочной и органной дисфункции и  
278 концентрация MCP-1 в плазме была биомаркером полиорганной  
279 недостаточности и потенциально могла предсказать неблагоприятный исход у  
280 пациентов с пневмонией [13]. В 2016 году в исследовании Yong КК и др. была  
281 также подтверждена корреляция уровня MCP-1 в плазме крови с тяжестью  
282 внебольничной пневмонии у взрослых [27], что подтверждается и  
283 проведенным нами исследованием у детей.

284 Таким образом, IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B) и MCP-1 могут  
285 рассматриваться независимыми биомаркерами тяжести внебольничной  
286 пневмонии.

287 При анализе уровня цитокинов в зависимости от возраста детей была  
288 отмечена тенденция к повышению в сыворотке крови GM-CSF, IL-1 $\beta$  с  
289 возрастом, тогда как уровни IL-8, IL-17A/F, IFN- $\gamma$  снижались, что, возможно,  
290 связано с возрастными периодами развития иммунной системы [11].

291 Анализ уровня цитокинов в сыворотке крови у здоровых детей показал  
292 высокую вариабельность в различные возрастные периоды, что согласуется с  
293 некоторыми исследованиями, при которых определялись уровни цитокинов в  
294 сыворотке крови у здоровых детей [11]. Так, в нашем исследовании в  
295 возрастной группе 9-15 лет все цитокины, кроме IFN- $\gamma$  и IL-6, были  
296 значительно повышены, что вероятно, вызвано физиологическими  
297 изменениями, происходящими в подростковом возрасте. Напротив, дети в  
298 возрасте 4-5 лет имели минимальные концентрации исследованных  
299 цитокинов, что, возможно, связано с изменениями в иммунной системе в  
300 данной возрастной группе [1, 8, 11].

### 301 **Выводы:**

302 Таким образом, проведенный анализ позволил обнаружить  
303 согласованное увеличение в сыворотке крови у детей с ВП IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10,  
304 IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), IL-8, MCP-1, IL-17AF, GM-CSF,  
305 причем наибольшую корреляцию с тяжестью показали IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN-  
306  $\lambda$ 3 (IL-28B) и MCP-1, которые могут рассматриваться дополнительными  
307 биомаркерами тяжести внебольничной пневмонии. Также была обнаружена

308 существенная вариабельность цитокинового профиля у здоровых детей и её  
309 существенное сужение при пневмониях, особенно тяжелой.

310 *Конфликт интересов:*

311 *Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и*  
312 *финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.*

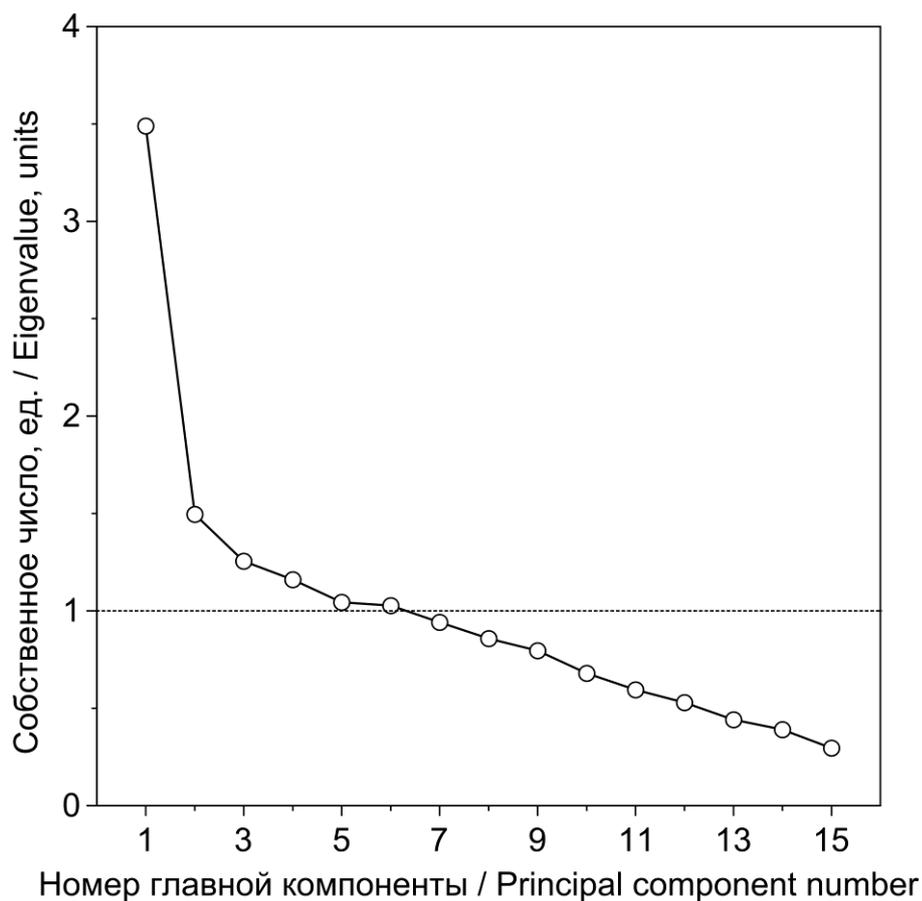
313 *Conflict of interest:*

314 *The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial*  
315 *support, which should be reported.*

## РИСУНКИ

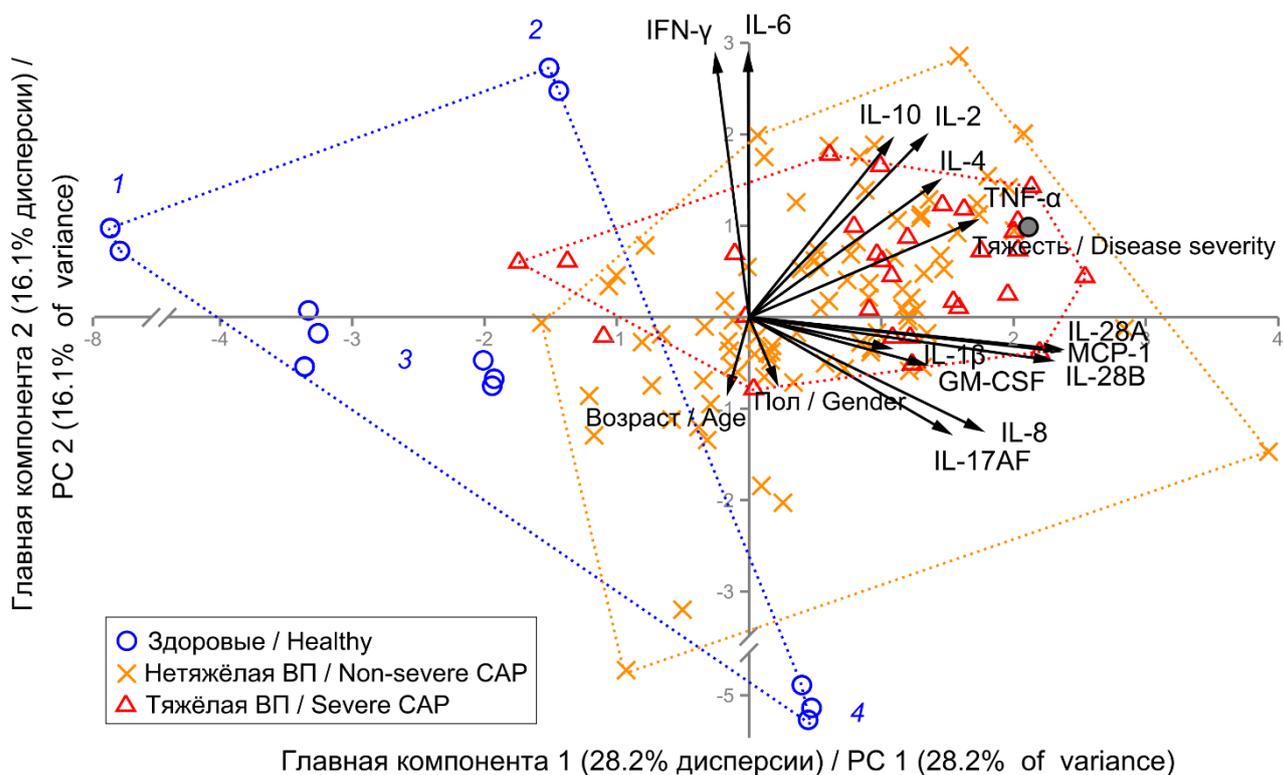
Рис. 1. Выделение латентных переменных на графике «каменистой осыпи» Кэттелла. Пунктир – критерий Кайзера

Fig. 1. Finding of latent variables on Cattell's scree plot. Dotted line – Kaiser criterion



**Рис. 2. Здоровые дети и дети с внебольничной пневмонией (ВП) в пространстве двух первых нелинейных главных компонент**

**Fig. 2. Healthy children and children with community-acquired pneumonia (CAP) in the space of the first two nonlinear principal components**



ТАБЛИЦЫ

Таблица 1 Нагрузки показателей на нелинейные главные компоненты в анализе групп здоровых детей и детей с внебольничной пневмонией

Table 1 Loadings of variables on nonlinear Principal Components in the healthy children and children with community-acquired pneumonia groups' analysis

Показатели / Variables	Главная компонента / Principal component			
	1	2	3	4
Группа / Group	<b>0.671</b>	0.284	-0.206	0.170
Возраст / Age	-0.057	-0.220	<b>0.571</b>	<b>0.566</b>
Пол / Gender	0.075	-0.194	-0.081	<b>0.382</b>
IL-1 $\beta$	<b>0.381</b>	-0.092	<b>0.525</b>	0.240
IL-2	<b>0.480</b>	<b>0.539</b>	0.165	<b>-0.372</b>
IL-4	<b>0.516</b>	<b>0.405</b>	0.114	0.109
IL-6	-0.003	<b>0.781</b>	-0.109	<b>0.444</b>
IL-8	<b>0.632</b>	<b>-0.336</b>	<b>-0.463</b>	-0.032
IL-10	<b>0.388</b>	<b>0.528</b>	0.270	<b>-0.329</b>
IL-17A/F	<b>0.545</b>	<b>-0.344</b>	<b>-0.353</b>	<b>0.343</b>
IL-28A	<b>0.849</b>	-0.096	-0.117	0.022
IL-28B	<b>0.823</b>	-0.128	0.076	0.056
TNF- $\alpha$	<b>0.617</b>	0.287	-0.039	-0.034
GM-CSF	<b>0.479</b>	-0.141	<b>0.625</b>	-0.002
IFN- $\gamma$	-0.091	<b>0.777</b>	<b>-0.303</b>	<b>0.424</b>
MCP-1	<b>0.842</b>	-0.101	-0.219	-0.008
Объяснённая дисперсия, % Explained variance, %	28.2	16.1	10.8	8.5

Выделены нагрузки  $>|0.3|$  / Loadings  $>|0.3|$  are highlighted in bold

## ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ\_МЕТАДААННЫЕ

### Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Изюрова Наталья Владимировна, ассистент

Iziurova Natalia Vladimirovna, assistant

Кафедра пропедевтики детских болезней и педиатрии

Department of Propaedeutics of Children's Diseases and Pediatrics

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Южно-Уральский государственный Медицинский  
Университет» Минздрава РФ

Federal State Educational Institution of Higher Medical Education, South Ural State  
Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation

г. Челябинск, ул. Воровского 64, 454092

Chelyabinsk, Vorovsky str., 64,454092

Тел. 89630814678, Natusaz@live.ru

### Блок 2. Информация об авторах

Савочкина Альбина Юрьевна, д.м.н., профессор

Savochkina Albina Yurievna, MD, Professor

Кафедра клинической лабораторной диагностики

Department of Clinical Laboratory Diagnostics

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Южно-Уральский государственный Медицинский  
Университет» Минздрава РФ

Federal State Educational Institution of Higher Medical Education, South Ural  
State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation

г. Челябинск, ул. Воровского 64, 454092

Chelyabinsk, Vorovsky str., 64,454092

Тел. 89127725806, alina7423@mail.ru

Узунова Анна Николаевна, д.м.н, профессор

Uzunova Anna Nikolaevna, MD, Professor

Кафедра пропедевтики детских болезней и педиатрии

Department of Propaedeutics of Children's Diseases and Pediatrics

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Южно-Уральский государственный Медицинский  
Университет» Минздрава РФ

Federal State Educational Institution of Higher Medical Education, South Ural State  
Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation

г. Челябинск, ул. Воровского 64, 454092

Chelyabinsk, Vorovsky str., 64,454092

Тел. 83519043616, propedd@mail.ru

НЕЛИНЕЙНЫЕ ГЛАВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ДЕТЕЙ С ВП  
CYTOKINE PROFILE IN COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN CHILDREN  
10.15789/1563-0625-NMC-2673

Нохрин Денис Юрьевич, к.б.н., доцент

Nokhrin Denis Yurievich, Associate Professor, Candidate of Biological Sciences

Кафедра микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета

Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет»

Минобрнауки РФ

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Chelyabinsk State University" of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation

Г. Челябинск, ул. Братьев Кашириных, 129, 454001

Chelyabinsk, Kashirin Brothers str., 129, 454001

Тел. 89080619192, nokhrin8@mail.ru

### **Блок 3. Метаданные статьи**

## **НЕЛИНЕЙНЫЕ ГЛАВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ДЕТЕЙ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ NONLINEAR MAIN COMPONENTS OF THE CYTOKINE PROFILE IN CHILDREN WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA**

**Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:**

НЕЛИНЕЙНЫЕ ГЛАВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ  
У ДЕТЕЙ С ВП

CYTOKINE PROFILE IN COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN  
CHILDREN

**Ключевые слова:** внебольничная пневмония, дети, цитокиновый профиль, тяжелая ВП, метод САТРСА, биомаркеры пневмонии.

**Key words:** community-acquired pneumonia, children, cytokine profile, severe CAP, SATPSA method, biomarkers of pneumonia.

8 страниц

Рисунков 2, таблиц 1

Раздел журнала: оригинальная статья

Статья диссертационная

Дата отправления работы 23.03.2023

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи
1.	Зайцева. О. В. Формирование иммунитета: актуальные вопросы педиатрии. Аллергология и иммунология в педиатрии 2014; 2(37): 12-22.	Zaitseva. O. V. Formation of immunity: topical issues of pediatrics. Allergology and Immunology in Pediatrics 2014; 2(37): 12-22.	EDN WXBNZZ.
2.	Изюрова Н.В., Савочкина А.Ю., Узунова А.Н., Нохрин Д.Ю. Цитокиновый профиль при внебольничной пневмонии у детей. Медицинская иммунология 2022; 24 (5): 943-954.	Izyurova N.V., Savochkina A.U., Uzunova A.N., Nokhrin D.U. Cytokine profile in community-acquired pneumonia in children. Medical Immunology 2022; 24 (5): 943-954.	DOI 10.15789/1563-0625-CPI-2538. – EDN ULMLAN
3.	Пневмония (внебольничная). Оригинал-макет, 2022. – 82с.	Pneumonia (community-acquired). Original layout, 2022, p82.	<a href="https://cr.minzdrav.gov.ru/sc_hema/714_1">https://cr.minzdrav.gov.ru/sc_hema/714_1</a>
4.	Chen Y, Wang J, Liu C, Su L, Zhang D, Fan J, Yang Y, Xiao M, Xie J, Xu Y, Li Y, Zhang S. IP-10 and MCP-1 as biomarkers associated with disease severity of COVID-19. Mol Med. 2020 Oct 29;26(1):97.		DOI: 10.1186/s10020-020-00230-x. PMID: 33121429; PMCID: PMC7594996.
5.	Chong Z, Karl CE, Halfmann PJ, Kawaoka Y, Winkler ES, Keeler SP,		DOI:

	Holtzman MJ, Yu J, Diamond MS. Nasally delivered interferon- $\lambda$ protects mice against infection by SARS-CoV-2 variants including Omicron. Cell Rep. 2022 May 10;39(6):110799.		10.1016/j.celrep.2022.110799. Epub 2022 Apr 21. PMID: 35523172; PMCID: PMC9021357
6.	Gifi A. Nonlinear Multivariate Analysis. – N.Y.: John Wiley & Sons, 1990. – 579 p.		ISBN 0-471-92620-5. <a href="https://doi.org/10.1016/0167-9473(92)90072-N">https://doi.org/10.1016/0167-9473(92)90072-N</a>
7.	Hammer, O., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica, 4, 9 p.		<a href="http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm">http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm</a>
8.	Härtel C, Adam N, Strunk T, Temming P, Müller-Steinhardt M, Schultz C. Cytokine responses correlate differentially with age in infancy and early childhood. Clin Exp Immunol. 2005 Dec;142(3):446-53.		DOI: 10.1111/j.1365-2249.2005.02928.x. PMID: 16297156; PMCID: PMC1809539
9.	Haugen J, Chandyo RK, Brokstad KA, Mathisen M, Ulak M, Basnet S, Valentiner-Branth P, Strand TA. Cytokine Concentrations in Plasma from Children with Severe and Non-		DOI: 10.1371/journal.pone.0138978. PMID: 26407163; PMCID: PMC4583304.

	Severe Community Acquired Pneumonia. PLoS One. 2015 Sep 25;10(9): e0138978.		
10.	Jeong SD, Lee H, Chang JY, Lee SY, Choi JE, Yang E, Jeong HW, Choi JP, Han MS, Shin EC. Increased type III interferons and NK cell functions in SARS-CoV-2-infected children. Signal Transduct Target Ther. 2023 Feb 3;8(1):54.		DOI: 10.1038/s41392-023-01340-8. PMID: 36737427; PMCID: PMC9896443.
11.	Kleiner G, Marcuzzi A, Zanin V, Monasta L, Zauli G. Cytokine levels in the serum of healthy subjects. Mediators Inflamm. 2013;2013:434010.		DOI: 10.1155/2013/434010. Epub 2013 Mar 7. PMID: 23533306; PMCID: PMC3606775.
12.	le Roux DM, Zar HJ. Community-acquired pneumonia in children - a changing spectrum of disease. Pediatr Radiol. 2017 Oct;47(11):1392-1398.		DOI: 10.1007/s00247-017-3827-8. Epub 2017 Sep 21. Erratum in: Pediatr Radiol. 2017 Dec;47(13):1855. PMID: 29043417; PMCID: PMC5608782
13.	Li YT, Wang YC, Lee HL, Tsao SC, Lu MC, Yang SF. Monocyte Chemoattractant Protein-1, a Possible Biomarker of Multiorgan Failure and Mortality in Ventilator-		DOI: 10.3390/ijms20092218. PMID: 31064097; PMCID: PMC6539645.

	Associated Pneumonia. Int J Mol Sci. 2019 May 6;20(9):2218.		
14.	Linting M, Meulman JJ, Groenen PJ, van der Kooij AJ. Nonlinear principal components analysis: introduction and application. Psychol Methods. 2007 Sep;12(3):336-58.		DOI: 10.1037/1082-989X.12.3.336. PMID: 17784798.
15.	Lu Q, Zhu Z, Tan C, Zhou H, Hu Y, Shen G, Zhu P, Yang G, Xie X. Changes of serum IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1, TNF- $\alpha$ , IP-10 and IL-4 in COVID-19 patients. Int J Clin Pract. 2021 Sep;75(9):e14462.		DOI: 10.1111/ijcp.14462. Epub 2021 Jul 4. PMID: 34107113; PMCID: PMC8237069. PMCID: PMC8482031.
16.	McGuinness D, Bennett S, Riley E. Statistical analysis of highly skewed immune response data. J Immunol Methods. 1997 Feb 14;201(1):99-114..		DOI: 10.1016/s0022-1759(96)00216-5. PMID: 9032413
17.	Michailidis G., de Leeuw J. The Gifi System of Descriptive Multivariate Analysis // Statistical Science. – 1998. V. 13, №. 4. – P. 307–336.		DOI: 10.1214/ss/1028905828
18.	Nandi A, Bishayi B. Murine macrophage response from peritoneal cavity requires signals		DOI: 10.1007/s12026-015-8739-9. PMID: 26616292.

	mediated by chemokine receptor CCR-2 during Staphylococcus aureus infection. Immunol Res. 2016 Feb;64(1):213-32.		
19.	Nascimento-Carvalho EC, Vasconcellos ÂG, Clarêncio J, Andrade D, Barral A, Barral-Netto M, Nascimento-Carvalho CM. Evolution of cytokines/chemokines in cases with community-acquired pneumonia and distinct etiologies. Pediatr Pulmonol. 2020 Jan;55(1):169-176.		DOI: 10.1002/ppul.24533. Epub 2019 Sep 25. PMID: 31553527.
20.	Raman D, Sobolik-Delmaire T, Richmond A. Chemokines in health and disease. Exp Cell Res. 2011 Mar 10;317(5):575-89.		DOI: 10.1016/j.yexcr.2011.01.00. Epub 2011 Jan 9. PMID: 21223965; PMCID: PMC3063402.
21.	Rendon A, Rendon-Ramirez EJ, Rosas-Taraco AG. Relevant Cytokines in the Management of Community-Acquired Pneumonia. Curr Infect Dis Rep. 2016 Mar;18(3):10.		DOI: 10.1007/s11908-016-0516-y. PMID: 26874956; PMCID: PMC7088528.
22.	Reverberi R. The statistical analysis of immunohaematological data.		DOI:

	Blood Transfus. 2008 Jan;6(1):37-45.		10.2450/2008.0001-08. PMID: 18661922; PMCID: PMC2626860.
23.	Siljan WW, Holter JC, Nymo SH, Husebye E, Ueland T, Aukrust P, Mollnes TE, Heggelund L. Cytokine responses, microbial aetiology and short-term outcome in community-acquired pneumonia. Eur J Clin Invest. 2018 Jan;48(1):e12865.		DOI: 10.1111/eci.12865. Epub 2017 Dec 7. PMID: 29171871; PMCID: PMC5767742.
24.	Sposito B, Broggi A, Pandolfi L, Crotta S, Clementi N, Ferrarese R, Sisti S, Criscuolo E, Spreafico R, Long JM, Ambrosi A, Liu E, Frangipane V, Saracino L, Bozzini S, Marongiu L, Facchini FA, Bottazzi A, Fossali T, Colombo R, Clementi M, Tagliabue E, Chou J, Pontiroli AE, Meloni F, Wack A, Mancini N, Zanoni I. The interferon landscape along the respiratory tract impacts the severity of COVID-19. Cell. 2021 Sep 16;184(19):4953-4968.e16.		DOI: 10.1016/j.cell.2021.08.016. Epub 2021 Aug 19. PMID: 34492226; PMCID: PMC8373821.
25.	Stanifer ML, Guo C, Doldan P, Boulant S. Importance of Type I and		DOI: 10.3389/fimmu.2020.60864.

	III Interferons at Respiratory and Intestinal Barrier Surfaces. Front Immunol. 2020 Dec 11;11:608645.		PMID: 33362795; PMCID: PMC7759678.
26.	Vasconcellos ÂG, Clarêncio J, Andrade D, Araújo-Neto CA, Barral A, Nascimento-Carvalho CM. Systemic cytokines/chemokines associated to radiographic abnormalities in pneumonia in children. Cytokine. 2020 Nov;135:155191.		DOI: 10.1016/j.cyto.2020.155191. Epub 2020 Jul 23. PMID: 32712459.
27.	Yong KK, Chang JH, Chien MH, Tsao SM, Yu MC, Bai KJ, Tsao TC, Yang SF. Plasma Monocyte Chemoattractant Protein-1 Level as a Predictor of the Severity of Community-Acquired Pneumonia. Int J Mol Sci. 2016 Jan 29;17(2):179.		DOI: 10.3390/ijms17020179. PMID: 26840299; PMCID: PMC4783913.