

## Особенности цитокинового профиля у детей с расстройством аутистического спектра

Худякова М.И.<sup>1</sup>, Черевко Н.А.<sup>1</sup>, Новиков П.С.<sup>1</sup>, Березовская К.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634055, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> ООО «Центр семейной медицины»  
Россия, 634050, г. Томск, ул. Трифонова, 22

### РЕЗЮМЕ

**Цель работы:** выявить уровень концентрации цитокинов IL-4, I-L6, IL-10, IL-17, IFN $\gamma$  в сыворотке крови у детей с расстройством аутистического спектра (РАС).

**Материалы и методы.** Материалом исследования служили образцы крови, полученные от детей двух групп исследования: детей с расстройством аутистического спектра ( $n = 93$ ) и клинически здоровых детей ( $n = 30$ ). Средний возраст в обеих группах составил ( $7 \pm 2$ ) лет.

В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа определяли концентрацию цитокинов IL-17A (с применением набора Bender Medsystems, Австрия) и IL-4, IL-6, IL-10, IFN $\gamma$  (Вектор-Бест, Россия). Оценку когнитивных и психофизиологических показателей проводили с помощью анкеты Autism Treatment Evaluation Checklist (ATEC).

**Результаты.** У детей с РАС повышены значения концентрации IL-17A ( $U = 54$ ;  $p = 0,015$ ) и IFN $\gamma$  ( $U = 4,64$ ;  $p = 0,006$ ) и снижены – IL-6 ( $U = 327$ ;  $p = 0,001$ ) и IL-4 ( $U = 177$ ;  $p = 0,001$ ) по сравнению с этими показателями у детей в контрольной группе. Установлены корреляции между концентрацией IL-6 и IL-4 ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,05$ ); между IL-17A и IFN $\gamma$  ( $r = 0,41$ ;  $p < 0,05$ ), IL-6 ( $r = 0,87$ ;  $p < 0,05$ ), количеством баллов АТЕС ( $r = 0,24$ ;  $p < 0,05$ ) у детей с РАС.

**Заключение.** Установленный нами дисбаланс цитокинов у детей с РАС подтверждает гипотезу его участия в развитии РАС и свидетельствует об Th17-направлении иммунорегуляции в патогенезе расстройств аутистического спектра.

**Ключевые слова:** расстройство аутистического спектра, цитокины, нейроиммунное воспаление, интерлейкин 17A.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена за счет средств ООО «Центр семейной медицины» (г. Томск), благотворительного фонда «Созидание» (г. Москва), с участием ТРОО «АРДА «АУРА» (г. Томск).

**Соответствие принципам этики.** Все родители детей подписали информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом ООО «Центра семейной медицины» (протокол № 7 от 18.03.2019).

**Для цитирования:** Худякова М.И., Черевко Н.А., Новиков П.С., Березовская К.В. Особенности цитокинового профиля у детей с расстройством аутистического спектра. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (4): 174–178. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-4-174-178>.

✉ Худякова Мария Ивановна, e-mail: khudiakovami@mail.ru.

## Features of the cytokine profile in children with autism spectrum disorder

Khudiakova M.I.<sup>1</sup>, Cherevko N.A.<sup>1</sup>, Novikov P.S.<sup>1</sup>, Berezovskaya K.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634055, Russian Federation

<sup>2</sup> Center of Family Medicine  
22, Trifonova Str., Tomsk, 634055, Russian Federation

### ABSTRACT

**The aim of the study:** to reveal the particularities of the concentration of cytokines IL4, IL6, IL10, IL17, IFN $\gamma$  in blood serum in children with autism spectrum disorder (ASD).

**Materials and methods.** The blood samples obtained from children of two study groups: children with autism spectrum disorder ( $n = 93$ ) and clinically healthy children ( $n = 30$ ), served as the material for the study. Cytokine concentrations were determined in blood serum using the Bender Medsystems (Austria) kits for IL17A and Vector-Best (Russia) kits for IL4, IL6, IL10, IFN $\gamma$ . Serum cytokine concentrations were determined by enzyme immunoassay using kits for IL17A (Bender Medsystems, Austria), IL4, IL6, IL10, IFN $\gamma$  (Vector-Best, Russia). Assessment of cognitive and psychophysiological indicators in children was performed using the Autism Treatment Evaluation Checklist (ATEC).

**Results.** The concentrations of IL17A ( $U = 54$ ;  $p = 0,015$ ) and IFN $\gamma$  ( $U = 4.64$ ;  $p = 0,006$ ) were increased and the concentrations of IL6 ( $U = 327$ ;  $p = 0.001$ ) and IL4 ( $U = 177$ ;  $p = 0.001$ ) were decreased in children with ASD.

The concentration of IL6 correlates with the concentration of IL4 ( $r = 0.68$ ;  $p < 0.05$ ). The concentration of IL17A correlates with the concentration of IFN $\gamma$  ( $r = 0.41$ ;  $p < 0.05$ ), IL6 ( $r = 0.87$ ;  $p < 0.05$ ) and ATEC score ( $r = 0.24$ ;  $p < 0.05$ ) in the group of children with ASD.

**Conclusion.** The cytokine disbalance in children with ADS, which was observed in our study, confirms the hypothesis of their participation in the development of the disease and clearly shows the Th17 immunoregulation pathway in the pathogenesis of the autism spectrum disorder.

**Key words:** autism spectrum disorder, cytokines, neuroimmune inflammation, interleukin 17A.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was sponsored by the Center of Family Medicine (Tomsk, Russia), "Sozidaniye" charity fund (Moscow, Russia), and Association of Parents of Autistic Children "AURA" (Tomsk, Russia).

**Conformity with the principles of ethics.** All parents of the children signed an informed consent for complex research and processing of personal data. The study was approved by the local ethics committee under the Center of Family Medicine (Protocol No. 7 of 18.03.2019).

**For citation:** Khudiakova M.I., Cherevko N.A., Novikov P.S., Berezovskaya K.V. Features of the cytokine profile in children with autism spectrum disorder. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (4): 174–178. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-4-174-178>.

## ВВЕДЕНИЕ

Расстройство аутистического спектра (РАС) – современная проблема XXI в., с каждым годом увеличивается количество детей с таким диагнозом. По данным статистики, распространенность РАС составляет 1 : 68 среди детей в возрасте до 8 лет [1].

Анализ научных источников за последние 5 лет, посвященных изучению РАС, демонстрирует активный рост интереса к данному заболеванию во всем мире. Однако по-прежнему актуальным остается вопрос о патогенезе РАС. Одной из современных теорий развития РАС является гипотеза нейроиммунного воспаления, связанная с нарушением

пищевой толерантности к продуктам и когнитивными дисфункциями с вовлечением врожденного, адаптивного иммунитета, микробиоты [2, 3]. В проведенных ранее исследованиях мы выявляем особенности пищевой гиперчувствительности у детей с РАС [4].

В связи с этим представляется актуальным изучение роли интерлейкина (ИЛ) 17, с которым связывают поддержание иммунного гомеостаза слизистой кишечника; ИЛ-6, интерферона гамма (IFN $\gamma$ ) и цитокинов с противовоспалительными свойствами ИЛ-4 и ИЛ-10 в патогенезе РАС у детей [5].

Цель данного исследования – выявить уровень концентрации цитокинов ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17,

IFN $\gamma$  в сыворотке крови у детей с расстройством аутистического спектра.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на базе поликлинического отделения ООО «Центр семейной медицины». В нем приняли участие 123 ребенка, которые были разделены на две группы: основную ( $n = 93$ , стаж постановки диагноза РАС различной степени тяжести составил 4–5 лет) и контрольную ( $n = 30$ , соматически здоровые дети). Средний возраст детей в обеих группах составил ( $7 \pm 2$ ) лет. В обеих группах детей ранее мы выделили дифференцированные реакции пищевой гиперчувствительности [4]. Все родители детей подписали информированное согласие на проведение комплексных исследований и обработку персональных данных.

В качестве материала исследования использовали кровь, взятую из подкожных вен области локтевого сгиба ладонь. Оценка концентрации цитокинов в сыворотке крови была произведена методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением наборов Bender Medsystems (Австрия) к IL-17A и «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия) к IL-4, IL-6, IL-10, IFN $\gamma$ .

На период сдачи анализа крови для оценки показателей когнитивных и психофизиологических изменений у детей с РАС, а также определения степени тяжести заболевания родители детей на основании собственных наблюдений заполняли специализированную анкету Autism Treatment Evaluation Checklist (АТЕС). Результаты анкетирования родителей детей контрольной группы не превышали 10 баллов, что свидетельствовало об отсутствии заболевания у детей.

Статистический анализ был выполнен в программе IBM SPSS Statistics 23.0 (США) с использованием критериев Колмогорова – Смирнова,  $U$ -критерия Манна – Уитни,  $W$ -критерия Вилкоксона и коэффициента ранговой корреляции Спирмена ( $r$ ). Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me (Q_1 - Q_3)$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования показано, что концентрация IL-17A у детей с РАС превышает таковую, измеренную у детей контрольной группы ( $U = 54$ ;  $p = 0,015$ ), (таблица).

IL-17A является провоспалительным цитокином, который продуцируется рядом иммунных клеток человека, включая клетки Th17, нейтрофилы и мононуклеарные клетки периферической крови, врожденные лимфоидные клетки типа 3 (ILC3).

Большинство из этих клеток располагаются в барьерных тканях, где они участвуют в поддержании гомеостаза кишечника. Вырабатываемые клетками ILC3 цитокины IL-17A, IL-17F и IL-22 усиливают барьерную функцию эпителия кишечника, стимулируя выработку муцина и антимикробного пептида [6]. Нарушение регуляции клеток Th17 и продукции IL-17A связывают с развитием многочисленных воспалительных и аутоиммунных заболеваний, в том числе и воспалительных заболеваний кишечника [7].

Таблица

Концентрация цитокинов у детей с расстройством аутистического спектра, пг/мл, $Me (Q_1 - Q_3)$		
Цитокин	Дети с РАС, $n = 93$	Контрольная группа, $n = 30$
IL-4	1,75 (1,00–14,93)*	16,30 (15,58–17,13)
IL-6	3,20 (1,00–15,33)*	15,75 (18,30–20,43)
IL-10	17,45 (15,38–20,89)	17,50 (16,28–19,48)
IL-17A	9,58 (3,76–26,75)*	6,85 (2,95–15,05)
IFN $\gamma$	14,90 (13,12–16,10)*	13,35 (11,85–14,20)

\*  $p < 0,05$ .

В литературе приводятся данные об эффекторной роли IL-17A в формировании вызванных материнской иммунной активацией поведенческих аномалий у потомства, раскрывающие важную связь между нейровоспалительным состоянием и поведенческими проявлениями [8, 9]. Важно отметить, что самые высокие значения концентрации IL-17A в крови у обследованных нами детей с РАС были зарегистрированы в случаях тяжелых проявлений заболевания, определенных по результатам теста АТЕС ( $r = 0,24$ ;  $p < 0,05$ ). Это может указывать на то, что увеличение концентрации IL-17A в сыворотке тесно связано со степенью тяжести РАС.

Увеличение концентрации IL-17A в сыворотке крови у детей с РАС может быть связано с повышением уровня IFN $\gamma$  ( $r = 0,41$ ;  $p < 0,05$ ). Есть данные, что увеличение продукции IFN $\gamma$  связано с пластичностью Th17-клеток. Повторная стимуляция различными микробными антигенами в дифференцированных клетках приводит к транскрипционным изменениям в линии Th17. Примером этой пластичности являются Th17/Th1-клетки или клетки, которые могут секретировать как IL-17A, так и IFN $\gamma$  – клетки ILC3 [10, 11].

В свою очередь, IL-17A является стимулятором продукции провоспалительных цитокинов, IFN $\gamma$  и IL-12 макрофагами [12]. Это может объяснять повы-

шение концентрации IFN $\gamma$  в сыворотке детей с РАС по сравнению с показателями в группе детей контрольной группы ( $U = 4,64$ ;  $p = 0,006$ ). В литературе описано, что прямое действие IFN $\gamma$  в повышенных концентрациях может препятствовать нормальному развитию нервной системы, влияя на морфологию дендритов и образованию синапсов, что может приводить к развитию РАС [13].

Как показывает проведенное нами исследование, у детей с РАС концентрация IL-17A обнаруживает однонаправленное изменение с уровнем IL-6 ( $r = 0,87$ ;  $p < 0,05$ ), концентрация которого снижена ( $U = 327$ ;  $p = 0,001$ ). Известно, что IL-6 – ключевой фактор дифференцировки клеток Th17 [14], относится к многофункциональным цитокинам, вызывающим клеточные ответы, которые опосредуют воспаление, нейрогенез, глиогенез, рост и выживаемость клеток, миелинизацию и демиелинизацию в центральной нервной системе [15]. Кроме того, обладает регенеративной или противовоспалительной активностью и участвует в регуляции метаболических и нервных процессов [16]. Таким образом, IL-6 участвует в активации иммунной системы, гипотетически провоцируя развитие РАС-подобных фенотипов у потомства [17].

В свою очередь, у детей с РАС концентрация IL-6 коррелирует с концентрацией IL-4 ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,05$ ), которая оказалась ниже аналогичных показателей у детей контрольной группы ( $U = 177$ ;  $p = 0,001$ ). Установлено, что IL-4 участвует в когнитивных процессах в качестве нейропротектора [18]. Он активируется во время воспаления центральной нервной системы, вызывая альтернативную активацию глиальных клеток, защищая их от апоптоза. Возможно, снижение концентрации IL-4 связано с развитием РАС. Концентрация IL-10 у детей с РАС, по нашим данным, не отличается в обеих группах.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установленный нами дисбаланс цитокинов у детей с РАС подтверждает гипотезу его участия в развитии РАС и свидетельствует об Th17-направлении иммунорегуляции в патогенезе расстройств аутистического спектра. Однако требуется дальнейшее изучение особенностей цитокинов у пациентов с РАС, которое позволит понять механизм, посредством которого воспаление способствует развитию нейродегенеративных расстройств, таких как РАС.

## ЛИТЕРАТУРА

- Christensen D.L., Baio J., Braun K.V.N., Bilder D., Charles J., Constantino J.N. Prevalence and characteristics of autism

- spectrum disorder among children aged 8 years-autism and developmental disabilities monitoring network. *MMWR Surveillance Summaries*. 2016; 65 (3): 1–23. DOI: 10.15585/mmwr.ss6503a1.
- Hu C.C., Xu X., Xiong G.L., Xu Q., Zhou B.R., Li C.Y., Qin Q., Liu C.X., Li H.P., Sun Y.J., Yu X. Alterations in plasma cytokine levels in Chinese children with autism spectrum disorder. *Autism Research*. 2018; 11 (7): 989–999. DOI: 10.1002/aur.1940.
- Fattorusso A., Di Genova L., Dell’Isola G.B., Mencaroni E., Esposito S. Autism spectrum disorders and the gut microbiota. *Nutrients*. 2019; 11 (3): 521. DOI: 10.3390/nu11030521.
- Худякова М.И., Черевко Н.А., Скирневская А.В., Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Березовская К.В. Особенности пищевой гиперчувствительности у детей с расстройством аутистического спектра. *Acta Biomedica Scientifica*. 2019; 4 (5): 61–68. DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.10.
- Eftekharian M.M., Ghafouri-Fard S., Noroozi R., Omrani M.D., Arsang-Jang S., Ganji M., Gharzi V., Noroozi H., Komaki A., Mazdeh M., Taheri M. Cytokine profile in autistic patients. *Cytokine*. 2018; 108: 120–126. DOI: 10.1016/j.cyto.2018.03.034.
- Ohnmacht C., Marques R., Presley L., Sawa S., Lochner M., Eberl G. Intestinal microbiota, evolution of the immune system and the bad reputation of pro-inflammatory immunity. *Cellular Microbiology*. 2011; 13 (5): 653–659. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2011.01577.x.
- Wilke C.M., Bishop K., Fox D., Zou W. Deciphering the role of Th17 cells in human disease. *Trends in Immunology*. 2011; 32: 603–611. DOI: 10.1016/j.it.2011.08.003.
- Wong H., Hoeffler C. Maternal IL-17A in autism. *Experimental Neurology*. 2018; 299 (PtF): 228–240. DOI: 10.1016/j.expneurol.2017.04.010.
- Choi G.B., Yim Y.S., Wong H., Kim S., Kim H., Kim S.V., Hoeffler C.A., Littman D.R., Huh J.R. The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science*. 2016; 351 (6276): 933–939. DOI: 10.1126/science.aad0314.
- Sandquist I., Kolls J. Update on regulation and effector functions of Th17 cells. *F1000Research*. 2018; 7: 205. DOI: 10.12688/f1000research.13020.1.
- Duhen R., Glatigny S., Arbelaez C.A., Blair T.C., Oukka M., Bettelli E. Cutting edge: The pathogenicity of IFN- $\gamma$ -producing Th17 cells is independent of T-bet. *The Journal of Immunology*. 2013; 190 (9): 4478–4482. DOI: 10.4049/jimmunol.1203172.
- AL-Ayadhi L.Y., Mostafa G.A. Elevated serum levels of interleukin-17A in children with autism. *Journal of Neuroinflammation*. 2012; 9 (1): 158. DOI: 10.1186/1742-2094-9-158.
- Leipzig N.D., Xu C., Zahir T., Shoichet M.S. Functional immobilization of interferon-gamma induces neuronal differentiation of neural stem cells. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2010; 93 (2): 625–633. DOI: 10.1002/jbm.a.32573.
- Kuchroo V.K., Awasthi A. Emerging new roles of Th17 cells. *European Journal of Immunology*. 2012; 42 (9): 2211–2214. DOI: 10.1002/eji.201242872.

15. Erta M., Quintana A., Hidalgo J. Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. *International Journal of Biological Sciences*. 2012; 8 (9): 1254–1266. DOI: 10.7150/ijbs.4679.
16. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011; 1813 (5): 878–888. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2011.01.034.
17. Atladottir H.O., Thorsen P., Ostergaard L., Schendel D.E., Lemcke S., Abdallah M., Parner E.T. Maternal infection requiring hospitalization during pregnancy and autism spectrum disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2010; 40 (12): 1423–1430. DOI: 10.1007/s10803-010-1006-y.
18. Gadani S.P., Cronk J.C., Norris G.T., Kipnis J. IL-4 in the brain: a cytokine to remember. *The Journal of Immunology*. 2012; 189 (9): 4213–4219. DOI: 10.4049/jimmunol.1202246.

---

## Сведения об авторах

**Худякова Мария Ивановна**, соискатель, ординатор, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-6320-5017.

**Червко Наталья Анатольевна**, д-р мед. наук, профессор, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1023-4137.

**Новиков Павел Сергеевич**, соискатель, СибГМУ, г. Томск.

**Березовская Ксения Валерьевна**, врач-педиатр, ООО «Центр семейной медицины», г. Томск.

(✉) Худякова Мария Ивановна, e-mail: khudiakovami@mail.ru.

Поступила в редакцию 07.02.2020

Подписана в печать 29.09.2020