

На правах рукописи

МИКРЮКОВА
Наталья Васильевна

**ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ
ХРОНИЧЕСКОЙ КРАПИВНИЦЫ У ВЗРОСЛЫХ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук профессор

Калинина Наталия Михайловна

Официальные оппоненты:

Серебряная Наталья Борисовна - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отдел иммунологии, лаборатория общей иммунологии, заведующая.

Вологжанин Дмитрий Александрович – доктор медицинских наук, доцент, Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница № 40 Курортного района» Администрации Курортного района Санкт-Петербурга, заместитель главного врача.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «12» ноября 2024 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета 04.1.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197345, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, дом 54 и на сайте <https://nrcerm.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

кандидат медицинских наук доцент

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Оптимизация и разработка новых методов лабораторной диагностики, изучение биологических маркеров и их влияния на патогенез аллергических заболеваний повышает эффективность лечения. Возможности лабораторной диагностики на современном этапе достаточно широки, практическое внедрение новых методик будет способствовать корректной терапии, что уменьшит тяжесть клинических проявлений и позволит достичь контроля над заболеванием. Таким образом, использование новых подходов для определения возможных причин хронической крапивницы (ХК) с применением современных методов лабораторной диагностики сохраняет свою актуальность.

В современной аллергологии крапивница представляет серьезную проблему, занимая по частоте встречаемости третье место после аллергического ринита и бронхиальной астмы (Колхир П. В., 2016). Хронические формы крапивницы снижают качество жизни пациента в связи с интенсивным зудом и, как следствие, нарушением психоэмоционального состояния, сна, трудоспособности, а также создают косметические проблемы.

В мире крапивницей страдает около 20% населения, у женщин она встречается в 2 раза чаще мужчин (Zuberbier T. et al., 1997). Хроническая крапивница диагностируется у 0,5-1% людей в популяции, 6-30% приходится на долю хронической индуцированной крапивницы, при которой у 70% пациентов возникают системные реакции, включая анафилаксию в тяжелых случаях. У 13,9% людей индуцированные формы сочетаются с хронической спонтанной крапивницей (Silpa-archa N. et al., 2011).

Хроническая крапивница представляет собой гетерогенную группу заболеваний, при которой развитие волдырей и/или ангиоотечков длится более 6 недель. ХК подразделяют на спонтанную, без очевидных триггеров, и индуцированную, когда триггером могут быть установленные физические и химические раздражители (Maurer M. et al., 2020).

Спонтанная хроническая крапивница в ряде случаев имеет аутоиммунную природу, что подтвердило обнаружение антител класса IgG к FcεRI-рецепторам тучных клеток (Колхир П. В., 2016; Борзова Е. Ю., 2019). Хроническая крапивница может быть синдромом различных аутоиммунных, онкологических, инфекционных (паразитарных) заболеваний. В патогенезе хронической крапивницы большая роль отводится хроническим очагам инфекции, заболеваниям желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы (Kim W.J. et al., 2005; Dionigi P.C. et al., 2016; Zawar V. et al., 2016; Marely–Santiago–Vázquez M. et al., 2018; Tan R.J. et al., 2018; Kim H.J. et al., 2019; Page R.A. et al., 2019). Часто встречается психогенная или стресс индуцированная крапивница, ведущим звеном в патогенезе которой является нейрогенное иммунное воспаление, сопровождающееся повышением уровня нейрпептида субстанции Р

(SP) (Орлова Е.А., 2013). Распространенными последствиями ХК являются психические расстройства, депрессия и тревога, сексуальная дисфункция и нарушения сна (Zuberbier T. et al., 2018). Практически каждый пациент рассказывает о влиянии пищи на течение крапивницы. Как показывают результаты исследований, необходимо исключать синдром непереносимости гистамина, для которого требуется определение активности диаминоксидазы (ДАО), фермента, метаболизирующего гистамин в кишечнике. И наконец, хроническая крапивница может сочетаться с аллергической патологией, с сенсibilизацией к различным аллергенам, что подтверждается данными анамнеза, клинической картины и аллергологического обследования.

Мультифакторность ХК обуславливает сложность определения формы крапивницы при постановке диагноза с целью выбора терапии. Таким образом, оценка влияния различных факторов на возникновение и характер патологического процесса для уточнения иммунопатогенеза ХК, а также выявление диагностически полезных биомаркеров, определяемых с помощью лабораторных методов, продолжают оставаться актуальными.

Федеральными клиническими рекомендациями охарактеризован спектр обязательного лабораторного обследования при хронической крапивнице: рекомендовано только выполнение клинического анализа крови и С-реактивного белка (СРБ) (Данилычева И.В. с соавт., 2018). Однако скрининговое обследование не позволяет уточнить форму ХК, а пациенты, страдающие крапивницей, могут иметь две и более различных формы, что меняет подходы к терапии.

Несмотря на достаточное количество исследований, патогенез хронической крапивницы остается не до конца ясным. У половины больных ХК, независимо от использования разработанных и утвержденных стандартов диагностики и лечения (Asero R. et al., 2017; Maurer M. et al., 2019), констатируется неэффективность диетических рекомендаций и антигистаминной терапии, даже при увеличении разовой дозы в 4 раза (Данилычева И.В. с соавт., 2018; Zuberbier T. et al., 2022). Следовательно, клинико-лабораторная диагностика причин хронической крапивницы крайне важна для уточнения патогенеза заболевания и оптимизации лечения (Zuberbier T. et al., 2018).

Степень разработанности темы исследования. В последние десятилетия достигнуты значительные успехи в выявлении причин различных типов хронической крапивницы (Zuberbier T. et al., 2018). При хронической крапивнице аутореактивность/аутоаллергия, опосредованная аутоантителами, направленными против высокоаффинного рецептора IgE, или IgE-аутоантитела к аутоантигенам, являются наиболее изученными механизмами патогенеза (Kim W.J. et al., 2005; Baioumy S.A. et al., 2018). Стресс, воздействие температуры, физические нагрузки, инфекции определены как возможные триггеры других типов ХК.

Хроническая крапивница непредсказуема по своему течению. В литературе встречаются единичные сведения о предикторах хронического течения крапивницы (Kim J.H. et al., 2016).

Показано, что выявление аутоантител может использоваться в качестве прогностического фактора хронического течения крапивницы (Колхир П. В., 2016; Борзова Е. Ю., 2019). В настоящее время немногочисленными тестами для определения возможной аутореактивности являются «обратный» тест активации базофилов (basophil activation test, BAT) и кожный тест с аутологичной сывороткой (autologous serum skin test, ASST). ASST — неспецифический скрининговый тест, который оценивает наличие в сыворотке различных гистаминолибераторов, не только аутоантител к IgE или FcεR1 (высокоаффинный рецептор IgE). Также в современных рекомендациях показано, что ASST следует проводить с особой осторожностью (Zuberbier T. et al., 2018) как и другие тесты *in vivo*, в связи с чем BAT имеет преимущество, хотя и при его применении причинные факторы активации базофилов, находящиеся в аутологичной сыворотке, не поддаются полной характеристике.

В настоящее время акцент изучения патогенеза ХК смещен в сторону спонтанной крапивницы и существующие в настоящее время как *in vivo*, так и *in vitro* тесты используются, в основном, для диагностики спонтанной крапивницы, в то время как лабораторные биомаркеры для диагностики хронической индуцированной крапивницы отсутствуют (Magerl M. et al., 2016).

В литературе имеются единичные работы (Орлова Е.А., 2013; Vena G.A. et al., 2018) по исследованию стресс индуцированной крапивницы. Лабораторные методы для скрининга стресс индуцированной крапивницы отсутствуют, практически не изучена роль субстанции Р. Субстанция Р представляет собой нейропептид (нейромедиатор), который высвобождается из сенсорных нейронов и относится к неадренергической нехолинергической системе (NANC). Согласно современным данным, биологическая активность SP может проявляться не только через Neurokinin-1 receptor (NK-1), но и через MAS рецептор-X2, связанный с G-белком (MRGPRX2), и вызывать активацию тучных клеток и базофилов (Fujisawa D. et al., 2014).

Немногочисленные работы по определению уровня диаминоксидазы в сыворотке крови выполнены на небольшом количестве пациентов и показывают противоречивые результаты (Refaat M. M. et al., 2019; Wagner A. et al., 2019). В настоящее время в лабораториях с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии определяется как уровень гистамина, так и гистаминовый комплекс (гистамин+диаминоксидаза), однако в клинические рекомендации данные методы обследования не включены.

Уточнение патогенеза хронической крапивницы приведет к улучшению контроля над ее симптомами благодаря установлению причин (триггеров) с возможностью их устранения, а также применению симптоматической терапии, подавляющей высвобождение медиаторов тучными клетками и реализацию их эффектов. Диаминоксидаза и субстанция Р, являясь важными звеньями патогенеза ХК, могут стать биологическими мишенями для осуществления

контроля над хронической крапивницей. Оценка взаимосвязи изучаемых показателей с другими параметрами иммунной системы, сопутствующими состояниями и заболеваниями позволит определить место субстанции Р, диаминоксидазы, гистамина в патогенезе индуцируемых крапивниц. В результате изучения этих показателей возможно будет охарактеризовать их перспективность в качестве биомаркеров для оценки клинического течения и прогноза заболевания, а также как вероятных мишеней иммунотерапии. Биомаркеры, показавшие клиническую эффективность, в дальнейшем могут быть рекомендованы к внедрению в практику деятельности профильных учреждений.

Цель исследования: Оценить значимость субстанции Р, диаминоксидазы, гистамина в качестве новых диагностических клиничко-лабораторных маркеров хронической крапивницы у взрослых.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительный анализ содержания в сыворотке крови показателей гистамина, диаминоксидазы и субстанции Р у пациентов с подтверждённым диагнозом хроническая крапивница с условно здоровыми взрослыми, не страдающих данной патологией (группа сравнения).
2. Проанализировать содержание в сыворотке концентрации гистамина, диаминоксидазы и субстанции Р у пациентов, страдающих хронической крапивницей в зависимости от анамнеза, показателей клинического, биохимического анализов крови.
3. Оценить взаимосвязь клинических, анамнестических и лабораторных показателей (гистамина, ДАО, субстанции Р) с риском возникновения хронической крапивницы.
4. Выявить значимость определения диаминоксидазы, субстанции Р в качестве биомаркеров индуцированной крапивницы.

Научная новизна. Впервые одновременно определено содержание нейропептида субстанции Р, гистамина и диаминоксидазы (фермента, разрушающего гистамин) в сыворотке крови больных хронической крапивницей с учетом их ассоциации с сопутствующей патологией и активностью заболевания.

Обнаружена статистически значимая взаимосвязь диаминоксидазы с нейротрансмиттером субстанцией Р, что подтвердило гипотезу о существовании оси кишечник-мозг-кожа.

В результате построения мультивариантной модели были выявлены анамнестические (патология желудочно-кишечного тракта и фактор стресса) и лабораторные (субстанция Р) показатели, способствующие уточнению иммунопатогенеза заболевания.

Выявлена диагностическая значимость определения субстанции Р качестве триггера у пациентов с хронической крапивницей и анамнестической стрессовой ситуацией.

Обосновано положение о включении стресс индуцированной крапивницы в классификацию индуцируемых крапивниц для оптимизации патогенетической терапии.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты исследования расширили представление о патогенезе хронической крапивницы. Определены связи между лабораторными показателями (гистамином, диаминооксидазой и субстанцией Р) и степенью активности хронической крапивницы, сопутствующими заболеваниями, анамнестическими сведениями о пищевой, лекарственной непереносимости и стрессом в качестве триггера обострения крапивницы.

У пациентов с хронической крапивницей выявлены следующие изменения лабораторных показателей: отмечено повышение содержания лейкоцитов, нейтрофилов, моноцитов при выраженном обострении заболевания. Установлена связь эозинопении и базопении с активностью хронической крапивницы вследствие миграции клеток в органы-мишени. Отмечено увеличение концентрации общего иммуноглобулина Е и эозинофильного катионного белка. Полученные данные о повышении концентрации гистамина и субстанции Р у пациентов с хронической крапивницей позволяют дополнить алгоритм диагностики этими лабораторными биомаркерами, что увеличит эффективность обследования и лечения пациентов.

Установлена диагностическая значимость определения субстанции Р у пациентов с хронической крапивницей и наличием стрессовых ситуаций в анамнезе при обострении хронической крапивницы. Изученные лабораторные маркеры позволяют выявлять стресс в качестве триггера крапивницы, что может повысить эффективность лечебных мероприятий, направленных на купирование или контроль хронической крапивницы.

Выявление пищевой непереносимости на основании определения концентрации диаминооксидазы в сыворотке крови не показало диагностической значимости и не может служить основанием для назначения ограничительных диет.

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования основывалась на использовании общенаучных методов (теоретических и эмпирических) и специальных методов научного познания. Дизайн работы представлял собой комплекс сравнительных клинических и экспериментальных исследований с использованием современных статистических и лабораторных методов, что позволило обосновать положения, выносимые на защиту.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Информативными диагностическими лабораторными маркерами хронической крапивницы у взрослых являются гистамин и субстанция Р, определяемые в сыворотке крови.

2. При выявлении в анамнезе стрессового фактора оценка субстанции Р в сыворотке крови у пациентов, страдающих хронической крапивницей, необходима для подтверждения стресса как основного триггера заболевания и учета его в комплексной терапии.

3. Патология желудочно-кишечного тракта, наличие стрессового фактора и увеличение концентрации субстанции Р в периферической крови ассоциированы с высоким риском развития хронической крапивницы и являются ее клинико-лабораторными маркерами.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным объемом выборки обследованных участников (165 человек), современными методами исследования и корректными методами статистической обработки. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие. Анализ образцов сыворотки крови пациентов проводился с использованием оборудования экспертного класса и наборов реагентов для данных аналитических систем.

Основные результаты работы представлены в виде докладов и обсуждены в ходе Российских конференций: IX Международный научный конгресс Многопрофильная клиника XXI века. Инновации и передовой опыт, Санкт-Петербург (2020); X Международный научный конгресс Многопрофильная клиника XXI века. Инновации в медицине, Санкт-Петербург (2021), XI Международная научная конференция. Многопрофильная клиника XXI века. Инновации и передовой опыт, Санкт-Петербург (2022), XII Международная научная конференция. Многопрофильная клиника XXI века. Инновации и передовой опыт, Санкт-Петербург (2023); XIV Всероссийская школа по клинической иммунологии «Иммунология для врачей» (2024), Пушкинские Горы, Псковская область; XIII Международная научная конференция. Многопрофильная клиника XXI века. Инновации и передовой опыт, Санкт-Петербург (2024); IV Балтийский симпозиум по иммунологии, молекулярной и регенеративной медицине: «Механизмы воспаления и регенерации в норме и при патологии», Калининград (2024).

Связь с ИНИР и внедрение результатов исследования. Материалы диссертации использованы в ходе выполнения инициативной научно-исследовательской работы МЧС России «Клинико-лабораторная диагностика хронической крапивницы у взрослых», выполненной по решению Учёного совета ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России (протокол №10 от 17.11.2023 г.).

Результаты диссертационного исследования используются в практической деятельности лечебно-диагностических подразделений (поликлиника, отдел лабораторной диагностики, отдел терапии и интегративной медицины, терапии и профпатологии) ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России. Материалы диссертационного исследования включены в образовательный процесс кафедры терапии и интегративной медицины института ДПО

«Экстремальная медицина» ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никитова МЧС России при подготовке кадров высшей квалификации по программам подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре и программам подготовки кадров высшей квалификации по программам ординатуры по укрупненной группе специальностей 31.00.00 – Клиническая медицина и ординаторов, а также при повышении квалификации медицинского персонала МЧС России (акт внедрения от 22.07.2024). Они также используются в образовательном процессе ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России (акт внедрения от 02.08.2024).

Публикации по результатам исследования. По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, включая 6 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, в том числе 4 по специальности «Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки)».

Личный вклад автора. Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в выполнении всех этапов диссертационного исследования. Планирование научной работы, постановка цели и задач диссертационного исследования проводилось совместно с научным руководителем. Научно-информационный поиск, анализ данных научной литературы выполнены лично автором. Набор исследуемого материала, анализ и интерпретация полученных результатов, статистическая обработка данных, представление результатов работы в научных публикациях и в виде докладов на конференциях, выполнены лично соискателем. Лабораторные исследования выполнены при участии сотрудников отдела лабораторной диагностики ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М.Никитова МЧС России.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Тема работы, использованные материалы и методы, полученные результаты, их обсуждение, выводы и практические рекомендации соответствуют паспорту специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Структура и объем диссертации. Текст диссертации изложен на 118 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав, описывающих материалы и методы и результаты собственных исследований, а также обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 36 таблицами и 14 рисунками. Список литературы включает в себя 169 источников, из которых 8 отечественных и 161 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Клиническое и лабораторное обследование пациентов, страдающих хронической крапивницей, осуществляли на базе ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России. Лабораторные иммунологические исследования проводили в лаборатории клинической иммунологии отдела лабораторной диагностики ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России. От испытуемых было получено информированное согласие на участие в исследовании. Это исследование было одобрено Комитетом по этике ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России.

В диссертационное исследование включено 165 взрослых людей, от 18 до 68 лет, 76 женщин, 89 мужчин, 97 из них страдали хронической крапивницей. Группу сравнения составили 68 условно здоровых людей, сопоставимых по полу и возрасту с основной группой, не имевших клинических проявлений крапивницы, не страдающих сопутствующей аллергической патологией, вне обострения хронических заболеваний. Пациенты обращались за амбулаторной помощью в поликлинику ВЦЭРМ с 2018 по 2022 год. Собран анамнез жизни и анамнез заболевания пациентов с ХК. Критериями включения пациентов в исследование было наличие рецидивирующего течения крапивницы и/или ангиоотечков на протяжении 6-ти и более недель. Диагноз крапивницы основывали на обнаружении уртикарных высыпаний и ангиоотечков в соответствии с действующими на этот период федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению крапивницы 2018 г. и с использованием материалов согласительного документа EAACI/GA2LEN/EDF/WAO 2018 г.; T. Zuberbier, W. Aber, R. Asero et al., 2018 г. (Данилычева И.В. с соавт., 2018; Zuberbier T. et al., 2018). Критерием исключения пациентов из группы обследованных было наличие тяжелых иммунодефицитных состояний в анамнезе.

Всем включенным в исследование (n=165) выполняли клинический анализ крови с подсчетом абсолютного количества лейкоцитов и их популяций, включая эозинофилы и базофилы, оценивали концентрацию в сыворотке крови гистамина, диаминооксидазы (ДАО), субстанции Р (SP). Пациентам, страдающим ХК (n=97), определяли общий иммуноглобулин класса Е (общий IgE), эозинофильный катионный белок (ЭКБ), С-реактивный белок (СРБ). Преаналитическому этапу было уделено большое внимание, взятие крови осуществляли натощак в утренние часы из локтевой вены в стерильные вакутейнеры, что определило корректность получения материала.

Клинический анализ крови выполнен на гематологическом анализаторе DxH 800 (Beckman Coulter, США) с использованием образцов цельной крови, забранной в вакутейнеры с K₂ЭДТА. Реактивы имели регистрационные удостоверения Минздрава России. Референтные интервалы клинического анализа крови многократно апробированы в группе условно здоровых

лиц в лаборатории ВЦЭРМ.

В качестве биомаркеров системного воспалительного процесса были использованы расчетные показатели соотношения нейтрофилов (NLR), тромбоцитов (PLR), базофилов (BLR), эозинофилов (ELR) к лимфоцитам. Расчетные показатели вычисляли делением абсолютного числа нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, тромбоцитов на абсолютное число лимфоцитов из клинического анализа крови.

Для определения концентрации СРБ, эозинофильного катионного белка, общего IgE в качестве биологического материала использовали сыворотку крови, забранную в вакутейнеры с активатором свертывания. Методом центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10 минут отделяли сыворотку от клеточных элементов. Концентрацию СРБ определяли на биохимическом анализаторе UniCel DxС 600 (Beckman Coulter, США), определение концентрации общего IgE и эозинофильного катионного белка осуществляли иммунохемилюминисцентным методом (IMMULITE 2000, SIEMENS, Германия). Реактивы имели регистрационные удостоверения Минздрава России.

Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови пациентов с ХК (n=27) проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) (Infinite F50 Tecan, Австрия). Для определения содержания интерлейкина 4 использовали набор реактивов «Интерлейкин-4-ИФА-БЕСТ» (Вектор Бест, Россия), интерлейкина 6 - «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» (Вектор Бест, Россия), имеющих регистрационные удостоверения Минздрава России. Чувствительность набора для измерения интерлейкина 4 составляет 0,4 пг/мл, для интерлейкина 6 – 0,5 пг/мл. Сыворотку крови получали аналогично по вышеописанной методике. Методом проточной цитометрии (Navios, Beckman Coulter, США) с использованием набора Allergenicity kit (Beckman Coulter, США) оценивали спонтанную активацию базофилов и относительное количество Т-лимфоцитов 2-го типа в образцах цельной крови пациентов с ХК (n=26), забранной в вакутейнеры с гепарином лития.

Определение концентрации гистамина, диаминооксидазы, субстанции Р в сыворотке крови выполняли методом иммуноферментного анализа (Infinite F50 Tecan, Австрия). Сыворотку крови получали центрифугированием аналогично вышеописанной методике, образцы сыворотки хранились в пробирках типа Эппендорф при -80°C. Перед исследованием все компоненты набора и образцы сыворотки находились при комнатной температуре 22°C. Все анализы были измерены в соответствии с инструкцией производителя. Определение концентрации гистамина выполняли с использованием тест-системы CEA927Ge (Cloud-Clone Corp., США), субстанции Р - с использованием тест-системы CEA393Hu (Cloud-Clone Corp., США), диаминооксидазы - с использованием тест-системы SEA656Hu (Cloud-Clone Corp., США). Реактивы сертифицированы для научных исследований. Чувствительность набора для

измерения гистамина составляет 0,52 нг/мл, для ДАО – 0,124 нг/мл, для субстанции Р – 5,42 пг/мл.

Статистический анализ. Статистическую обработку результатов проводили, используя следующие программы: RStudio для операционной системы Windows, с помощью языка программирования R, который разработан для статистической обработки и анализа данных; программу Microsoft Excel 2016 для Windows; Statistica 12.0 (StatSoft, США), STATA 18 (StataCorp LLC, Колледж-Стейшн, Техас, США).

Для представления результатов в случае нормального распределения значений использовали среднее арифметическое $\pm$ SD. В случае распределений, отличающихся от нормального, результаты представляли в виде медианы (Me), нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей. Для анализа были использованы непараметрические статистические критерии. Для проверки равенства дисперсий двух выборок применяли критерий Фишера. Для оценки различий между двумя выборками использовали U-критерий Манна-Уитни. Частотный анализ проводили с использованием четырехпольных таблиц сопряженности на основании критерия χ^2 Пирсона. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена, для более точной оценки силы корреляционной связи использовали таблицу Чеддока. Для определения порогового значения (cut-off point) применяли ROC-анализ (построение Receiver Operator Characteristic curve). Диагностическую эффективность показателя оценивали путем определения площади под ROC кривой (AUC или Area Under Curve). Статистически значимыми различия сравниваемых показателей считали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Общеизвестно, что главным медиатором эффекторной фазы хронической крапивницы является гистамин, в основном, синтезируемый тучными клетками и базофилами и высвобождающийся из их гранул в результате воздействия различных триггеров. Дефицит диаминооксидазы, фермента, ответственного за деградацию гистамина в кишечнике, приводит к накоплению гистамина и, как следствие, клиническим проявлениям ХК. Показано, что нейротрансмиттер субстанция Р может быть одним из медиаторов активации тучных клеток и базофилов, вызывая гистаминолиберацию при ХК. Выполненное исследование было направлено на изучение роли диаминооксидазы, гистамина и субстанции Р в качестве возможных диагностических и прогностических биомаркеров ХК.

Согласно критериям включения, было обследовано 97 пациентов, страдающих ХК, возраст которых варьировал от 18 до 68 лет, со средними значениями $41,10 \pm 12,52$, 45 из них были мужчины (46,4%) и 52 женщины (53,6%). Продолжительность заболевания ХК колебалась от 1,5 месяцев до 30 лет. Среди сопутствующей патологии выявлены заболевания пищеварительной системы (84%), аллергические заболевания (аллергический ринит 57% и

бронхиальная астма 15%), патология урогенитальной системы (39%), и заболевания ЛОР-органов (13%).

При обследовании пациентов обнаружено статистически значимое снижение уровня гемоглобина у мужчин с ХК, что было выявлено ранее в исследованиях других авторов (Guarneri F. et al., 2014; Колхир П. В. 2016) и, возможно, является следствием длительного хронического воспалительного процесса. Все показатели клинического анализа крови у пациентов с ХК не выходили за рамки референтных значений, однако обращало внимание высокое стандартное отклонение у большинства показателей, что подтверждало высокую гетерогенность группы.

При оценке биомаркеров воспаления выявлено повышение эозинофильного катионного белка и общего IgE. В нашем исследовании не было выявлено повышения СРБ и СОЭ, маркеров системного воспаления. Для получения скрининговой информации о системном воспалительном процессе у пациентов, страдающих ХК, были проанализированы расчетные показатели отношения нейтрофилов, эозинофилов, базофилов и тромбоцитов к лимфоцитам (NLR, ELR, BLR и PLR). Отсутствие значимых различий у пациентов с ХК по отношению к группе сравнения свидетельствовало о том, что эти показатели, используемые, в основном, для характеристики системного воспалительного ответа при септических поражениях, невозможно использовать для оценки состояния пациентов с ХК.

При оценке цитокинового звена в нашем исследовании средние показатели концентрации интерлейкина 4 и интерлейкина 6 не выходили за рамки референтных значений. Известно, что гистамин опосредует усиление секреции цитокинов 2-го типа иммунного ответа, таких как интерлейкина 4, что приводит к смещению баланса в сторону Т-хелперного 2 ответа (Dos Santos J.C. et al., 2008; Синельникова Н.А. с соавт., 2013). Интерлейкин 4, ведущий цитокин 2-го типа иммунного ответа, синтезируемый базофилами и Т-лимфоцитами 2 был повышен у трети пациентов, страдающих ХК. В целом по группе пациентов с ХК не было отмечено выраженного увеличения содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, вероятно, ввиду, в основном, местного синтеза этих медиаторов в тканях, что не позволяет использовать эти показатели для диагностики и прогноза течения заболевания.

Несмотря на отсутствие выходящих за верхнюю границу референтных интервалов средних показателей содержания Т-лимфоцитов 2 и спонтанной активации базофилов в группе лиц с ХК, выявлено, что у трети пациентов был зарегистрирован измененный проаллергический тип иммунного ответа, характеризуемый повышенным относительным количеством Т-лимфоцитов 2-го типа и/или увеличенной спонтанной активацией базофилов.

При исследовании гистамина, диаминооксидазы и субстанции Р были выявлены следующие закономерности. По отношению к группе сравнения у пациентов с ХК выявлено

статистически значимое повышение концентрации гистамина (табл.1). При выполнении ROC-анализа нами была определена пороговая концентрация гистамина, которая составила 18 нг/мл, при превышении которой, с чувствительностью 56% и специфичностью 84% возможно было лабораторно подтвердить диагноз хронической крапивницы (рис.1).

Значимых изменений концентрации диаминоксидазы в сыворотке крови пациентов и условно здоровых лиц в нашем исследовании не получено (табл.1).

Было также проанализировано отношение концентрации гистамина к концентрации диаминоксидазы в качестве индекса регуляции гистамина (табл.1).

У пациентов с ХК выявлено статистически значимое повышение концентрации субстанции Р в сыворотке крови (табл.1). Пороговое значение субстанции Р при проведении ROC-анализа составило 179,7 пг/мл, превышение которого с чувствительностью исследования 65% и специфичностью 87% позволяло лабораторно подтвердить диагноз хронической крапивницы (рис.2).

Таблица 1. Концентрация гистамина, диаминоксидазы, субстанция Р и индекс регуляции гистамина у пациентов, страдающих ХК и в группе сравнения, Ме [Q1-Q3].

Показатель	Группа сравнения (n=68)	Пациенты с ХК (n=97)
Гистамин, нг/мл	10,93 [2,72 – 17,21]	23,92 [4,72 – 43,75]*
Диаминоксидаза, нг/мл	11,99 [8,15 – 17,98]	15,56 [7,70 – 18,12]
Гистамин/диаминоксидаза	0,82 [0,23 – 2,03]	1,74 [0,36 – 5,59]*
Субстанция Р, пг/мл	96,57 [78,04 – 138,16]	220,62 [127,30 – 302,65]*

* $p < 0,05$ по отношению к группе сравнения

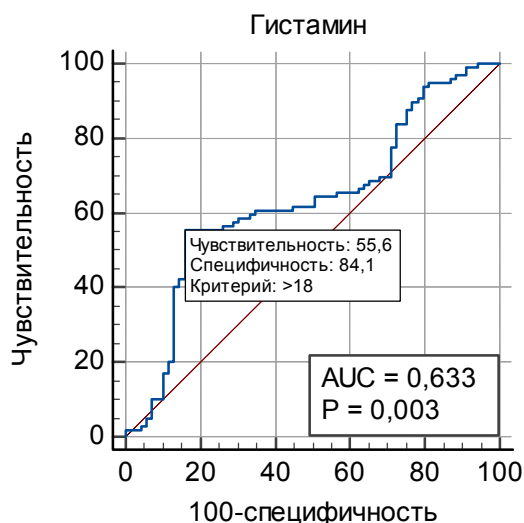


Рисунок 1. ROC-кривая концентрации гистамина у пациентов с ХК и условно здоровых лиц.

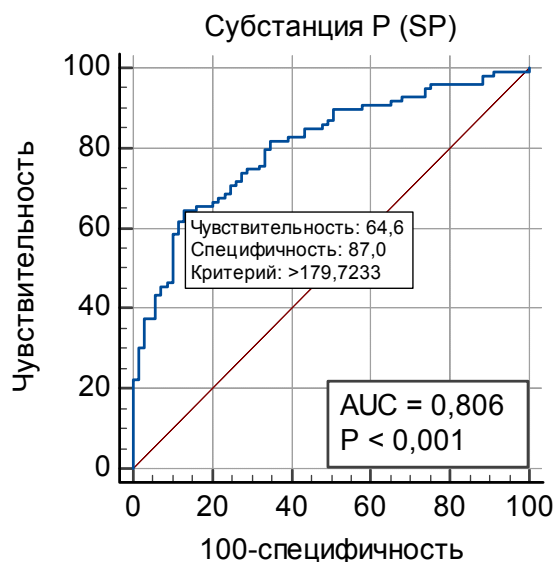


Рисунок 2. ROC-кривая концентрации субстанции Р у пациентов с ХК и условно здоровых лиц.

Следует отметить неблагоприятное значение эозинопении и базопении у пациентов с ХК. В нашем исследовании у пациентов в обострении выявлена высокая частота эозинопении (в 2 раза по сравнению с ремиссией заболевания) и, особенно, базопении (в 5 раз по сравнению с ремиссией заболевания), что было статистически значимо. Максимальные уровни медианы гистамина были выявлены при эозинопении, а субстанции Р отмечены при эозинопении и базопении, что вероятно, было обусловлено выраженностью воспалительного процесса, при котором эозинофилы и базофилы мигрировали в ткани. Повышение содержания лейкоцитов, нейтрофилов, моноцитов и снижение количества эозинофилов у пациентов с ХК, потребовавших для купирования рецидива заболевания назначения системных кортикостероидов, носило статистически значимый характер. Таким образом, воспалительные изменения в клиническом анализе крови, эозинопения и базопения во многом характеризовали тяжесть заболевания. Высокая концентрация гистамина и субстанции Р даже вне периода обострения свидетельствуют о том, что воспалительный процесс у пациентов с ХК продолжается непрерывно.

У пациентов, страдающих ХК, был подробно собран анамнез заболевания, жизни. Были оценены взаимосвязи гистамина, диаминооксидазы, субстанции Р с сопутствующей патологией у пациентов с ХК, в частности заболеваниями органов пищеварения, патологией урогенитальной системы, аллергическим ринитом, аутоиммунным тиреоидитом, пищевой и лекарственной непереносимостью.

У пациентов с ХК и анамнестическими данными о пищевой непереносимости имело место статистически значимое повышение гистамина по сравнению с пациентами без пищевой

непереносимости, что свидетельствовало о преобладании процессов гистаминолиберации у пациентов с гиперчувствительностью к пищевым продуктам.

Аналогичных данных у пациентов с лекарственной непереносимостью получено не было, что можно объяснить меньшим влиянием процессов гистаминолиберации при гиперчувствительности к лекарственным средствам. Различий в концентрации диаминоксидазы между группами пациентов с наличием и отсутствием лекарственной непереносимости не получено.

В нашем исследовании не выявлено различий в концентрации гистамина, диаминоксидазы и субстанции Р у пациентов с наличием/отсутствием урогенитальной патологии и отягощенной/спокойной наследственности по аллергической патологии.

У пациентов с аллергическим ринитом (АР) и ХК значимых различий исследованных показателей от группы лиц без АР не обнаружено. У пациентов без аллергической патологии в нашей работе выявлена тенденция увеличения концентрации субстанции Р, что позволяло предположить неаллергическую природу патогенеза крапивницы в этой группе.

У пациентов, страдающих АИТ и ХК, также было обнаружено повышение концентрации субстанции Р, что, вероятно, связано с участием нейрогенного компонента в аутоиммунном воспалительном процессе.

Обращала внимание тенденция к снижению концентрации гистамина и статистически значимое повышение концентрации диаминоксидазы у пациентов, страдающих ХК с сопутствующей патологией желудочно-кишечного тракта. В исследовании Yusuke Honzawa et al. 2011 г. диаминоксидазу рассматривали в качестве маркера целостности слизистой оболочки, что согласуется с результатами нашего исследования. Статистически значимое повышение субстанции Р в нашем исследовании у пациентов с ХК без заболеваний ЖКТ по сравнению с другой группой свидетельствовало о возможности выявления с помощью этого биомаркера иных, помимо патологии ЖКТ, факторов развития ХК. Возможно, увеличение концентрации диаминоксидазы свидетельствовало о нарушении эпителиального барьера, а повышение концентрации субстанции Р – о воздействии стрессорного фактора.

В нашем исследовании при сборе анамнеза у ряда пациентов были отмечены жалобы о том, что стрессовая ситуация влияла на ухудшение течения ХК. У пациентов, описывающих стресс в качестве триггера хронической крапивницы, выявлена тенденция к снижению концентрации гистамина и диаминоксидазы и статистически значимое повышение концентрации субстанции Р (табл.2). При проведении ROC-анализа определено пороговое значение концентрации субстанции Р, составившее 197,8 пг/мл, что позволяло рекомендовать пациентам углубленное обследование возможно ввиду высокой вероятности стресс индуцированной хронической крапивницы (рис.3).

Таблица 2. Концентрация гистамина, диаминоксидазы, субстанции Р и индекс регуляции гистамина в группе сравнения и у пациентов, страдающих ХК с наличием и отсутствием стресса в качестве триггера обострения ХК, Ме [Q25-Q75]

Показатель	Группа сравнения (n=68)	Пациенты с ХК, не указавшие стресс в качестве триггера (n=71)	Пациенты с ХК, описывающие стресс в качестве триггера ХК (n=26)
Гистамин, нг/мл	10,93 [2,72 – 17,21]	28,00 [4,38 – 44,13]*	17,45 [7,22 – 42,44]*
Диаминоксидаза, нг/мл	11,99 [8,15 – 17,98]	16,75 [8,16 – 18,32]	13,05 [6,75 – 17,36]
Гистамин/диаминоксидаза	0,82 [0,23 – 2,03]	1,77 [0,36 – 5,74]*	1,49 [0,46 – 5,28]*
Субстанция Р, пг/мл	96,57 [78,04 – 138,16]	209,77 [109,52 – 297,36]*	268,39 [198,72 – 312,65]*, **

* $p < 0,05$ по отношению к группе сравнения, ** $p < 0,05$ между группами пациентов с ХК

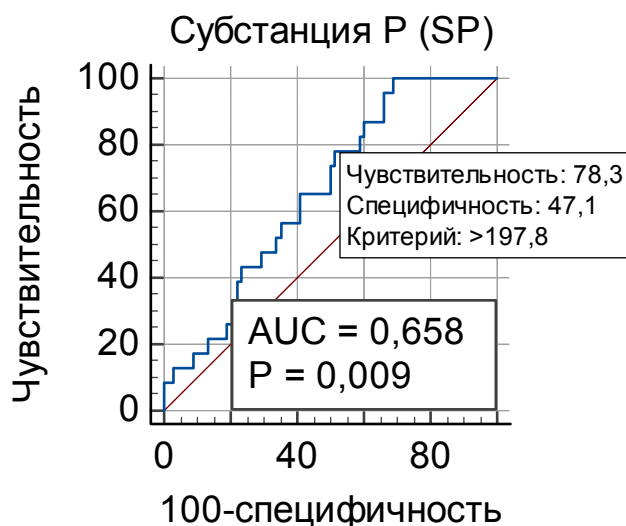


Рис. 3. ROC-кривая концентрации субстанции Р у пациентов с наличием и отсутствием стресса в качестве триггера хронической крапивницы.

При проведении корреляционного анализа была получена умеренная статистически значимая обратная взаимосвязь между гистамином и диаминоксидазой как в группе здоровых лиц, так и среди пациентов с ХК. Взаимосвязь этих лабораторных маркеров, исследованных в периферической крови, косвенно отражает процессы, протекающие местно в тканях. Выявленная статистически значимая прямая взаимосвязь между нейротрансмиттером субстанцией Р и диаминоксидазой подтверждает существующую гипотезу оси кишечник-мозг-кожа. SP является ключевым фактором, который первым реагирует на стрессорный фактор и вносит вклад в протекающее в коже воспаление с нейрогенным компонентом. Параллельно с активацией по механизму обратной связи могут запускаться механизмы, ограничивающие

воспаление, в том числе, интенсивная деградация провоспалительного медиатора гистамина при увеличении синтеза и продукции диаминоксидазы.

Ввиду высокой коморбидности пациентов для анализа связи сопутствующей патологии и лабораторных показателей на увеличение шанса возникновения хронической крапивницы была построена мультивариантная регрессионная модель, включавшая пол, возраст, имеющуюся в анамнезе патологию (аллергический ринит, АИТ, заболевания ЖКТ, урогенитальная патология), пищевую, лекарственную непереносимость, наличие триггера стресс, а также показатели гистамина, диаминоксидазы, субстанции Р у лиц контрольной группы и пациентов с ХК. Было выявлено, что повышение концентрации субстанции Р, наличие стрессового фактора и сопутствующие заболевания - аллергический ринит, патология ЖКТ, лекарственная непереносимость - были статистически значимо ассоциированы с увеличением шанса возникновения ХК (табл. 3). Параметры, характеризующие модель - $P = 0.0000$, $R\text{-squared} = 0.7019$, $\text{Adj } R\text{-squared} = 0.6737$.

Таблица 3. Характеристика мультивариантной модели, оценивающей шанс возникновения ХК.

Переменная	Коэффициент β	Стандартная ошибка	P	95% доверительный интервал
Пол	- 0,040	0,052	0,442	- 0,14 3– 0,063
Возраст	0,000	0,002	0,960	-0,004 – 0,005
Аллергический ринит	0,257	0,058	0,000	0,141 – 0,372
АИТ	-0,121	0,093	0,196	-0,304 – 0,062
Лекарственная непереносимость	0,233	0,059	0,000	0,117 – 0,349
Отягощенная наследственность	0,021	0,068	0,762	-0,114 – 0,155
Пищевая непереносимость	0,115	0,062	0,068	-0,008 – 0,238
Патология ЖКТ	0,328	0,056	0,000	0,217 – 0,439
Патология урогенитальной системы	0,062	0,061	0,312	-0,059 – 0,182
Стресс	-0,129	0,053	0,018	-0,234 - -0,023
Гистамин	0,001	0,001	0,930	-0,002 – 0,002
Диаминоксидаза	-0,001	0,006	0,860	-0,012 – 0,010
Гистамин/диаминоксидаза	0,009	0,014	0,504	-0,018 – 0,036
Субстанция Р	0,001	0,0002	0,000	0,001 – 0,002

Выявлено, что повышение концентрации субстанции Р, наличие стрессового фактора и сопутствующие заболевания, такие как аллергический ринит, патология желудочно-кишечного тракта, лекарственная непереносимость были статистически значимо ассоциированы с увеличением шанса возникновения ХК. Для оценки степени влияния различных изученных факторов применена мультивариантная регрессионная модель с прямым последовательным включением статистически значимых переменных. Были выявлены 3 предикторных

переменных - субстанция Р, патология ЖКТ, наличие стрессового фактора - для включения в регрессионную модель.

Мультивариантная модель логистической регрессии представлены в таблице 4. Параметры, характеризующие модель - $P = 0.0001$, $Pseudo R^2 = 0.6128$.

Таблица 4. Характеристика множественной логистической регрессионной модели, оценивающей шанс возникновения ХК.

Переменная	Коэффициент β	Стандартная ошибка	P	Отношение шансов	95% доверительный интервал
Субстанция Р	0,022	0,004	0,0001	1,022	1,013 – 1,031
Патология ЖКТ	4,443	0,758	0,0001	85,108	19,26 – 376,14
Стресс	-2,452	0,709	0,001	0,086	0,021 – 0,346

Эффективность модели, включавшей предикторные факторы возникновения ХК, была оценена путем построения ROC кривой с $AUC = 0,95$, что является признаком очень хорошей модели (рис.4).

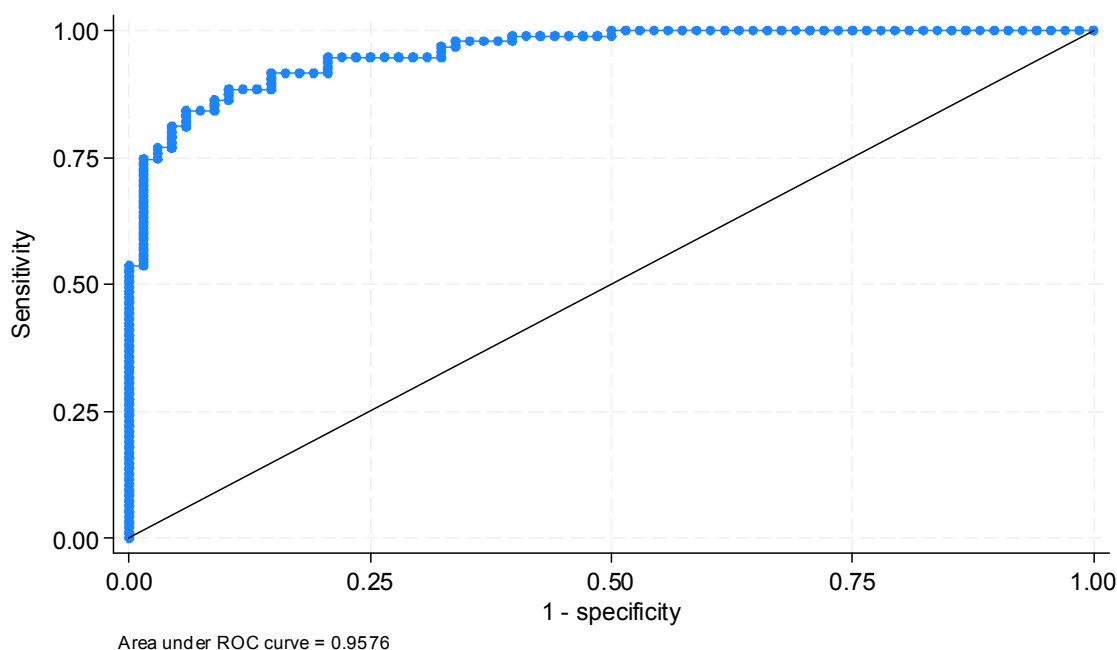


Рисунок 4. ROC-кривая множественной логистической регрессионной модели, оценивающей шанс возникновения ХК.

В результате регрессионного анализа было выявлено, что при увеличении концентрации субстанции Р на 1 пг/мл шанс возникновения ХК увеличивался в 1,02 раза, при наличии сопутствующей патологии ЖКТ в 85,1 раза, стрессовой ситуации в качестве триггера ХК в 11,6 раза. Данные о повышении концентрации SP у пациентов с обострением крапивницы в результате стрессовой ситуации свидетельствуют о возможности использования нейротрансмиттера субстанции Р в качестве биомаркера для выявления триггера ХК.

Лабораторное подтверждение воздействия стрессового фактора позволит повлиять на течение заболевания, купируя стресс психотерапевтическими методами или лекарственными препаратами.

Таким образом, была достигнута цель диссертационной работы по определению значимости субстанции Р, диаминооксидазы, гистамина в качестве новых диагностических и прогностических лабораторных маркеров хронической крапивницы. Наибольшее значение для диагностики крапивницы выявлено для гистамина и субстанции Р, использование определения которых дает возможность лабораторного подтверждения крапивницы. Повышение в кровотоке субстанции Р свидетельствует о наличии стрессового фактора в качестве триггера заболевания, что делает возможным изменение терапии для достижения более устойчивого эффекта. Повышение концентрации диаминооксидазы в периферической крови выявлено в группе пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта, что, вероятно, свидетельствует о повреждении эпителиального барьера. Согласно статистической модели прогностическими факторами риска развития хронической крапивницы являются как анамнестические показатели – патология желудочно-кишечного тракта и наличие стрессовой ситуации, так и лабораторный биомаркер субстанции Р. В настоящий момент в обязательный диагностический алгоритм при хронической крапивнице входит только клинический анализ крови, определение концентрации С-реактивного белка и общего IgE. Расширение панели скрининговых тестов за счет оценки гистамина и субстанции Р, уточняя патогенез заболевания, позволит улучшить дифференциальную диагностику крапивницы и выявить пациентов со стресс индуцированной крапивницей для назначения патогенетической терапии.

ВЫВОДЫ

1. Определены средние концентрации гистамина (10,93 [2,72 – 17,21]), диаминооксидазы (11,99 [8,15 – 17,98]), субстанции Р (96,57 [78,04– 138,16]) в сыворотке крови у практически здоровых взрослых, не страдающих хронической крапивницей (группа сравнения).
2. У пациентов с хронической крапивницей выявлено более чем двукратное повышение медианы субстанции Р ($p=0,0001$) и гистамина ($p=0,005$) по отношению к группе сравнения. Средние концентрации диаминооксидазы у пациентов с крапивницей не были повышены по отношению к группе сравнения.
3. При проведении ROC анализа у пациентов, страдающих хронической крапивницей выявлено статистически достоверное повышение нейротрансмиттера субстанции Р с пороговым значением 179,7 пг/мл, при специфичности 87% и чувствительности 65%, что свидетельствует о значимости нейрогенного воспаления в патогенезе этого заболевания.
4. Для подтверждения диагноза хронической крапивницы значимым лабораторным показателем является концентрация гистамина, превышающая пороговое значение 18 нг/мл, со

специфичностью 84% и чувствительностью 56% ($p=0,003$) определенная при построении ROC кривой.

5. Изменения в клиническом анализе крови (увеличение содержания лейкоцитов, нейтрофилов, моноцитов), эозинопения и базопения характерны для обострения хронической крапивницы

6. У пациентов, страдающих хронической крапивницей, выявлено повышение общего IgE, эозинофильного катионного белка, при этом концентрация С-реактивного белка и СОЭ оставались в пределах референтных значений даже при обострении хронической крапивницы.

7. При анализе мультивариантной регрессионной модели идентифицированы три клиничко-лабораторных фактора, ассоциированные с риском возникновения хронической крапивницы. Риск увеличивается при наличии сопутствующей патологии желудочно-кишечного тракта, при выявлении в анамнезе у пациента стрессовой ситуации в качестве триггера хронической крапивницы, при повышении уровня субстанции Р.

8. У пациентов с хронической крапивницей субстанция Р является биомаркером стресс индуцированной крапивницы – при превышении порогового значения показателя более 197,8 пг/мл необходимо проведение углубленного обследования для подтверждения этого диагноза, что послужит основанием для оптимизации лечения.

9. У пациентов с пищевой непереносимостью в качестве триггера хронической крапивницы не было выявлено изменения концентрации диаминооксидазы в сыворотке крови, что не позволяет рекомендовать этот биомаркер для назначения ограничительных диет.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ВРАЧАМ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ, ВРАЧАМ АЛЛЕРГОЛОГАМ-ИММУНОЛОГАМ.

1. Для дополнения диагностики хронической крапивницы у взрослых рекомендуется использовать показатели гистамина и субстанции Р.

2. При подозрении на стресс индуцированную крапивницу предлагается оценка субстанции Р в сыворотке крови, при повышении которой целесообразно направить пациента на обследование к психологу или психотерапевту

3. Исследование диаминооксидазы в сыворотке крови не показало значимости при пищевой непереносимости, что не позволяет использовать этот маркер для ограничения рациона пациентов, страдающих хронической крапивницей.

4. В программы повышения квалификации врачей лабораторной диагностики, аллергологов-иммунологов, терапевтов рекомендуется включить цикл лекций и практических занятий по клиничко-лабораторной диагностике хронической крапивницы у взрослых.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективой для дальнейшей разработки темы является расширение группы пациентов, страдающих хронической крапивницей, для определения референтных интервалов концентрации диаминооксидазы, субстанции Р и гистамина. Представляет интерес включение определения субстанции Р в скрининг при других заболеваниях, помимо хронической крапивницы, триггером которых является стресс. В этой связи перспективно исследование субстанции Р у представителей опасных профессий в качестве биомаркера стресса. Спасатели, пожарные, военнослужащие с повышенными уровнями субстанции Р могут требовать наблюдения и при необходимости направления на консультацию психотерапевта для профилактики развития различных стресс индуцированных заболеваний, в том числе хронической крапивницы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертационных работ по научной специальности 3.3.8 «клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки)»

1. Микрюкова, Н.В. Иммунопатогенез хронической крапивницы у взрослых. (Научный обзор) / Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Профилактическая и клиническая медицина — 2020.- № 3 (76). - С. 77-85.
2. Микрюкова, Н.В. Хроническая крапивница у представителей профессий высокого риска. / Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Медицина экстремальных ситуаций - 2021.- № 1 (23). — С. 48-55.
3. Микрюкова, Н.В. Роль диаминооксидазы в патогенезе хронической крапивницы. / Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Медицинская иммунология - 2022.— № 1 (24). — С. 181-186.
4. Микрюкова Н.В. Взаимосвязь уровней гистамина, диаминооксидазы и субстанции Р в сыворотке крови у пациентов с хронической крапивницей / Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Медицина экстремальных ситуаций - 2024. - №1 (26). – С.81-85.

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертационных работ по другим специальностям

5. Микрюкова Н.В. Синдром активации тучных клеток: новое мировоззрение. / Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Медицинская иммунология - 2023.- № 25(6). - С. 1289-1298.
6. Микрюкова Н.В. Расчетные показатели отношения нейтрофилов (NLR), тромбоцитов (PLR), базофилов (BLR), эозинофилов (ELR) и лимфоцитов в качестве биомаркеров иммунного

воспаления (научный обзор). / Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Профилактическая и клиническая медицина - 2023. - №4(89). - С. 86-90.

Статьи в научных журналах, тезисы докладов в материалах конференций и симпозиумов

7. Микрюкова, Н.В. Крапивница и стресс. / Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Материалы IX международного научного конгресса «Многопрофильная клиника XXI века. Инновации в медицине - 2020». ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова //СПб. 2020.

8. Микрюкова, Н.В. Аллергия и псевдоаллергия у пациентов с хронической крапивницей. / Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Материалы X международного научного конгресса «Многопрофильная клиника XXI века. Инновации в медицине - 2021». ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова //СПб. 2021.

9. Микрюкова, Н.В. Влияет ли стресс на ДАО при синдроме непереносимости гистамина?/ Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Материалы XI международной научной конференции. «Многопрофильная клиника XXI века. Инновации и передовой опыт», ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова //СПб. 2022.

10. Микрюкова, Н.В. Синдром непереносимости гистамина, современное представление: место диаминооксидазы./ Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Журнал «Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости» — 2022.— № 3-4 (101-102). — С. 60-61

11. Микрюкова, Н.В. Механизмы нейроиммунного воспаления у спасателей и пожарных, роль SP в патогенезе хронической крапивницы./ Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // Материалы XI международной научной конференции. «Многопрофильная клиника XXI века. Инновации и передовой опыт», ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова //СПб. 2023.

12. Микрюкова, Н.В. Роль SP в патогенезе хронической крапивницы./ Н.В. Микрюкова, Н.М. Калинина // «Российский иммунологический журнал» — 2023.— № 2 (26). — С. 141-148.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ХК – хроническая крапивница

ДАО - диаминооксидаза

SP - Substance P, Субстанция P

IgE – иммуноглобулины класса E

СРБ – С-реактивный белок

FCεRI - Fc-эпсилон RI, высокоаффинный IgE-рецептор

MRGPR - Mas-рецепторы G-связанных белков

IL – интерлейкин

Th – Т-хелперы

CD – кластер дифференцировки, cluster of differentiation

IL – интерлейкин, interleukin