

ISSN 1028-7221

Том 9 (18), Номер 3 (1)

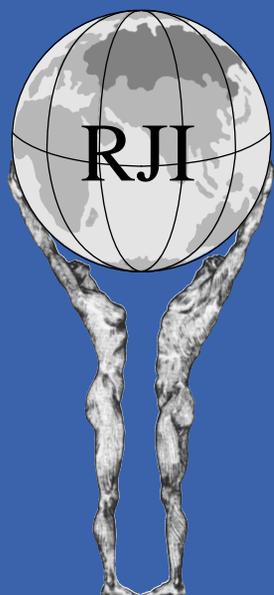
Сентябрь 2015

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

**РОССИЙСКИЙ  
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ  
ЖУРНАЛ**

**RUSSIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY**

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES



<http://www.naukaran.ru>



НАУКА

# KEDRION

БИОФАРМА

---

Keep Life Flowing

## И.Г.Вена

ИММУНОГЛОБУЛИН ЧЕЛОВЕКА НОРМАЛЬНЫЙ  
РАСТВОР ДЛЯ ИНФУЗИЙ

---

ВЫСОКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

ВЫСОКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

ВЫСОКАЯ ПЕРЕНОСИМОСТЬ

АНТИТЕЛА, КОТОРЫЕ ВСЕМ НУЖНЫ



[www.kedrion.com](http://www.kedrion.com)

ООО МЕДИПАЛ-ОНКО - официальный дистрибьютор  
компании KEDRION S.p.A (Кедрион)  
на территории Российской Федерации  
[www.medipal-onko.ru](http://www.medipal-onko.ru)

*Российская академия наук*

# РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

## Russian Journal of Immunology

### Том 9 (18) №3 (1) 2015 Сентябрь

Журнал основан в 1996 г.  
Выходит 4 раза в год  
ISSN 1028-7221

*Журнал издается под руководством отделения биологических наук РАН  
при участии Российского научного общества иммунологов*

*Главный редактор*  
В.А. Черешнев

*Редакционная коллегия:*

В.А. Козлов (*зам. главного редактора*),  
И.Г. Козлов (*зам. главного редактора*), А.П. Ризопулу (*отв. секретарь*), Г.А. Бочаров,  
Ф.Ю. Гариб, З.Г. Кадагидзе, Э.В. Карамов (*зам. главного редактора*),  
А.В. Караулов, Е.А. Корнева, Н.В. Медуницин, С.А. Недоспасов,  
И.В. Нестерова, Р.В. Петров, А.В. Полевщиков, А.П. Продеус, Р.И. Сепиашвили,  
А.С. Симбирцев, Н.Ю. Сотникова, А.А. Тотолян, Т.Г. Федоскова, И.С. Фрейдлин, Р.М. Хаитов,  
С.Б. Чекнёв, М.В. Черешнева

*Редакционный совет:*

А.Я. Арион, И.П. Балмасова, А.Н. Глушков, И.С. Гущин, М.В. Дегтярева,  
Н.А. Зорин, И.П. Корюкина, В.М. Манько, А.А. Михайлова, Г.А. Невинский,  
Ю.С. Оводов, М.Б. Раев, С.Ю. Родионов, А.Г. Румянцев,  
Л.П. Сизякина, И.А. Тузанкина, В.С. Ширинский, К.В. Шмагель

*Международный редакционный совет (по согласованию)*

И. Беляков (США), Г.Н. Дранник (Украина), Д.К. Новиков (Белоруссия),  
А. Полторац (США), А. Руденский (США), М.С. Vene (Франция),  
J.L. Fahey (США), М. Sela (Израиль), Н. Stockinger (Австрия)

*Адрес редакции:* 119991 ГСП-1 Москва В-334 Ленинский проспект, 32а, каб. 423  
Тел.: 8-903-567-0714, Факс: (495) 434-6212  
E-mail: ruimm@yandex.ru

**Журнал включен в перечень изданий, рекомендованных ВАК  
для публикации научных результатов диссертации на соискание  
ученой степени кандидата и доктора наук**

**Журнал цитируется в Chemical Abstracts, Index Medicus/Medline/PubMed**

Москва  
Издательство "Наука"

**Научно-практическая школа-конференция  
«Аллергология и клиническая иммунология»  
(иммунодиагностика, иммунопрофилактика и иммунотерапия)**

**Крым, Ялта, Ливадия**

**27 сентября – 3 октября 2015 года**

**Организаторы школы-конференции**

**Министерство здравоохранения России  
Министерство здравоохранения Республики Крым  
Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского  
Медицинская академия имени С. И. Георгиевского  
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России  
ФГУП «Гос. НИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА России  
Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов  
Российское научное общество иммунологов  
Российское цитокиновое общество  
Общество с ограниченной ответственностью «Медико-биотехнологический альянс»  
при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований**

**Сопредседатели школы-конференции**

**Хаитов Рахим Мусаевич**, научный руководитель ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, президент РААКИ, академик РАН;  
**Черешнев Валерий Александрович**, директор ИИФ УрО РАН, президент РНОИ, председатель Комитета Государственной Думы по науке и наукоемким технологиям, академик РАН;  
**Текученко Татьяна Дмитриевна**, заместитель начальника управления, зав. отделом организации оказания педиатрической и акушерско-гинекологической помощи МЗ Республики Крым;  
**Иванова Нанули Викторовна**, директор Медицинской академии им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО КФУ им. В. И. Вернадского, профессор  
**Кубышкин Анатолий Владимирович**, проректор по науке Медицинской академии им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО КФУ им. В. И. Вернадского, профессор

**ОРГКОМИТЕТ**

**Координаторы проекта**

Ильина Наталья Ивановна, профессор  
Козлов Иван Генрихович, профессор  
Маркова Татьяна Петровна, профессор  
Симбирцев Андрей Семенович, профессор  
Тришина Светлана Васильевна, профессор

**Ответственный секретарь Оргкомитета**

Лебедев Михаил Федорович, доцент

**Административный секретариат Оргкомитета**

ООО «МЕБИАЛ» - Блотнер Людмила Анатольевна  
ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России - Юрьева Евгения Олеговна

## СПИСОК ЛЕКТОРОВ:

- Абидов Муса Тажудинович, профессор (Серпухов)  
Абидов Адмир Мусаевич (Серпухов)  
Андреева Евгения Борисовна (Москва)  
Афанасьева Ольга Ивановна, профессор  
(Санкт-Петербург)  
Богданова Людмила Андреевна, к.м.н. (Серпухов)  
Борисов Александр Геннадиевич, профессор  
(Красноярск)  
Ваизова Ольга Евгеньевна, профессор (Томск)  
Ганковская Людмила Викторовна, профессор  
(Москва)  
Гариб Фируз Юсупович, профессор (Москва)  
Гудима Георгий Олегович, профессор (Москва)  
Данильчева Инна Владимировна (Москва)  
Дидковский Николай Антонович, д.м.н. (Серпухов)  
Духанин Александр Сергеевич, профессор (Москва)  
Елисютина Ольга Гурьевна, к.м.н. (Москва)  
Жеребцова Вера Анатольевна, к.м.н. (Москва)  
Зверев Виталий Васильевич, академик РАН (Москва)  
Зурочка Александр Владимирович, профессор  
(Челябинск)  
Ильина Наталья Ивановна, профессор (Москва)  
Караулов Александр Викторович, чл.-корр. РАН  
(Москва)  
Кармен Наталья Борисовна, д.м.н. (Серпухов)  
Каряев Александр Георгиевич, к.м.н. (Серпухов)  
Кожерева Виолетта (Москва)  
Козлов Владимир Александрович, академик РАН  
(Новосибирск)  
Козлов Иван Генрихович, профессор (Москва)  
Козлова Яна Игоревна, доцент (Санкт-Петербург)  
Кондратенко Ирина Вадимовна, профессор (Москва)  
Курочка Валерий Кузьмич, к.м.н. (Серпухов)  
Латышева Елена Александровна, к.м.н. (Москва)  
Латышева Татьяна Васильевна, профессор (Москва)  
Лобзин Юрий Владимирович, академик РАН  
(Санкт-Петербург)  
Лусс Людмила Васильевна, профессор (Москва)  
Маевский Евгений Ильич, профессор (Серпухов)  
Малашенкова Ирина Константиновна, к.м.н. (Москва)  
Маркова Татьяна Петровна, профессор (Москва)  
Назарова Евгения Валерьевна, к.м.н. (Москва)  
Недоспасов Сергей Артурович, чл.-корр. РАН (Москва)  
Нестерова Ирина Вадимовна, профессор (Москва)  
Нифантьев Николай Эдуардович, чл.-корр. РАН  
(Москва)  
Пинегин Борис Владимирович, профессор (Москва)  
Пампура Александр Николаевич, д.м.н. (Москва)  
Продеус Андрей Петрович, профессор (Москва)  
Семенов Александр Владимирович, профессор  
(Санкт-Петербург)  
Семин Алексей Алексеевич (Москва)  
Сенников Сергей Витальевич, профессор  
(Новосибирск)  
Сизякина Людмила Петровна, профессор  
(Ростов-на-Дону)  
Симбирцев Андрей Семенович, профессор  
(Санкт-Петербург)  
Смирнова Ирина Николаевна (Москва)  
Супонева Наталья Александровна, д.м.н. (Москва)  
Топтыгина Анна Павловна, д.м.н. (Москва)  
Тотолян Арег Артемович, чл.-корр. РАН  
(Санкт-Петербург)  
Тузанкина Ирина Александровна, профессор  
(Екатеринбург)  
Федоскова Татьяна Германовна, профессор (Москва)  
Феденко Елена Сергеевна, профессор (Москва)  
Хайтов Муса Рахимович, профессор (Москва)  
Хайдуков Сергей Валерьевич, профессор (Москва)  
Ханферян Роман Авакович, профессор (Москва)  
Царьков Алексей Николаевич, профессор (Серпухов)  
Черешнев Валерий Александрович, академик РАН  
(Москва)  
Черешнева Маргарита Владимировна, профессор  
(Москва)  
Чувиров Денис Геннадьевич, доцент (Москва)  
Шульженко Андрей Евгеньевич, профессор (Москва)  
Щербина Анна Юрьевна, профессор (Москва)

## ГЕНЕРАЛЬНЫЕ СПОНСОРЫ ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ

МОУ «ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНОЙ ФИЗИКИ»  
«КЕДРИОН С.П.А.»

## ГЛАВНЫЕ СПОНСОРЫ

ЗАО «Р-ФАРМ»  
ООО «МЕДИПАЛ-ОНКО»

## СПОНСОРЫ

ООО «ФЕРОН», Dr.Reddy's, Астеллас, ООО «Новартис Фарма», «Эгис»

## УЧАСТНИКИ

Биотест Фарма ГмбХ, ООО «КОРУС ФАРМ», ООО «Диа-М»

## СОДЕРЖАНИЕ

---

Том 9 (18), Номер 3 (1), Сентябрь 2015

---

ТЕМАТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ 5

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ 261

---

## НОВАЯ БАД «СТВОЛОГЕН» НА ОСНОВЕ СРЕДСТВА ПЕПТИДНОЙ ПРИРОДЫ ДЛЯ ЗДОРОВОГО И АКТИВНОГО ДОЛГОЛЕТИЯ

Абрамович Р. А., Дейгин В. И., Потанина О. Г.,  
Воробьев А. Н.

*Центр коллективного пользования (Научно-образовательный центр) Российского университета дружбы народов, ООО «Пептос Фарма», Москва, Россия*

Разработан состав и технология БАД «Ствологен», включающих пептид аланил-глутамил-гамма-триптофан натрий, глицин и аскорбиновую кислоту. Подобраны условия и разработаны методы контроля качества и безопасности, включая методики определения подлинности и количественного определения активных компонентов. Подтверждена эффективность разработанной БАД клиническими исследованиями и добровольной сертификацией. Разработанный продукт позволит улучшить качество жизни ослабленным людям после перенесенных заболеваний, при повышенной утомляемости и людям пожилого возраста.

Одной из задач фармацевтической науки является поиск лекарственных средств, способных замедлять процессы старения и способствовать комфортному состоянию организма при возникающих изменениях.

Вещества пептидной природы в последние годы становятся перспективными, благодаря высокой активности и низкой токсичности. В компании «Пептос Фарма» (Москва), созданной на базе института биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН на протяжении нескольких десятилетий проводятся поиски субстанций, избирательно действующих на важнейшие функции организма – иммунную и кроветворную системы. Из множества пептидных соединений был отобран пептид (аланил-глутамил-гамма-триптофан), на основе которого разработан препарат «Ствологен», обладающий выраженным иммуно- и гемостимулирующим действием. На это соединение получены патенты в большинстве ведущих стран мира, включая США, Европейский союз [1], Евразийский патент и ряда др. стран.

Целью настоящей работы было создание БАД «Ствологен» на основе субстанции (аланил-глутамил-гамма триптофан), улучшающей состояние организма после перенесенных за-

болеваний, при переутомлении, для улучшения общего состояния, физической и умственной активности людей пожилого возраста.

В ходе теоретического и экспериментального обоснования разработан состав капсул, включающий субстанцию пептидной природы, аскорбиновую кислоту и глицин, а также лактозу, желатин, магния стеарат. Исследования по разработке состава и технологии капсул проведены в лаборатории промышленной фармацевтической технологии лекарственных средств ЦКП (НОЦ) РУДН (Сертификат соответствия правилам GMP № 14.0838.026 от 25.08.2014 (Система сертификации IQNet)).

Основное действующее вещество БАД «Ствологен» – пептид (цикло- $\{L - \text{аланил} - L - \text{глутамил}(L\text{-триптофан})\}$ натрий, обладает гемостимулирующими свойствами в различных экспериментальных моделях, стимулирует пролиферацию и дифференцировку предшественников Т-лимфоцитов в зрелые иммунокомпетентные клетки, нормализует соотношение Т-хелперы/Т-супрессоры, увеличивает концентрацию цАМФ в предшественниках Т-лимфоцитов. Усиливает неспецифическую резистентность организма, способствует активации фагоцитарных функций нейтрофилов и моноцитов/макрофагов; стимулирует

интерфероногенез и функцию естественных киллеров (в низких дозах). Высоко эффективен при иммунодефицитах Т-супрессорного типа [1-3].

При комбинировании пептида с аскорбиновой кислотой и глицином его положительные свойства значительно повышаются. Аскорбиновая кислота оказывает метаболическое действие, участвует в регулировании окислительно-восстановительных процессов, регулирует иммунологические реакции, способствует фагоцитозу, повышает сопротивляемость организма инфекциям и др. [5].

Глицин – оказывает седативное, мягкое транквилизирующее и слабое антидепрессивное действие; обладает ноотропными свойствами, улучшает память и ассоциативные процессы, повышает умственную работоспособность и др. [5].

При дальнейших исследованиях разработаны показатели качества и безопасности БАД «Ствологен» в Центре контроля качества лекарственных средств ЦКП (НОЦ) РУДН (Аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.21ФЛ 05 от 25.05.2015). С целью определения подлинности предложены методы УФ-спектрофотометрии для идентификации пептида, ВЭЖХ для идентификации пептида и аскорбиновой кислоты и качественные реакции на натрий и аминокислоты.

Подобраны условия и разработаны методики количественного определения аскорбиновой кислоты, глицина и аланил-глутамил-гамма-триптофан натрия в капсулах методом ВЭЖХ. Проведена валидация разработанных методик. Экспериментально доказаны критерии приемлемости методик: специфичность, пригодность хроматографической системы, правильность, прецизионность, линейность и стабильность. Для оценки качества продукта разработаны методики определения показателей: «Масса содержимого капсулы», «Распадаемость», «Влажность содержимого капсулы».

Безопасность БАД подтверждена испытаниями на токсичные элементы (свинец, мышьяк, кадмий, ртуть), пестициды и микробиологическую чистоту в соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011 [4].

Срок годности разработанной БАД (2 года) установлен по данным исследований стабильности продукта в естественных условиях (2,5 года) и методом ускоренного хранения (6 месяцев).

Проведенная экспертная оценка документации и образцов продукции подтвердила качество и безопасность разработанной БАД, позволила провести регистрацию и получить Свидетельство о государственной регистрации БАД «Ствологен» RU.77.99.29.003.E.012589.12.14 от 19.12.2014. С целью подтверждения эффективности разработанной БАД были проведены клинические исследования и добровольная сертификация (сертификат № СДС Б00141), показавшие, что разработанная БАД «Ствологен» обладает антиоксидантной и детоксикационной активностью, иммуномодулирующими свойствами, в основе которых согласно экспериментальным данным лежит способность стимулировать активность собственных стволовых клеток; повышает физическую активность, выносливость, стресс-устойчивость; нормализует сон и память; улучшает качество жизни и защитные способности организма к различным неблагоприятным факторам окружающей среды.

Таким образом, разработан состав и технология БАД «Ствологен» в желатиновых капсулах. – Подобраны условия и разработаны методы контроля качества и безопасности, включая методики определения подлинности и количественного определения активных компонентов. Подтверждена эффективность разработанной БАД клиническими исследованиями и добровольной сертификацией. Разработанный продукт позволит улучшить качество жизни ослабленным людям после перенесенных заболеваний, при повышенной утомляемости и людям пожилого возраста.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дейгин В.И. Евразийский патент № 018548 В1 от 30.08.2013 «Полифункциональные биологически активные соединения». – 24 С.
2. Изучение влияния пептидных производных Дикетопиперазинов на стволовые кроветворные клетки нормального организма и облученные *in vitro* клетки костного мозга / В.И. Дейгин, А.С. Саенко, Ю.А. Семин // Радиационная биология. Радиэкология. – 2011. – том 51. – № 5. – с. 530-535
3. Пострадиационное восстановление кроветворения у мышей под влиянием ствологена / Т.Н. Семенов, О.В. Семина, В.И. Дейгин и др. // Модификация радиационных эффектов. – 2002. – 7 С.
4. ТР ТС 021/2011. Технический регламент Таможенного союза. О безопасности пищевой продукции
5. <http://www.vidal.ru/> Справочник Видаль «Лекарственные средства в РФ».

## NEW BIOLOGICAL ACTIVE SUPPLEMENT "STVOLOGEN" ON THE BASIS OF NATURAL PEPTIDE FOR HEALTHY AND ACTIVE LONGEVITY

Deygin V. I., Abramovich R. A., Potanina O. G., Vorobyov A. N.

The composition and technology of biological active supplement "Stvologen", including peptide alanyl-glutamyl-gamma tryptophan sodium, glycine and ascorbic acid is developed. Conditions are chosen and methods of quality control and safety, including techniques of determination of authenticity and quantitative determination of active components are developed. Efficiency of developed biological active supplement is confirmed by clinical trials and the voluntary certification. The product developed will allow improving quality of life of people of advanced age, the weakened people after the postponed diseases and people with increased fatigue.

---

## ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ И ВЕГЕТАТИВНЫЕ АСПЕКТЫ ПРОФИЛАКТИКИ ФОРМИРОВАНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Аксенова Н. С.<sup>1</sup>, Панков Д. Д.<sup>1</sup>, Панкова Т. Б.<sup>1</sup>,  
Федоскова Т. Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова; <sup>2</sup>ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

В формировании и развитии бронхиальной астмы (БА) принимают участие множество факторов, одним из которых является психоэмоциональный фактор. Целью работы явилось выявление черт характера и вариантов акцентуированной типологии личности, предрасполагающие к возникновению указанной патологии. Проведено психоневрологическое обследование 126 пациентов в возрасте от 10 до 17 лет с верифицированной atopической БА различной степени тяжести течения. По результатам анкетирования с помощью экспресс-теста невротизация выявлена у 80% детей, акцентуация личности выявлена у 46% мальчиков и 72% девочек. У детей без акцентуации отмечено наличие невротизации – 78%, дистимии – 73%, повышенной возбудимости – 26,6%. Отмечено также наличие вегетативной дистонии (симпатикотония – 36,7%, и парасимпатикотония – 23,8%). У 12,2% выявлено значительное ослабление реактивности вегетативной нервной системы. Сочетание психоэмоциональных и вегетативных расстройств, возможно, свидетельствует о нарушении функционирования лимбической системы головного мозга. Полученные данные свидетельствуют о наличии невротического состояния и акцентуация личности у обследованных детей в большинстве случаев, преимущественно у детей со средней тяжестью течения БА, что необходимо учитывать при разработке методов профилактики основного заболевания.

**Введение.** Распространенность бронхиальной астмы (БА) в России составляет 6% [1]. В формировании и развитии заболевания принимают участие множество факторов, одним из которых является психоэмоциональный фактор [2, 3]. Однако в настоящее время не конкретизированы психологические особенности, являющиеся факторами риска формирования указанной аллергопатологии.

**Цель работы.** Выявление черт характера и вариантов акцентуированной типологии личности, предрасполагающие к возникновению бронхиальной астмы.

**Материалы и методы.** Обследовано 126 пациентов в возрасте от 10 до 17 лет с верифицированной atopической бронхиальной астмой, персистирующей, легкой и средней степени тяжести. Из них девочек – 57 (45,3%), маль-

чиков – 69 (54,7%). Обследование включало, наряду с педиатрическим и неврологическим осмотром, проведение экспресс теста «характер личности Панкова-Бородулиной», исследование вегетативной нервной системы (ВНС) по данным мониторинга артериального давления (с функциональными нагрузочными пробами), расчетом индекса Кердо, минутного объема крови, широкий спектр функциональных и ультразвуковых методов обследования, необходимых для уточнения соматических, гемодинамических и неврологических особенностей статуса пациентов.

Психологическое тестирование было направлено на выявление признаков невротизации и акцентуации личности. В остальных случаях фиксировалось наличие превалирования определенных черт личности, выраженность которых была больше в процентном отношении остальных, но не достигала уровня, характерного для акцентуации.

**Полученные результаты.** По результатам анкетирования с помощью экспресс теста невротизация выявлена у 80% детей, акцентуация личности выявлена у 46% мальчиков и 72% девочек. При обследовании мальчиков отмечены следующие особенности: при средне-тяжелой степени БА невротизация и акцентуация личности выявлена у 56%, при легкой степени тяжести – у 40%. На втором месте по частоте при средне-тяжелом течении выявлены признаки дистимии – 35%, при легкой степени тяжести – истеричность (повышенная возбудимость) – 26%. При обследовании девочек со средне-тяжелым течением БА, акцентуация личности выявлена у 81%, при легкой степени тяжести течения заболевания – у 61%. При этом чаще всего у них выявлялись признаки дистимии – 47%. На втором месте по частоте отмечено наличие невротизации – 41%, а также истеричности (возбудимости) – 29%. У детей, которым акцентуация не была установлена, отмечено превалирование определенных черт личности: невротизация – 78%, дистимия – 73%, повышенная возбудимость – 26,6%.

При исследовании вегетативного статуса больше, чем у половины пациентов, отмечено наличие вегетативной дистонии, которая у 36,7% проявлялась в виде симпатикотонии, у 23,8% – парасимпатикотонии. При этом преобладание симпатикотонии было достоверным ( $p < 0,017$ ). У 12,2% обследуемых обнаружено значительное ослабление реактивности

ВНС, что позволяет предполагать, как минимум, нарушение фазовой активности ВНС, а также возможное снижение обратимости неблагополучия, связанного с вегетативно-компенсаторными процессами, что является особенно неудовлетворительным прогностическим признаком [2].

Можно предположить, что сочетание психоэмоциональных и вегетативных расстройств, свидетельствует об активной вовлеченности в происходящие патологические процессы лимбической системы головного мозга.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о наличии невротического состояния и акцентуация личности у обследованных детей в подавляющем большинстве случаев. Имеются признаки того, что в группах со средней тяжестью течения заболевания эти особенности встречались чаще, чем в группах с легкой тяжестью течения БА. При этом и у мальчиков, и у девочек отмечено наличие вариантов акцентуации – дистимии и истеричности. Наличие именно этих двух форм акцентуации или превалирующих черт характера личности может оказаться не случайным.

Пациентов с дистимией отличает повышенная тревожность, нервозность, наличие постоянных опасений, в том числе и касающихся перспективы оздоровления, которые, таким образом, «программируют» организм на нежелательное развитие БА, что может приводить к такому варианту развития динамических процессов на уровне лимбической системы, который опасен вероятностью частых обострений заболевания и усилением их тяжести, особенно при повышенной нервозности, что и было отмечено в ходе выполнения данного исследования.

При истерии отмечается избыточная реактивность динамических процессов на уровне лимбической системы. Пациентов отличает повышенная внушаемость и самовнушаемость. В связи с этим их эмоциональное и соматическое состояние весьма лабильно, особенно на фоне невротизирующих переживаний, что при наличии хронического заболевания может приводить к развитию и декомпенсации БА.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о необходимости учета акцентуации личности и превалирующих черт характера истерической и дистимической направленности, особенно в случае присутствия невротического расстройства, при разработ-

ке методов профилактики БА, которые, в том числе, могут включать применение медикаментозных средств, направленных на восстановление функции лимбической системы головного мозга, а также проведение психотерапии по показаниям.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ильина Н.И., Богова А.В. Эпидемиология аллергии. Физиология и патология иммунной системы. – 2004. – № 2. – с. 4–10.
2. Панков Д.Д., Ковригина Е.С., Федоскова Т.Г. К вопросу о фундаментальных и методологических аспектах реабилитологии как научной и практической отрасли. Вестник практической психологии образования. – 2012. – № 3 (36). – с.32–36
3. Панков, Д.Д., Федоскова Т.Г., Аксенова Н.С., Панкова Т.Б. К вопросу о неврологической и соматической основе состояния у больных с аллергопатологией. Сборник трудов XIII Международного конгресса “Современные проблемы иммунологии, аллергологии и иммунофармакологии” – М. – 2015 г. – с. 96–97

### NEUROPSYCHIATRIC AND VEGETATIVE ASPECTS OF THE PREVENTION OF THE FORMATION OF BRONCHIAL ASTHMA

Aksyenova N.S.<sup>1</sup>, Pankov D.D.<sup>1</sup>, Pankova T.B.<sup>1</sup>, Fedoskova T.G.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Russian national research medical University named after Pirogov; <sup>2</sup>State Scientific Research Center – Institute of Immunology, Moscow, Russia

In the formation and development of bronchial asthma (BA) involves many factors, one of which is the emotional factor. The aim of this study was the identification of traits and variants accentuation of personality typology predisposing to BA. Conducted psycho-neurological examination of the 126 patients aged 10 to 17 years with confirmed atopic BA varying degrees of severity. According to the results of the survey using the rapid test neuroticism were detected in 80% of children accentuation personality was detected in 46% of boys and 72% of girls. In children without accentuation marked by the presence of neurotic – 78%, dysthymia-73%, increased excitability-26,6%. Also observed the presence of vegetative dystonia (sympathicotonia – 36,7%, parasympathicotonia – 23,8%). In 12,2% of identified significant weakening of the reactivity of the autonomic nervous system. The combination of psycho-emotional and vegetative disorders, may indicate the disruption of the functioning of the limbic system of the brain. The data indicate the presence of a neurotic state and the accentuation of the personality of the surveyed children in most cases, mainly in children, with an average severity of BA that must be considered when developing methods of prevention of the underlying disease.

---

### ЭФФЕКТ ПОЛИОКСИДОНА НА ДИНАМИКУ РАЗВИТИЯ РАДИОМУКОЗИТА В ТЕРАПИИ СОПРОВОЖДЕНИЯ ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ОРОФАЦИАЛЬНОЙ ЗОНЫ

Альтман Е. В.

ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский университет,  
Челябинск, Россия

Проведено изучение клинико-стоматологической динамики развития радиомукозита на фоне приема иммуномодулятора Полиоксидония в терапии сопровождения химиолучевого лечения плоскоклеточного рака ротовой полости II, III стадии. Установлены положительные эффекты иммуномодулятора, в виде снижения частоты развития радиомукозитов тяжелой степени тяжести, наличия цитопротекторного действия препарата на эпителиальные клетки, о чем свидетельствует снижение пародонтального индекса, что позволяет продолжить основной курс химиолучевой терапии.

Применение химиолучевой терапии в лечении плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта сопровождается развитием лучевых мукозитов различной степени тяжести [1]. Радиорезистентность злокачественных опухолей, вынуждает применять высокие суммарные дозы ионизирующего излучения, превышающие толерантность здоровых тканей, что приводит к раннему развитию лучевых поражений слизистых. Содержание в мукозаливарном секрете антиадгезивных, биостатических, биоцидных факторов, иммунокомпетентных клеток, цитокинов во многом определяет возникновение, течение и исход многих патологических процессов ротовой полости [2]. Применение иммуномодуляторов локального и системного действия с целью снижения частоты и выраженности лучевых мукозитов является перспективным направлением иммуноонкологии.

В последнее десятилетие стали активно применять препараты, влияющие на функции иммунной системы, как на локальном, так и на системном уровне. При этом, большинство исследователей сходятся во мнении одновременного назначения иммуномодулирующих препаратов и проведения химиолучевой терапии, не дожидаясь развития клинических проявлений мукозита.

**Целью исследования** явилось изучение клинико-стоматологической динамики развития радиомукозита на фоне приема иммуномодулятора Полиоксидония в терапии сопровождения химиолучевого лечения плоскоклеточного рака ротовой полости II, III стадии.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось на базе отделения радиологии Челябинского окружного областного онкологического диспансера. Клинически и иммунологически обследовано 74 пациента с гистологически верифицированным плоскоклеточным раком СОПР II–III стадии, средний возраст которых составил  $58 \pm 2,4$  года. Всем пациентам назначена химиолучевая (ХЛТ) терапия в режиме динамического (3 фракции по 4 Гр, затем с разовой дозой 2 Гр, 5 раз в неделю до суммарной очаговой дозы 38–40 Гр) или традиционного фракционирования (5 фракций по 2 Гр, 5 раз в неделю до суммарной очаговой дозы 44 Гр). После рандомизации сформированы 2 группы: 40 чел. – получали только ХЛТ; 34 чел. – получали ХЛТ в сопровождении иммуномодулятора Полиоксидония. Полиоксидоний вводи-

ли внутривенно капельно 6 мг 1 раз в сутки по схеме в 1, 2, 4, 7, 10, 13 дни и параллельно ежедневно 2 раза в день проводилась обработка слизистых ротовой полости препаратом в стандартном рабочем разведении. Курсовая доза 36 мг. Развитие радиомукозита клинически диагностировали согласно 4 степеням тяжести [3] на 16 день от начала терапии.

Оценку стоматологического статуса пациентов раком слизистой оболочки полости рта проводили с помощью расчета гингивального индекса РМА в модификации С. Parma (1960) и пародонтального индекса СРITN.

**Результаты и обсуждение.** Согласно современным представлениям патогенез мукозита представляет собой 5 последовательных фаз: инициации, развития реакции и генерации сигнальных мессенджеров, усиления и передачи сигнала, изъязвления и воспаления и заживления. Повреждение клеточных структур сопровождается формированием воспалительного отека, резким уменьшением количества слоев эпителия, изъязвлением и присоединением инфекции, выраженными болевыми ощущениями, что является причиной для прерывания ХЛТ. Вынужденные перерывы неизбежно ведут к ухудшению результатов лечения, поскольку в результате перерывов происходит репопуляция опухолевых клеток и формирование радиорезистентности опухоли.

Согласно проведенному нами клинико-стоматологическому исследованию состояния слизистой ротовой полости на фоне лечения, частота встречаемости радиомукозита 1 и 2 степени среди пациентов, получающих в качестве терапии сопровождения иммуномодулятор Полиоксидоний, составила суммарно 87,05%, что достоверно выше в сравнении с группой получающей традиционную химиолучевую терапию (10,25%), что, вероятно, связано с выраженным иммуностимулирующим и цитопротекторным свойством Полиоксидония в отношении пула клеток-эффекторов врожденного иммунитета и позволило продолжить основное лечение.

Известно, что клинически значимым для прерывания ХЛТ является 3 степень тяжести радиомукозита. Тяжелые лучевые поражения слизистых полости рта (3 и 4 степени) отмечены у 75% пациентов, получающих только стандартную ХЛТ, соответственно сравнительно легкое течение лучевых поражений

СОПР зафиксировано у 25% пациентов данной группы. Способность иммуномодулятора Полиоксидоний нивелировать проявления лучевых осложнений, является основанием для его успешного применения в качестве терапии сопровождения химиолучевого лечения у пациентов с раком СОПР.

Общее число пациентов, имеющих радиомукозит 3 степени в группе получающей стандартную ХЛТ составило 23 (57,5%), среди них прервали курс терапии 19 человек (82,6%), продолжили лечение 4 пациента (17,3%). В группе получающей дополнительно Полиоксидоний мукозит 3 степени имели 7 чел. (20,5%), прервали лечение 5 чел. (71,4%), продолжили 2 пациента (28,5%), что достоверно отличалось от группы сравнения.

Достаточно показательной оказалась динамика стоматологических пародонтального (СРITN) и гингивального (РМА) индексов.

Индекс СРITN, характеризующий состояние пародонта, на 16 сутки проведения ХЛТ увеличился с  $2,7 \pm 0,14$  до  $3,0 \pm 0,1$ , гингивальный индекс РМА вырос с 65% до 78%, что в целом характеризует нарастание тяжести пародонтальных поражений, связанное с топическим лучевым воздействием на радиочувствительные ткани. В группе пациентов, получающих Полиоксидоний с первого дня ХЛТ в динамике на 16 сутки лечения отмечено достоверное снижение пародонтального индекса СРITN с  $3,1 \pm 0,2/3,0 \pm 0,2$ , что может быть следствием цитопротекторного и иммуномодулирующего действия Полиоксидония, однако значения гингивального индекса составили имели тен-

денцию к повышению с  $63,4 \pm 3,4$  до  $70,2 \pm 4,2$ , что связано с высокой радиочувствительностью гингивальных тканей.

Таким образом, проведенное нами клинико-стоматологическое исследование эффективности иммуномодулятора Полиоксидоний, в качестве терапии сопровождения химиолучевого лечения пациентов страдающих раком слизистой оболочки полости рта, показало положительный эффект препарата в виде снижения частоты развития радиомукозитов тяжелой степени тяжести, наличия цитопротекторного действия препарата на эпителиальные клетки, о чем свидетельствует снижение пародонтального индекса, что позволяет продолжить основной курс химиолучевой терапии. В целом, установленные положительные клинические эффекты Полиоксидония позволяют рекомендовать его в качестве препарата сопровождения химиолучевой терапии пациентов с раком СОПР.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нуриева Н. С. Разработка и оценка эффективности методов профилактики и лечения радиомукозита слизистой оболочки полости рта: автореф. Дис. ... канд. Мед. Наук / Н. С. Нуриева. – Челябинск, 2006. – 22 с.
2. Теплова С. Н. Секреторный иммунитет / С. Н. Теплова, Д. А. Алексеев. – Челябинск: Челяб. Дом печати, 2002. – 200 с.
3. Sonis S. Prevention and manadement of oral mukositis induced by antyneoplastic therapy / S. Sonis, S. Clarc // Oncology. – 1991. – Vol. 5, N 12. – P.11-15

### EFFECT ON THE DYNAMICS OF POLIOKSIDONIJA RADIOMUKOZITA IN THERAPY SUPPORT CHEMORADIOTHERAPY SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF OROFACIAL REGION

Altman E.

*Medical University of South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia*

The study of clinical and dental development dynamics radiomukozita in patients receiving immunomodulator therapy Polyoxidonium support chemoradiation therapy of squamous cell carcinoma of the oral cavity II, III stage. The positive effects of the immunomodulator, in the form of reducing the incidence of severe radiomukozitov severity, presence of cytoprotective effect of the drug on epithelial cells, as evidenced by the reduction in periodontal index that allows you to continue the main course of chemoradiotherapy.

## ВЛИЯНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ *BACILLUS SP.* НА ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ЛИМФОЦИТОВ В КОСТНОМ МОЗГЕ И ТИМУСЕ

Бажин А. С., Новикова М. А., Каленова Л. Ф.

Тюменский научный центр СО РАН, Тюмень, Россия

В эксперименте на лабораторных животных установлено, что введение штамма M3 *Bacillus sp.* в дозе  $0,005 \cdot 10^6$  микробных клеток на животное способствует увеличению экспрессии рецепторов CD34<sup>+</sup>CD117<sup>+</sup> и CD25<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup> на клетках костного мозга, CD25<sup>+</sup>TCR<sup>+</sup>max и CD44<sup>+</sup>TCR<sup>+</sup> на лимфоцитах в тимусе.

**Ключевые слова:** реликтовые микроорганизмы, *Bacillus sp.*, дифференцировка лимфоцитов, костный мозг, тимус

**Актуальность.** Обнаружение сообществ микроорганизмов в многолетнемерзлых породах разного геологического возраста и генезиса является свидетельством природной «криоконсервации» древних генов в виде «живых ископаемых». В стратегии самосохранения в криогенных средах бактерии выработали разнообразные механизмы адаптации, в том числе – способны быстро репарировать свою структуру; обладают высокой стрессоустойчивостью; синтезируют внеклеточные метаболиты со свойствами сигнальных молекул, которые функционируют в очень низких концентрациях, обладают неспецифическим действием и могут оказывать перекрестный эффект, в том числе на клетки человека [1]. Появились первые сообщения, что метаболиты криогенных бактерий *Bacillus subtilis*, выделенных из мерзлотных почв Якутии, способствуют повышению активности иммунной системы и снижению заболеваемости животных в 5-20 раз [2]. Ранее нами было установлено, что один штамм микроорганизмов (*Bacillus sp.*) из «вечной» мерзлоты Центральной Якутии способен оказывать позитивное влияние на качество и продолжительность жизни животных [3], а также функциональную активность клеточного и гуморального иммунитета [4]. Однако изучению влияния криогенных микроорганизмов на гемо- и лимфопоэз уделяется недостаточно внимания. Актуальность подобного роста исследований ассоциируется с важностью проблемы создания новых препаратов, способных модулировать активность лимфопоэза.

**Цель работы:** изучить влияние микроорганизмов *Bacillus sp.* из многолетнемерзлых пород на дифференцировку лимфоцитов в костном мозге и тимусе.

**Методы исследования.** В качестве объекта исследования выбран штамм M3 криогенных, реликтовых микроорганизмов (РМО) *Bacillus sp.*, выделенных из образцов мерзлых пород Мамонтовой горы (Центральная Якутия). Штамм депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ФГУП ГосНИИГенетики под регистрационным № В-10130 [5].

Эксперимент проведен на 16 мышах F1 CBA/Black-6, массой 20-23 г. Опытным животным (n=8) ввели РМО штамм M3 однократно внутрибрюшинно в дозе  $0,005 \cdot 10^6$  м.к.л. в 0,5 мл физиологического раствора. Контрольным животным (n=8) вводили 0,5 мл смыва 0,9% раствора NaCl с чистой питательной среды. Исследование проводили на 21 сутки после введения *Bacillus sp.* Активность дифференцировки клеток в костном мозге оценивали двумя способами – по миелограмме (Е. А. Кост, 1975) и фенотипу. Иммунофенотипирование клеток проводили на проточном лазерном цитофлюориметре FACSCalibur (Becton Dickinson) с помощью моноклональных антител, конъюгированных с флюоресцеинизотиоцианатом и фикоэритрином (Becton Dickinson Biosciences, USA). Рецепторный репертуар лимфоцитов в костном мозге оценивали с использованием моноклональных антител к антигенам CD117, CD34, CD25, CD44, TCR $\alpha\beta$ , в тимусе – CD34,

CD25, CD44 и TCR $\beta$ . Результаты обрабатывали в программе CellQuest.

Все исследования проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Пр. МЗ ССР от 12.08.1977 г. № 755) и «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных» от 18.03.1986. Достоверность различий между группами оценивали по t критерию Стьюдента в программе «SPSS 11,5 for Windows».

**Основные результаты.** Анализ миелограммы показал уменьшение доли недифференцированных бластов ( $p < 0,01$ ), миелобластов ( $p < 0,01$ ) и сегментоядерных нейтрофилов ( $p < 0,01$ ) на фоне повышения уровня лимфоцитов ( $p < 0,01$ ) среди всей популяции гемопоэтических клеток в костном мозге. Эти данные свидетельствуют о модулирующем влиянии малых доз *Bacillus sp.* на гемопоэз со сдвигом баланса в сторону лимфопоэза.

Исследование иммунофенотипа клеток костного мозга показало, что под влиянием *Bacillus sp.* увеличивается численность ранних предшественников гемопоэтических клеток, экспрессирующих CD117<sup>+</sup>CD34<sup>-</sup> ( $p < 0,05$ ). Снижены доли клеток, экспрессирующих антигены более продвинутых в своей дифференцировке предшественников – CD34<sup>+</sup>CD117<sup>+</sup> ( $p < 0,01$ ), CD34<sup>+</sup>CD117<sup>-</sup> ( $p < 0,05$ ), CD25<sup>+</sup>CD44<sup>-</sup> ( $p < 0,05$ ), CD44<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> ( $p < 0,05$ ). Увеличено число лимфоцитов, покидающих костный мозг (по уровню экспрессии CD25<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup>) ( $p < 0,05$ ). Эти данные также свидетельствуют о модулирующем влиянии *Bacillus sp.* на костномозговое кроветворение со сдвигом баланса в сторону лимфопоэза. Однако снижение численности клеток в костном мозге, экспрессирующих маркеры регуляторных Т-лимфоцитов – TCR $\alpha\beta$ <sup>+</sup> ( $p < 0,01$ ), может служить основанием для предположения о снижении регуляторной роли тимуса костномозговым кроветворением к 21 суткам после введения бактерий.

Под влиянием РМО в тимусе отмечается снижение уровня CD34<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $p < 0,01$ ), что может являться свидетельством о снижении способности тимуса к рекрутированию предшественников лимфоцитов. В то же время отмечено увеличение численности лимфоцитов, находящихся на разных стадиях дифференцировки и экспрессирующих CD34<sup>+</sup>44<sup>-</sup> ( $p < 0,05$ ), CD25<sup>+</sup>TCR<sup>-</sup> ( $p < 0,01$ ), CD25<sup>-</sup>TCR<sup>+</sup> ( $p < 0,01$ ), CD25<sup>+</sup>TCR<sup>max</sup> ( $p < 0,01$ )

и CD44<sup>+</sup>TCR<sup>+</sup> ( $p < 0,01$ ). При этом фракции лимфоцитов значительно различаются по интенсивности флюоресценции Т-клеточных рецепторов. Особенностью зрелых Т-клеток является высокий уровень экспрессии комплексов «TCR-CD3» и они фенотипируются как CD25<sup>+</sup>TCR<sup>max</sup>-лимфоциты. В этой связи увеличение численности про-Т-клеток (экспрессируют CD25<sup>+</sup>TCR<sup>-</sup>), пре-Т-лимфоцитов (по экспрессии CD25<sup>-</sup>TCR<sup>+</sup>) и зрелых Т-лимфоцитов (по экспрессии CD25<sup>+</sup>TCR<sup>max</sup>) с высокой плотностью данного комплекса на поверхности лимфоцитов, можно расценивать как сохранение на высоком уровне активности дифференцировки Т-лимфоцитов в тимусе. Численность Т-лимфоцитов, эмигрирующих из тимуса (CD44<sup>+</sup>TCR<sup>+</sup>) также находится на повышенном уровне.

Сопоставляя полученные данные с результатами ранее проведенных исследований [4] можно схематично описать последовательность изменения структурно-функциональных параметров иммунной системы под влиянием штамма МЗ *Bacillus sp.* к 21 суткам после введения бактерий: снижение активности дифференцировки миелоидных предшественников в костном мозге – снижение притока лимфоидных предшественников в тимус – сохранение повышенной активности дифференцировки Т-лимфоцитов в тимусе – сохранение на повышенном уровне функциональной активности Т- и В-лимфоцитов. Представленные данные свидетельствуют, что реакции иммунной системы развиваются волнообразно и затухание иммунного ответа начинается с костного мозга.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воробьева Л.И., Ходжаев Е.Ю., Новикова Т.М., Чудинова Е.М. Антистрессовое перекрестное действие внеклеточных метаболитов Бактерий, архей и дрожжей (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2013. Т. 49, № 4. – С. 333-344.
2. Федорова М.П. Новые пробиотики из штаммов бактерий *Bacillus subtilis*, выделенных из мерзлотных почв Якутии, в технологии выращивания свиней // Ветеринария. 2010. – № 8. – С. 66-67.
3. Kalenova L. F. Effects of permafrost microorganisms on the quality and duration of life of laboratory animals / L. F. Kalenova, Yu. G. Sukhovei, A. V. Brushkov, W. P. Melnikov, T. A. Fisher, I. M. Besedin, M. A. Novikova, Yu. A. Efimova // Neuroscience

- and Behavioral Physiology. – 2011. – V. 41, № 5. – P. 484-490.
4. Калёнова Л. Ф., Субботин А. М., Новикова М. А., Бажин А. С. Влияние температуры инкубации на биологическую активность микроорганизмов из вечной мерзлоты // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158, № 12. – С. 737-741.
  5. Брушков А. В. Реликтовые микроорганизмы криолитозоны как возможные объекты геронтологии / А. В. Брушков, В. П. Мельников, Ю. Г. Суховой, Г. И. Грива, В. Е. Репин, Л. Ф. Калёнова, Е. В. Бреннер, А. М. Субботин, Ю. Б. Трофимова, М. Танака, Т. Катаяма, М. Утсуми // Успехи геронтологии. – 2009. – Т. 22, № 2. – С. 253-258.

### EFFECT OF MICROORGANISMS BACILLUS SP. ON THE DIFFERENTIATION OF LYMPHOCYTES IN THE BONE MARROW AND THYMUS

Bazhin A. S., Novikova M. A., Kalenova L. F.

In experiments on laboratory animals that the introduction of M3 strain *Bacillus sp.* at a dose of  $0,005 \cdot 10^6$  microbe cells per animal increases the expression of receptors CD34<sup>+</sup>CD117<sup>+</sup> and CD25<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup> bone marrow cells, CD25<sup>+</sup>TCR<sup>max</sup> and CD44<sup>+</sup>TCR<sup>+</sup> lymphocytes in the thymus.

*Key words:* relict microorganism, *Bacillus sp.*, lymphocyte differentiation, bone marrow, thymus

### РОЛЬ МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ИЗУЧЕНИИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Бархина Т. Г.<sup>1</sup>, Гущин М. Ю.<sup>1</sup>, Гайдар А. И.<sup>2</sup>,  
Польнер С. А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИ морфологии человека;

<sup>2</sup>ФГБНУ НИИ перспективных материалов и технологий;

<sup>3</sup>ФГБУ ГНЦ Институт иммунологии ФМБА Москва, Россия

Цель. Изучить характеристики концентрации химических элементов по их пикам в ногтях, волосах и биопсийном материале из слизистой оболочки носа. Нами установлен дисбаланс химических элементов при легкой, средней и тяжелой степенях тяжести бронхиальной астмы. Показана также роль возрастного аспекта при этом. Проанализированы сходства и различия механизмов развития выявленных нарушений элементного состава в организме человека при бронхиальной астме и других аллергических заболеваниях.

Современная медицина базируется на знаниях в области различных наук, что связано с влиянием окружающей среды на жизнь и здоровье человека. Важна роль экзогенных и эндогенных факторов, влияющих на структуры, ответственные за формирование биохимического статуса. Такие факторы изучаются при разных процессах, одними из которых являются аллергические болезни дыхательных путей (ДП). Аллергический ринит (АР) и бронхиальная астма (БА) представляют собой глобальную проблему естествозна-

ния, включая эколого-социальные корни проблемы. Не вызывает сомнений важная роль макро- и микроэлементов в функциях организма человека [1, 4]. Макроэлементы составляют 99% элементного состава организма. Микроэлементы делятся на эссенциальные (жизненно важные) и условно эссенциальные, но несмотря на их незначительное количество, они в большой степени влияют на здоровье человека.

Цель. Изучить характеристики концентраций химических элементов по их пикам в ног-

тях, волосах и биоптатах слизистой оболочки носа при БА.

**Материал и методы исследования.** Для исследования был использован растровый (сканирующий) электронный микроскоп EVO 40 фирмы Zeiss, оснащенный SDD кремниевым дрейфовым детектором X Flash 1106, являющийся наиболее универсальным для проведения исследований во всех областях науки и техники. Наиболее полный диапазон идентифицируемых элементов, большой набор способов снятия и методов расшифровки спектров делают этот прибор лидером в классе микроскопов при проведении рентгеновского микроанализа. Для получения данных нами применены методы сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и рентгеновского локального микроанализа (РЛМ). Материал был получен у пациентов различного возраста при БА разной степени тяжести заболевания.

**Собственные исследования и обсуждение.** Нами проанализированы данные тканей и органов человека, наиболее соприкасающихся с внешней средой. Такими объектами являются органы дыхательной, пищеварительной систем, кожи и придатков и периферическая кровь. Эти результаты были описаны ранее. Мы их сравнили с данными, полученными на биологических объектах, наиболее концентрирующих в себе элементы, которыми являются волосы и ногти. Характеристики концентраций элементов различаются как по пикам самих элементов, так и по их морфологическим показателям. Нами установлено, что при легкой степени БА обнаруживаются изменения в концентрации следующих элементов: углерода, натрия, цинка, магния, марганца, меди, селена. В основном концентрация этих элементов снижается, а концентрация алюминия и серы повышается. При средней степени тяжести тенденция к снижению увеличивается у натрия, магния и калия, а концентрация алюминия и серы повышается. При тяжелой степени тяжести заболевания наблюдается дисбаланс многих элементов, однако, наиболее ощутимые изменения наблюдаются в содержании углерода, натрия, калия, кремния, меди, никеля, цинка, селена. Важный момент при анализе концентрации элементов имеет возрастной аспект. У подростков содержание натрия более высокое, чем у взрослых пациентов, а дисбаланс цинка, магния, марганца, хрома, фосфора имеют индивидуаль-

ные особенности. В литературе имеется ряд статей, посвященных изучению элементов в основном у детей при аутоиммунных и аллергических заболеваниях [2,3,5], которые свидетельствуют о значительных изменениях их количества в развитии заболеваний (БА, аллергические дерматиты, экзема, аутоиммунные состояния). Эти элементы вызывают гиперчувствительность замедленного типа, поэтому и их дисбаланс при этом имеет свои клеточно-гуморальные особенности. Многие результаты, полученные при изучении детского контингента, совпадают с нашими данными, которые имеют место у пациентов-подростков. Заболевания, вызванные дефицитом или избыточным количеством элементов, отличаются системностью поражений и профессиональными и бытовыми условиями. При исследовании концентрации элементов в волосах у детей с хроническими заболеваниями наиболее часто наблюдались дисбалансы магния, цинка, меди, марганца, кобальта, хрома и кремния, достаточно часто встречался дисбаланс и кальция, калия, натрия, фосфора, повышенное содержание алюминия и кадмия [3]. Максимальные отклонения отмечались у часто болеющих детей и характеризовались низким содержанием в волосах магния, цинка, меди, фосфора, марганца, кальция и избыточным накоплением олова. У больных с сочетанием атопического дерматита и БА была высокая распространенность дисбаланса меди, что мы также наблюдали в других объектах. При БА элементный дисбаланс отличался снижением в волосах содержания многих элементов, аналогичные данные получены нами при изучении ногтей и биоптатов. Отмечено также, что особенностью дисбаланса элементов при БА у детей из экологически неблагоприятных районов является накопление алюминия в волосах и снижение содержания кальция [3].

Механизмы развития выявленных нарушений элементного звена гомеостаза и динамики изменений морфологии слизистых оболочек ДП показало, что дисбаланс элементов приводит к ослаблению резервов антиоксидантной системы. В дальнейшем происходит накопление эндогенных токсинов с истощением звеньев клеточного и гуморального иммунитета. Для улучшения морфофункционального состояния исследуемых тканей и органов при рецидивах и длительности АР и БА и прогрессированием степени их тяжести с изменениями

элементного статуса необходимо учитывать все возможные варианты купирования патологического процесса. У больных БА выявлены значительные изменения в эпителиальных клетках верхних и нижних ДП, которые провоцируют стимуляцию иммунных клеток с сочетанием усиления роли гранулоцитов в тканях и периферической крови. Одновременно обнаруживается снижение содержания кальция и магния в ногтях и волосах. Кроме этого, у таких больных установлена корреляция основных показателей функции внешнего дыхания с нарушением бронхиальной проходимости на разных уровнях бронхиального дерева с дисбалансом ряда элементов, а также зависимость их накопления или снижения от длительности и частоты заболевания. Содержание цинка в ногтях и волосах снижалось пропорционально тяжести БА и находилось в прямой зависимости от состояния проходимости средних и мелких бронхов. Важность комплексного исследования баланса микро- и макроэлементов определяется высокой биологической активностью и физиологической значимостью многих из них и сложными взаимоотношениями между ними. Сочетание изменений концентрации ряда элементов в волосах, ногтях, эритроцитах периферической крови и структур ДП, значи-

тельно варьирует в зависимости от условий экологии, географии регионов и некоторых экстремальных состояний. Данные, полученные с помощью СЭМ и РЛМ и их сопоставления, могут иметь значительные результаты, приводящие к новым концепциям изучения экологии человека.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авцын А.П., Жаворонков А. А., Строчкова Л. С., Риш М. А.. Микроэлементозы человека.– М.: Медицина, 1991.
2. Алексеева О. А. Клиническое значение дисбаланса минералов и микроэлементов при бронхиальной астме у детей. Автореферат дисс. на соиск. к.м.н. Москва, 2003.
3. Елисеева Т.И., Захарычева Н. С., Лелеет Ю. Н. и др. Содержание некоторых элементов в волосах детей, больных бронхиальной астмой. Материалы III Всероссийского съезда педиатров, работающих с детьми, страдающими аллергическими болезнями или имеющие другие иммунопатологические состояния. г. Москва. 2014 г., С. 24-25.
4. Скальный А.В., Рудаков И. А. Биоэлементы в медицине.– М.: Мир, 2004.
5. Транковская Л. В. Роль дисбаланса химических элементов в формировании нарушений здоровья детей: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.– Владивосток, 2004.

### ROLE OF MACRO- AND MICROELEMENTS IN STUDY ALLERGENIC-RAY DISEASES

T. G. Barkhina<sup>1</sup>, M. Yu. Guschin<sup>1</sup>, A. I. Gaydar<sup>2</sup>, S. A. Polner<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*FGBNU Institute of Human Morphology;* <sup>2</sup>*FGBNU Institute of Advanced Materials and Technologies;*

<sup>3</sup>*FGBU Institute of Immunology FMBA, Moscow, Russia*

Aim. To examine the characteristics of the concentration of chemical elements according to their peaks in the nails, hair and biopsy material from the nasal mucosa. We defined the imbalance of chemical elements in mild, moderate and severe degrees of severity of bronchial asthma. Also shown is the role of age-related aspect. Analyzed similarities and differences of mechanisms of development of the revealed violations of the elemental composition in the organism in bronchial asthma and other allergic diseases.

## ЭНДОСКОПИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ФЕНОТИПОВ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ЖИТЕЛЕЙ ЭКОЛОГИЧЕСКИ НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ РЕГИОНОВ РЕСПУБЛИКИ СЕВЕРНАЯ ОСЕТИЯ-АЛАНИЯ

Басиева О.З.

ГБОУ ВПО СОГМА МЗ РФ, Владикавказ, Россия

Бронхиальная астма (БА) является сложным и гетерогенным заболеванием, которое характеризуется воспалением и гиперреактивностью дыхательных путей, наличием бронхиальной обструкции. Помимо ряда отрицательных разнообразных факторов, патогенез астмы связан также с агрессивным воздействием внешней среды. Фибробронхоскопия оказалась эффективным инструментом характеристики и оценки воспаления дыхательных путей. С ее помощью фенотипы БА идентифицированы у жителей экологически неблагоприятных районов Северной Осетии-Алании. Выявлены патологические состояния, характеризующиеся воспалением, атрофией слизистой оболочки бронхов, ларингофарингеальным, желудочно-пищеводным рефлюксами и синдромом постназального затека. Биопсии и исследование лаважной жидкости демонстрируют преобладание нейтрофильного типа воспаления в обследуемой группе пациентов.

Исследования последних десятилетий демонстрируют важность определения фенотипов бронхиальной астмы (БА) для лучшего понимания патофизиологических механизмов и выбора индивидуализированных эффективных режимов терапии. Гетерогенность проявлений БА определяется совокупностью клинических симптомов, наличием триггеров обострений, особенностями и тяжестью воспалительных реакций бронхов, ответом на бронходилатационные стимулы и противовоспалительные средства. Изучение фенотипов БА у пациентов, подверженных агрессии разнообразных неблагоприятных экологических факторов, также имеет немаловажное значение. Совершенно очевидно, что общепринятые рутинные методы исследования недостаточно информативны для определения уникального функционального или патологического паттерна. Перспективным способом идентификации фенотипов БА является фибробронхоскопия (ФБС), необходимость и безопасность которой была многократно доказана даже в случаях тяжелой бронхиальной обструкции [1, 2]. Объективные данные, получаемые при ФБС, позволяют обеспечить более целостное понимание многих аспектов фенотипирования БА. С целью изучения фенотипов

БА и иммунного статуса у жителей экологически неблагоприятных регионов РСО-Алания, и определения лечебной тактики были обследованы 183 пациента с ранее или впервые установленным диагнозом БА. Анализ проведен среди жителей сельской местности и городов РСО-Алания, обращавшихся в пульмонологическую клинику ГБУЗ РКБ МЗ РСО-Алания в период с 2008 по 2014 гг. Критериями включения были: возраст от 18 до 68 лет, установленный диагноз БА легкого персистирующего, среднетяжелого и тяжелого течения. Критерии исключения: возраст менее 18 и старше 68 лет, критическое обострение БА (астматический статус), профессиональная астма, интеркуррентная патология, табакокурение или вдыхание вторичного табачного дыма. Преобладали лица женского пола (99 чел. – 54%). Доминировало городского населения (64,5%) над сельским (35,5%). Диагноз основного заболевания устанавливался в соответствии с рекомендациями программы GINA (Update 2006–2014). Кроме стандартных исследований проводился респираторно-функциональный мониторинг (Spirolab II, MIR, Италия; ультразвуковой проточный капнометр КП-01-«ЕЛАМЕД», Россия), а также анкетирование с помощью разработанного нами опросника. Оценка уровня

контроля над симптомами БА осуществлялась с помощью АСТ™ теста. Пациенты, после обучения по индивидуальной программе в «Астма-школе», вели дневники пикфлоуметрии, которые изучались врачами во время визитов. Иммуноный статус исследовался иммунофлюоресцентным методом с применением моноклональных антител (CD3, CD4, CD8, CD4/CD8, CD20, CD25, HLA-DR, ООО «Сорбент», Россия). Оценивался иммуноглобулиновый спектр – общие IgM, IgG, IgA, IgE (ЗАО «Вектор-Бест», Россия), показатели неспецифической резистентности: поглотительная активность нейтрофилов (фагоцитарное число, фагоцитарный индекс), НСТ-тест. Эндоскопия выполнялась фибробронхоскопом «Olympus» (Япония). Предпочтение отдавалось трансназальному доступу. Анализировались морфологическая картина, а также цитологический состав ЛЖ и БАЛ. Изготавливались мазки-отпечатки биоптатов на предметных стеклах (окраска по методу Романовского-Гимза). Все пациенты по признаку подверженности действию неблагоприятных внешнесредовых факторов были разделены на 2 группы. Первую группу составили городские и сельские жители экологически оптимальных для обитания регионов (109 чел.), во вторую группу вошли 74 пациента, непосредственно проживающие в зонах эмиссии промышленных аэрополлютантов (АП) и загрязняющих веществ, среди которых в РСО-Алания актуальны диоксид серы, серная кислота, свинец, кадмий, цинк, ртуть, мышьяк [3]. Продолжительность постоянного воздействия загрязняющих веществ на дыхательные пути составляла 3 и более лет. Обе популяции пациентов были разделены на 2 подгруппы – впервые выявленная БА (ВВБА-I и ВВБА-II), интактная по приему глюкокортикостероидов, и БА со стажем болезни от 1 года до 32 лет и необходимостью постоянного или периодического приема стероидных противовоспалительных средств (БА-I и БА-II). В I группе ВВБА составила 21 чел., во II – 19 чел. Установлена наибольшая подверженность заболеванию БА у жителей Промышленного и Иристонского муниципальных округов г. Владикавказа (зона эмиссии АП перерабатывающих и металлургических заводов), а также Алагирского района (зона добывающей горнорудной промышленности). Анализ заболеваемости, тяжести и частоты обострения в связи с ме-

стом проживания определил особенности клинического фенотипа в группе пациентов, страдающих от экологического неблагополучия, диагностировалось тяжелое течение заболевания (79,7%), в то время как во II группе тяжелые больные составили 61,4%. В подгруппах с одинаковой частотой регистрировалась БА средней степени тяжести (ВВБА-I – 18 чел., ВВБА-II – 16 чел.). Легкая персистирующая БА (2 чел.) отмечена только при ВВБА-I. Тяжелая рефрактерная БА достоверно чаще диагностировалась во II группе (51,9%), в I группе – 22,8%. Контроль над симптомами астмы оставался в целом неудовлетворительным в обеих группах. Тяжелое неконтролируемое течение отмечалось у 20 чел I группы и у 28 – II группы. Отсутствие контроля отмечалось у 6 больных среднетяжелой БА и только в I группе. Частота обострений была достоверно выше у пациентов, регулярно подвергающихся действию АП (свыше 4 раз в год). Иммуноный статус в ВВБА-I группе характеризовался преобладанием аллергического типа реактивности (эозинофилия крови, повышение уровня общего IgE, дисиммуноглобулинемия), а также умеренным снижением показателей клеточного иммунитета у длительно получающих ГКС пациентов БА-I. Во II группе достоверно чаще регистрировались признаки нейтрофильной воспалительной реакции, более выраженным было угнетение клеточного иммунитета и звена неспецифической реактивности. Эозинофилия крови отмечалась лишь у 6 пациентов ВВБА-II. Респираторно-функциональный фенотип БА-II отличался более тяжелыми нарушениями проходимости бронхов (ОФВ<sub>1</sub><70% должн.; ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ<70% – МОС<sub>25-75</sub><60% должн. – 51,9% больных), нежели у пациентов БА-I. Капнограммы больных БА-I, ВВБА-I, ВВБА-II (по РЕТСО<sub>2</sub>) мало отличались и представляли собой преимущественно гипокапнический паттерн. У пациентов БА-II преобладал гиперкапнический-гипоксический тип капнограмм. Эндоскопически фенотип БА-II и ВВБА-II характеризовался частым выявлением диффузного бронхита (70,4%), коррелировавшего со степенью тяжести заболевания, а также наличием гастроэзофагеального рефлюкса (ГЭР) в сочетании с ларинго-фарингеальным рефлюксом (ЛФР) – у 34 пациентов. Постназальный затек устанавливался во II группе также достоверно чаще (36,5%), чем у больных БА-I (20,2%). Степень воспаления слизистой брон-

хов была тяжелее (II и III ст.) у пациентов БА-I и ВВБА-I. У больных из II группы (БА-II – 13 чел., ВВБА-II – 2 человека) эндоскопия выявила атрофический бронхит с дистрофическими изменениями и очаговой метаплазией эпителия. Все эти лица одновременно страдали ГЭР и ЛФР, а в группе БА-II – была установлена «ХОБЛ-подобная астма», с малой обратимостью бронхиальной обструкции. Дистония трахеи и крупных бронхов оказалась более редкой патологией (4 пациента БА-I и у 1 чел. ВВБА-II). Исследование БАЛ, ЛЖ и биоптатов слизистой оболочки бронхов выявило преобладание нейтрофильного типа воспаления во II группе (59.3%), эозинофильный фенотип отмечался только у 5 пациентов ВВБА-II. Малогранулоцитарный фенотип зарегистрирован у одного пациента БА-I.

Таким образом, с учетом результатов исследований можно предположить наличие специфического для экзозависимой патологии фенотипа БА, характеризующегося преобладанием тяжести клинических проявлений, более низким уровнем контроля над симптомами заболевания, увеличением частоты обострений, формированием вторичного иммунодефицитного состояния по Т-клеточному типу, нарушениями в звене неспецифической реактивности, более выраженным снижением

функции легких. Эндоскопически установленный паттерн фенотипа БА, сформировавшийся в условиях экологического неблагополучия отличается тяжестью и распространенностью воспалительного процесса, преобладанием нейтрофильного типа воспаления слизистой бронхов. Целесообразным представляется выделение бронхоскопически устанавливаемого эндотипа БА, характеризующегося присутствием ГЭР, ЛФР с атрофией и метаплазией слизистой дыхательных путей, наличием постназального затека, сформировавших особый вариант «ХОБЛ-подобной астмы». Выявление уникального фенотипа БА диктовало необходимость коррекции дальнейшей лечебной тактики в каждом клиническом случае.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Moore W.C., Evans M.D., Blecker E.R., et al. Safety of investigative bronchoscopy in the Severe Asthma Research Program. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128:328-336.
2. Elston W.J., Whittaker A.J., Khan L.N., et al. Safety of research bronchoscopy, biopsy and bronchoalveolar lavage in asthma. *Eur. Respir. J.* 2004; 24:275-377.
3. Басиева О.З. Каузальный анализ развития тяжелых форм бронхиальной астмы у жителей Северной Осетии. // Вестник МАНЭБ, Т 15, № 4. 2010. С. 118-121.

### ENDOSCOPIC DIAGNOSIS OF BRONCHIAL ASTHMA PHENOTYPES IN RESIDENTS ECOLOGICALLY ADVERSE REGIONS OF NORTH OSSETIA-ALANIA

O. Z. Basieva

*North-Ossetia medical academy, Vladikavkaz, Russia*

Bronchial asthma is a very complex and heterogeneous disease that is characterized by airway inflammation, hyper-reactivity and bronchial obstruction. The pathogenesis of asthma is associated with aggressive environmental factors. Fiberoptic bronchoscopy has been proven to be an effective tool for the assessment and characterization of airway inflammation. By using endoscopy, asthma phenotypes can be identified in residents ecologically adverse regions of North Ossetia-Alania. Visual inspection of airways affected by chronic asthmatic endobronchitis in discloses an abnormal appearance characterized by inflammation, atrophy, laryngofaringeal reflux, gastroesophageal reflux and postnasal drip syndrome. A biopsy and examination of lavage fluid to determine the presence of neutrophilic inflammation type.

## АРОМАИНГАЛЯЦИОННАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ ОБСТРУКТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Басиев З. Г., Басиева О. З.

*ГБОУ ВПО СОГМА МЗ РФ, Владикавказ, Россия*

Хроническая обструктивная болезнь легких в настоящее время расценивается как глобальная эпидемия с высокими уровнями заболеваемости и смертности. Однако широкое применение средств современной этиопатогенетической терапии часто оказывается малоэффективным. Ингаляции эфирных масел повышают результативность лечения даже при тяжелой бронхиальной обструкции. В статье представлен анализ применения ингаляционной ароматерапии у больных ХОБЛ и бронхиальной астмой.

В современных условиях обструктивная патология органов дыхания имеет широкую распространенность, а по летальным исходам занимает третье место в мире. В комплексной терапии таких болезней широко применяется значительный ряд средств направленных как на подавление бронхо-легочной инфекции, так и с целью воздействия на патогенетические механизмы заболеваний. Однако часто выявляемая резистентность микрофлоры легких к широко используемым антибактериальным препаратам и возникающие при этом функциональные, иммунные и другие нарушения требуют изыскания эффективных средств лечения таких больных. Среди них перспективными следует признать включение в комплекс лечебных мероприятий средств ароматерапии (АТ). В Ялтинском НИИ им. И. М. Сеченова в течение ряда лет этой актуальной проблемой занимался выдающийся ученый В. В. Николаевский [2, 3], который с коллективом сотрудников успешно разрабатывал перспективные направления и методы клинического применения АТ. В последующем ряд научных коллективов [4] занимался разработкой и совершенствованием методов АТ. Нами в течение последних лет активно использовалась ингаляционная АТ (АИТ) при тяжелых острых и хронических болезнях органов дыхания. Обследовано 127 больных в возрасте 18-86 лет (старше 60 лет 46%). Среди них мужчины составили 55%. Длительность заболевания была от 3 месяцев (затянувшаяся и осложненная пневмо-

ния, абсцессы легких) до 48 лет (хроническая обструктивная болезнь легких – ХОБЛ, бронхиальная астма – БА). Среди больных ХОБЛ курильщики табака составили 92% со стажем курения от 5 до 45 лет по одной и более пачек в день. У небольшой части пациентов с ХОБЛ ведущей причиной было признано использование в быту биотоплива. Больные БА с различными патогенетическими вариантами обычно поступали в стадии острых и затянувшихся приступов удушья. Учитывались также профессиональные и социальные особенности, сопутствующая патология. Помимо общепринятого обследования во всех случаях в динамике проводились пульсоксиметрия, исследовались показатели ЖЕЛ, тахметрии, гемодинамики, определялся условный возраст легких. В необходимых случаях привлекались профильные специалисты (отоларинголог, кардиолог, гастроэнтеролог, нефролог и др.). При фибробронхоскопии (ФБС) у 96% больных были установлены различной протяженности и степени воспалительные процессы в трахеобронхиальном дереве, реже – с гнойным компонентом. Во время ФБС производился забор материала из бронхов с последующим определением типа бактерий и резистентности к антибиотикам, что учитывалось при выборе антибактериальных средств и ароматических компонентов в лечении больных. Следует отметить, что в 26% случаев у пациентов были установлены различные виды аллергии и их комбинации (домашняя пыль, краски, амброзия, продукты питания, фармакологи-

ческие средства и др.) У 89% больных по спирометрическим показателям и данным ЭКГ имелись дыхательная или легочно-сердечная недостаточность (в основном II степени). Для уточнения резервных показателей дыхательной и сердечной систем использовались нагрузочные и фармакологические тесты. Изучались также данные ЭхоКГ, проводились ультразвуковые исследования внутренних органов. Иммунологическое тестирование проводилось методом иммунофлюоресцентной микроскопии с использованием моноклональных антител («Сорбент», Россия). Изучались популяции и субпопуляции лимфоцитов, некоторые активационные маркеры (CD3, CD4, CD8, CD4/CD8, CD20, CD25, HLA-DR), оценивался иммуноглобулиновый спектр – общие IgM, IgG, IgA, IgE (ЗАО «Вектор-Бест», Россия), показатели неспецифической резистентности: поглотительная активность нейтрофилов (фагоцитарное число, фагоцитарный индекс), НСТ-тест. Было установлено наличие признаков вторичного иммунного дефицита по Т-клеточному типу у 38% пациентов с ХОБЛ, и у 24% с БА. Аллергический тип иммунограммы с гиперэозинофилией и повышением содержания общего IgE диагностировался только у больных БА (27%). Из анамнестических данных устанавливалась толерантность пациентов к запахам. Часть больных (3 чел.) не переносили ароматы масел, которые предполагалось применить в процессе АИТ, что стало причиной отказа от такого вида лечения. Для выполнения ингаляционной терапии использовались индивидуальные аромалампы или проводились групповые ингаляции с помощью специальных устройств. Подбор каждого аромапрепарата производился с учетом характера и тяжести заболевания, данных бактериограммы и адекватности воздействия на организм пациента летучих фракций аромасредства. Низкие концентрации аромапрепарата и быстрая адаптация к возгоняемым средствам создавал благоприятную ситуацию при проведении сеанса АИТ.

В зависимости от формы и тяжести бронхолегочной патологии использовались средства с высокими антибактериальными свойствами, к которым относили масла – можжевельное, эвкалиптовое, чайного дерева, туи, лаванды, чабреца, тимьяна и др. Их летучие фракции благоприятно воздействовали на состояние

дыхательных путей, оказывая высокое антибактериальное воздействие, вызывая выраженный отхаркивающий эффект, подавляя микрофлору бронхов, повышая мукоцилиарный клиренс, улучшая показатели иммунитета и вызывая другие положительные клинические эффекты. В зависимости от формы и тяжести заболевания, исходных показателей внешнего дыхания, степени нарушений газообмена, дыхательного дискомфорта и резистентности микробной флоры дыхательных путей подбирались комбинации ингалируемых аромамасел. Обычно сеанс ароматерапии проводился 1 раз в сутки по 20-30 минут. В части случаев целесообразным было включение в общий лечебный процесс музыкальное сопровождение с соответствующей программой.

На исходном этапе и в последующем через каждые 5-7 сеансов АИТ определялись такие показатели, как частота дыхания (ЧД), кислородная сатурация, спирометрия, скоростные показатели FEV-1, FEV-6 и их соотношение, условный возраст легких, а также некоторые гемодинамические показатели (частота пульса, АД). На заключительном этапе АИТ определялась клиническая эффективность метода с учетом этих функциональных показателей. Во всех случаях АИТ было достигнуто значительное улучшение эффективности вентиляции, повышение качества работы дыхания. АИТ благоприятно сказывалась и на показателях гемодинамики. В трех случаях больные от таких процедур отказались из-за возникшего дискомфорта (головная боль, появление нетяжелой одышки и других причин). Значительное улучшение эффективности легочной вентиляции, резкое уменьшение катаральных симптомов, кашля, одышки или удушья, повышение переносимости оптимальных физических нагрузок – установлено у подавляющего числа пациентов на заключительном этапе АИТ. Повторные исследования микрофлоры трахеобронхиального дерева (24 случая) дали возможность установить достаточно полную санацию дыхательной системы. Следует подчеркнуть также повышение эффективности антибактериальной терапии при сопровождении АИТ у больных с исходным гнойным компонентом патологии дыхательных путей. Во всех случаях отмечен также положительный психологический эффект метода. Достигнутое снижение показателя условного возраста легких в результате применения

АИТ, как правило, вызывало положительные эмоции и желание продолжить индивидуальное применение АИТ в домашних условиях. Несколько улучшались показатели клеточно-иммунитета – нормализация показателей иммунограммы наблюдалась у 31% больных ХОБЛ и 18% больных БА. Следует отметить, что на заключительном этапе лечения у 79% больных было достигнуто повышение переносимости адекватных состоянию физических нагрузок (маршевая проба, подъем по лестнице). Также улучшение общего состояния и повышение функциональных показателей отмечено у лиц с большим стажем курения табака, что положительно сказалось и на психологическом состоянии таких пациентов. Проведено предварительное сравнение эффективности лечения двух групп больных с одинаковой патологией органов дыхания: первая группа, где проводилась общепринятая терапия, вторая – получавшая наряду с этим АИТ. В этих группах применялись одинаковые средства контроля. Более высокий эффект был достигнут у пациентов получавших наряду с общепринятой терапией курс АИТ. Такой факт

позволяет рекомендовать более широкое использование АИТ в общем комплексе лечения больных с обострениями хронической патологии и при затянувшихся острых воспалительных заболеваниях органов дыхания.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The global burden of disease: 2004 update. World Health Organization, 2008. Available from: <http://www.who.int/>.
2. Николаевский В. В., Еременко А. Е., Иванов И. К. Биологическая активность эфирных масел. – М.: Медицина, 1987. – 144 с.
3. Николаевский В. В. Растительные ароматические биорегуляторы /В. В. Николаевский, В. И. Зинькович. – Симферополь, 1995.
4. Грехман Л. З., Мильман И. С. О климатотерапевтическом эффекте имитации воздуха в закрытых помещениях с помощью прибора «Аэрофит» //Фитонциды. – К.: Наук. думка, 1975. – С. 293-295.
5. U. Rantzsch, G. Vacca, R. Dück, and A. Gillissen. Anti-inflammatory effects of myrtol standardized and other essential oils on alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Med Res.* 2009; 14 (Suppl 4): 205-209.

### EFFECTS OF AROMAINHALATION IN OBSTRUCTIVE RESPIRATORY DISEASES

Z. G. Basiev, O. Z. Basieva

*North-Ossetia medical academy, Vladikavkaz, Russia*

Chronic obstructive pulmonary disease is now regarded as a global epidemic with high morbidity and mortality. However, wide application of modern etiopathogenetic therapy is often ineffective. Inhalation of essential oils increase the effectiveness of treatment, even in severe bronchial obstruction. The article presents an analysis of the use of inhalation aromatherapy in patients with COPD and asthma.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПОЛИПОЗНЫМ РИНОСИНУСИТОМ ИММУНОКОРРИГИРУЮЩИМИ ПРЕПАРАТАМИ

Безрукова Е. В.<sup>1</sup>, Симбирцев А. С.<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Северо-западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова; <sup>2</sup>ФГУП ГНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Поиск новых методов лечения хронического полипозного риносинусита является актуальной задачей. Цель исследования оценить влияние на рост полипозной ткани введения в нее комбинации иммунокорригирующих препаратов Интераль и Бестим. Проведено лечение: ежедневно в ткань полипа вводилось: препарат Интераль 1млн. Ед и Бестим по 0,1 мг, в течение 5 дней. Состояние полипозной ткани оценивали эндоскопически с применением 0° эндоскопа «Азимут» через 5 дней, 14 дней, 1 месяц, 6 месяцев и 1 год. Через 5 дней после начала лечения отмечалось достоверное уменьшение размеров полипозной ткани у всех пациентов до  $1,2 \pm 0,1$  баллов ( $p \leq 0,05$ ), уменьшение отечности слизистой оболочки средней и нижней носовой раковин до  $2,4 \pm 0,3$ , уменьшение выделений из носа слизистого характера –  $2,6 \pm 0,4$ , в течение года увеличения полипозной ткани не было, что можно оценить как хорошую эффективность проведенного лечения.

Лечение хронического полипозного риносинусита представляет собой достаточно сложную задачу, в связи с частым рецидивированием полипозного процесса, несмотря на широкое применение современных хирургических методик и длительный прием глюкокортикостероидов. Поэтому поиск новых методов лечения, направленных на коррекцию некоторых звеньев патогенетических механизмов остается актуальной проблемой. В настоящее время накапливаются данные о том, что эпителий слизистой оболочки носа и околоносовых пазух является активным участником иммунного ответа. Важную роль в адекватном функционировании местного иммунитета слизистых оболочек играет система врожденного иммунитета [2, 3].

На основании знаний о взаимодействиях врожденного и приобретенного иммунитета, была выдвинута гипотеза, объясняющая иммунопатологические аспекты патогенеза хронического полипозного риносинусита [5]. При попадании патогена на слизистую оболочку полости носа DC экспрессируют Toll-рецепторы. В ткани носовых полипов выявлено увеличенное количество TLR2 и TLR4 рецепторов, что приводит к секреции кемокинов и костимуляторных молекул, привлекающих DC

(дендритных клеток) и Т-лимфоцитов в ткань слизистой оболочки и полипозную ткань. Увеличенное количество DC и Т-лимфоцитов вызывает дисбаланс в пропорции Th1/Th2 в сторону Th2. Исследователями было выявлено, что при полипозном риносинусите преобладает количество CD 86 молекул, которые способствуют дифференцировке Т-клеток по Th2 типу [4]. Возникает порочный круг, приводящий к тому, что реципроктный контроль DC и Т-лимфоцитов, осуществляющийся через костимуляторные молекулы CD40/CD40L и CD80/CD86, высокий уровень TLR2, И-4, И-10, низкий уровень И-12, индуцирует дисбаланс в пропорции Th1/Th2 в сторону Th2, что способствует еще большей секреции Th2 цитокинов и усиленному созреванию и активации DC. Но также существует и другой порочный круг. Увеличенное количество дендритных клеток и Т-лимфоцитов вызывает увеличенный уровень И-5 в тканях полипа. По данным исследователей [5] в начальной стадии формирования полипа И-5 секретируется Th2 лимфоцитами. По мере развития полипа эозинофилы сами способствуют тому, что Th2 начинают усиленную продукцию И-5. В ткани полипа DC индуцируют Т-лимфоциты секретировать И-5 посредством эозинофильной

инфильтрации. Данные механизмы объясняют патогенетические изменения, возникающие при так называемых, эозинофильных полипах. [1]

Таким образом, учитывая аспекты иммунопатогенеза полипозного риносинусита нами предложено лечение: введение комбинации иммунокорректирующих препаратов: Интераль и Бестим в полипозную ткань, направленное на уменьшение дисбаланса в пропорции Th1/Th2, что должно способствовать уменьшению эозинофильной инфильтрации, отека стромы полипа и как следствие уменьшение роста полипозной ткани.

Исследование проведено с целью оценить влияние на рост полипозной ткани введения в нее комбинации иммунокорректирующих препаратов Интераль и Бестим.

Проведено обследование и лечение 21 пациента (10 женщин и 11 мужчин) с хроническим полипозным риносинуситом. Возраст пациентов составил от 37 до 55 лет. Пациентам выполнялась эндоскопия с применением 0° эндоскопа «Азимут» с помощью которой определялась распространенность полипозного процесса, пересчитанная в баллы. 0 баллов – отсутствие полипов, 1 балл – полипы в среднем носовом ходе, 2 балла – полипы выходят за пределы среднего носового хода, но не блокируют общий носовой ход, 3 балла – полипы полностью obturiruyut носовой ход. Кроме того, по бальной системе оценивалась отечность слизистой оболочки полости носа и наличие слизистого отделяемого. 0 баллов – отсутствие отека нижних и средних носовых раковин, 1 балл – закрытие 1/3 просвета общего носового хода, 2 балла – закрытие половины просвета общего носового хода и 3 балла – полное закрытие просвета общего носового хода. Отсутствие слизистого отделяемого в носу – 0 баллов, умеренное отделяемое в среднем носовом ходе – 1 балл, отделяемое в среднем и общем носовых ходах – 2 балла, обильное отделяемое в среднем и общем носовых ходах – 3 балла.

В данное исследование вошли пациенты со средним баллом распространенности полипозного процесса  $2,2 \pm 0,2$ , отечностью –  $2,8 \pm 0,4$ , количеством отделяемого –  $2,9 \pm 0,3$  баллов. Пациентам выполнялись по стандартной методике риноцитограмма со слизистой оболочки носа. В изучаемую группу вошли больных хроническим полипозным риносинуситом,

в риноцитограммах которых отмечалось увеличение количества эозинофилов более  $20 \pm 7$  на 100 клеток. Пациентам было проведено лечение: ежедневно в ткань полипа вводилось одновременно в одном шприце: препарат Интераль 1млн. Ед и Бестим по 0,1 мг, в течение 5 дней. Введение препаратов пациенты перенесли удовлетворительно: повышения температуры и изменения общего состояния не отмечалось.

Состояние полипозной ткани оценивали эндоскопически с применением 0° эндоскопа «Азимут» через 5 дней, 14 дней, 1 месяц, 6 месяцев и 1 год. Через 5 дней после начала лечения отмечалось достоверное уменьшение размеров полипозной ткани у всех пациентов до  $1,2 \pm 0,1$  баллов ( $p \leq 0,5$ ), уменьшение отечности слизистой оболочки средней и нижней носовой раковин до  $2,4 \pm 0,3$ , уменьшение выделений из носа слизистого характера –  $2,6 \pm 0,4$ . Через 14 дней, 1 месяц, 6 месяцев и 1 год размер полипозной ткани статистически достоверно не изменился и составил  $1,1 \pm 0,1$  баллов, наблюдалось уменьшение отечности слизистой оболочки носовых раковин до  $0,9 \pm 0,2$ , и выделения из носа до  $1,3 \pm 0,4$  баллов, что можно оценить как хорошую эффективность проведенного лечения.

Таким образом, введение в полипозную ткань комбинации иммунокорректирующих препаратов Интераль и Бестим хорошо переносится пациентами, способствует достоверному уменьшению полипозной ткани, отечности слизистой оболочки носовых раковин и уменьшению слизистого отделяемого.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. С.В. Рязанцев. Современные взгляды на терапию полипозных риносинуситов//Пульмонология и аллергология.– 2007, № 4, С. 22-26.
2. Diamond G., Legarda D., Ryan L.K. The innate immune response of the respiratory epithelium.// Immunol Rev.–2000.–№ 173P. 27-38.
3. Epithelium, Inflammation, and Immunity in the Upper Airways of Humans Studies in Chronic Rhinosinusitis/Robert P. Scheimer [et al.] // Am Thorac Soc.– 2009 May, № 1; 6 (3) P. 288-294.
4. Iwasaki A., Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses.// Nat Immunol.– 2004№ 5.– P. 987-995.
5. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: An immune barrier hypothesis / Robert C. Kern [et al.] //Am J Rhinol.– 2008 Nov–Dec, № 22 (6),– P. 549-559.

## RESULTS OF IMMUNOCORRECTIVE TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC POLYPOID RHINOSINUSITIS

Bezrukova E.V., Simbirtsev A.S.

Search of new methods of treatment of a nasal polyps is an actual task. A research objective to estimate influence on growth of polyposis tissue of introduction of a combination of preparations Interal and Bestim. Treatment is carried out: daily into tissue of a polyp it was entered at the same time in one syringe: preparation Interal 1mln. ED and Bestim on 0,1 mg, within 5 days. The condition of polyposis tissue was estimated endoscopic in 5 days, 14 days, 1 month, 6 months and 1 year. In 5 days after an initiation of treatment reliable reduction of the sizes of polyposis tissue at all patients to  $1,2 \pm 0,1$  points was noted ( $r \leq 0,5$ ), reduction of puffiness of a mucous membrane of average and lower nasal secretion to  $2,4 \pm 0,3$ , reduction of mucous secretion –  $2,6 \pm 0,4$ , within a year of increase in polyposis tissue wasn't that it is possible to estimate as good efficiency of the carried-out treatment.

---

---

## ИЗМЕНЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ ВРОЖДЕННЫХ И ПРИОБРЕТЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Беловолова Р. А., Вороненко И. И., Долгополова О. Г., Тумасова М. Х.,  
Любченко О. А., Попова М. В., Давыдова Н. А.

*Ростовский Государственный медицинский университет, МБУЗ «Городская больница № 20 Ростова-на-Дону», Ростов-на-Дону, Россия*

Функциональная незрелость иммунной системы новорожденного ребенка, воздействие неблагоприятных факторов внутренней и внешней среды [1,2] сопровождаются снижением противоинфекционной резистентности организма [3,4], что может приводить к развитию патологии органов дыхания (врожденная пневмония, ОРВИ). До 25% при инфекционных заболеваниях дыхательных путей составляют врожденные пневмонии, ОРВИ.

**Цель исследования:** выявить изменения иммунного статуса и особенности этиологической структуры у детей с врожденными пневмониями и острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) в периоде новорожденности.

**Материалы и методы.** Обследовано 54 ребенка первого месяца жизни с воспалительными заболеваниями респираторного тракта. Диагноз верифицировался на основании комплекса анамнестических, клинико-лабораторных, рентгенологических данных, результатов иммунологического обследования. Обследование включало выявление герпесвирусной (ЦМВ, ВПГ1+2 типа, ВЭБ) и хламидийной инфекции при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) и методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с определением спе-

цифических противогерпетических (IgM, IgG, авидность IgG), антихламидийные (IgM, IgA, IgG) антитела, а также определение возбудителей уреоплазменной и микоплазменной инфекции методом ПЦР. При оценке иммунного статуса определялись субпопуляции лимфоцитов с помощью моноклональных антител и регистрацией на проточном цитометре; уровень сывороточных иммуноглобулинов (Ig) основных классов М, А, G, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Фагоцитарное звено оценивалось по кислородозависимой метаболической активности нейтрофилов в НСТ-тесте. Иммунологическое исследование методом ИФА проводилось при поступлении детей в отделение на 1-3 сутки.

**Результаты исследования:** из общего числа обследованных было выделено две группы де-

тей: 1 группа – 28 детей с врожденной пневмонией. Диагноз был установлен на основании критериев врожденной пневмонии (Е. Н. Байбарина, 2002г) и подтвержден рентгенологическими данными в первые 3 суток жизни; 2 группа – 26 детей, госпитализированных в стационар до 28 дня жизни с проявлениями острой респираторной вирусной инфекции. Основными проявлениями на момент поступления были насморк, кашель, повышение температуры, снижение аппетита.

Проведенный анализ выявил отягощенное течение настоящей беременности у 74% женщин: токсикозы 1 половины беременности (1 группа – 68%, 2 группа – 54%), гестозы (1 группа – 43%, 2 группа – 31%), угроза прерывания (1 группа – 46%, 2 группа – 15%), анемия (1 группа – 57%, 2 группа – 38%). Достоверно чаще у матерей 1 группы встречался отягощенный гинекологический анамнез (1 группа – 68%, 2 группа – 38%), хронические воспалительные соматические заболевания (1 группа – 25%, 2 группа – 7,6%), активация герпесвирусной инфекции (1 группа – 25%, 2 группа – 15%) перенесенная во время беременности острая респираторная вирусная инфекция (1 группа – 78,5%, 2 группа – 42%).

Дети, включенные в группы обследования, родились в сроке 38-41 неделя, из них путем кесарева сечения 36% детей 1 группы, в том числе по ургентным показаниям – 57%; во второй группе – 69% детей кесаревым сечением проведенном в плановом порядке.

Масса-ростовые показатели при рождении не имели достоверных отличий у детей 1-й и 2-й групп (1 группа – 67,3±6,6; 2 группа – 71,9±5,7). Однако синдром задержки внутриутробного развития плода (СЗРП) по данным УЗИ была диагностирована у 16% новорожденных детей 1 группы и не встречалась у детей 2-й группы.

Все дети 1 группы были госпитализированы в детское реанимационное отделение на 1-2 сутки жизни в тяжелом состоянии. Имели проявления дыхательной недостаточности III степени, потребовавшими проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ) 89% детей. Сроки пребывания на ИВЛ варьировали от 1 до 4 дней. У 46% детей 1 группы была выявлена гепатомегалия, у 32% детей – метаболические нарушения. Осложненное течение пневмонии в виде пневмоторакса зафиксировано у 7% детей, гидроторакса – у 11% детей.

По стабилизации состояния дети 1 группы в тяжелом состоянии были переведены в педиатрическое отделение для новорожденных детей.

Во 2 группе при поступлении в педиатрическое отделение для новорожденных детей состояние было расценено как тяжелое у 8% детей, остальные дети были средней тяжести. Возраст на момент госпитализации варьировал от 12 до 28 дней. По данным клинкорентгенологического обследования были диагностированы: бронхит у 46% детей, пневмония – 8% детей, ринофарингит – 46% детей.

При дополнительном обследовании методом ПЦР была обнаружена в мазках уреоплазма (1 группа-7% детей, 2 группа-0%), микоплазма (1 группа-7% детей, 2 группа-0%), в крови ЦМВ (1 группа-18% детей, 2 группа-0%).

Диагностика методом ИФА выявила наличие специфических высокоавидных антител IgG к ЦМВ, ВПГ, ВЭБ у 100% детей 1 группы. Во 2-й группе антитела IgG к ЦМВ были выявлены у 77% детей, из них у 20% низкоавидные антитела; антитела IgG к ВПГ были выявлены у 85% детей, из них у 18% низкоавидные антитела; антитела IgG к ВЭБ у 77% детей. У детей 1 группы антитела IgM к ЦМВ, ВПГ, ВЭБ не определялись. У 8% детей 2-й группы были выявлены антитела IgM к ЦМВ, ВПГ, *Chlamidia trachomatis*. У 11% детей 1-й группы были выявлены антитела IgA к *Chlamidia trachomatis*.

При бактериологическом обследовании у детей 1 группы в мазках из интубационной трубки в 64% случаев высевался *Staphylococcus epidermidis*. Во второй группе в мазках из зева и носа *Staphylococcus epidermidis* определялся у 23% детей.

Общей закономерностью реакции иммунной системы на инфекционный агент у детей обеих групп было развитие дисбаланса субпопуляций Т-лимфоцитов, дисиммуноглобулинемия и нарушения метаболической активности фагоцитов, причем направленность и выраженность этих изменений была неоднозначной.

У детей с врожденной пневмонией (1 группа) на фоне увеличения количества лейкоцитов периферической крови до ( $14,7 \pm 1,3 \times 10^9/\text{л}$ ) и снижения процента лимфоцитов ( $36,2\% \pm 4,3\%$ ), отмечался дисбаланс Т-хелперов и Т-супрессорно-цитотоксических лимфоцитов в сторону увеличения лимфоцитов с маркерами CD3<sup>+</sup> ( $80 \pm 6,1\%$ ), CD3<sup>++</sup>CD4<sup>+</sup> ( $68 \pm 7,4\%$ ), (ИРИ –

3,4±0,5), увеличение иммуноглобулинов класса М (0,54±0,1г/л) и снижение метаболической активности фагоцитов (коэффициент стимуляции – 1,5).

У детей с ОРВИ (2 группа) содержание лейкоцитов периферической крови ( $9,8 \pm 2,3 \times 10^9/\text{л}$ ) было достоверно ( $p \leq 0,05$ ) ниже. Дисбаланс субпопуляций лимфоцитов с хелперной и супрессорной активностью незначителен (ИРИ – 2,5), в большей степени увеличивалось содержание лимфоцитов с киллерной активностью (8,9±1,2%), количество В-лимфоцитов (15,2±3,7%), отмечалось снижение иммуноглобулинов класса G до  $7,6 \pm 1,4$  г/л.

Таким образом, течение ОРВИ и врожденной пневмонии у новорожденных детей и особенности реакции иммунной системы в значительной степени определяются характером течения беременности у их матерей и сроками возможного инфицирования.

У детей с врожденной пневмонией достоверно чаще ( $p \leq 0,05$ ) определялась бактериальная, хламидийно-микоплазменная микрофлора. У детей с ОРВИ – маркеры активной герпесвирусной инфекции (IgM и низкоавидные IgG к ВПГ и ЦМВ).

Выявленные нарушения иммунного статуса у обследуемых детей, свидетельствуют об участии иммунной системы в развитии инфекционно-воспалительных процессов дыхательных путей. Направленность и выраженность

этих изменений зависит от сроков инфицирования, тяжести процесса и вида инфекционно-этиологического фактора, что необходимо учитывать при подборе терапии этих состояний.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дегтярев Д. Н., Заплатников А. Л., Рюмина И. И. Врожденные и перинатальные инфекции. В кн. Неонатология: национальное руководство. / Под ред. Н. Н. Володина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. С. 656-672.
2. Сотникова А. В. Анализ иммунологических параметров новорожденных с инфекционно-воспалительной патологией в зависимости от тяжести процесса / А. В. Сотникова и др. // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2005. – № 5, Прил. 1. – С. 201.
3. Заплатников А. Л., Корнева М. Ю., Коровина Н. А. и др. Риск вертикального инфицирования и особенности течения неонатального периода у детей с внутриутробной инфекцией // Рус. мед. журн. 2005. № 13 (1). С. 45-47.
4. Ярцев М. Н. Иммунная недостаточность: клинико-лабораторная оценка иммунитета у детей / М. Н. Ярцев // Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 36-45.
5. Беловолова Р. А., Вороненко И. И., Дудникова Э. В. и др. Диагностическая значимость определения иммунного статуса при патологии у новорожденных детей и возможности иммунотерапии // Российский аллергологический журнал-Москва, 2008-№ 1 с. 40-41.

## CHANGES IN THE IMMUNE STATUS OF NEWBORNS WITH CONGENITAL AND ACQUIRED RESPIRATORY DISEASES

R. A. Belovolova, I. I. Voronenko, O. G. Dolgopolova, M. H. Tumasova,  
O. A. Lubchenco, M. V. Popova, N. A. Davidova

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don City Hospital № 20, Rostov-on-Don, Russia

Functional immaturity of the immune system of a newborn baby, the impact of adverse factors internal and external environment are accompanied by a decrease in the body's anti-infective resistance, which can lead to respiratory diseases. Up to 25% of infectious respiratory diseases constitute congenital pneumonia and acute respiratory viral infections.

## КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И СОСТОЯНИЕ АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ СРЕДНЕТЯЖЕЛОЙ И ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Белоглазов В. А., Попенко Ю. О., Гордиенко А. И.,  
Шадчнева Н. А.

«Медицинская академия имени С. И. Георгиевского Ф ГАОУ ВО  
«КФУ имени В. И. Вернадского»», Симферополь, Россия

Целью данного исследования было изучение клинических особенностей, клеточного состава индуцированной мокроты, состояния гуморального антиэндотоксिनowego (АЭИ) иммунитета у больных среднетяжелой и тяжелой бронхиальной астмой (БА). В исследование было включено 109 больных с диагнозом БА. Все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от тяжести заболевания. В ходе исследования было зарегистрировано, что почти во всех случаях среднетяжелой и тяжелой БА было неконтролируемое течение заболевания. У больных тяжелой БА наблюдалось преобладание нейтрофильного компонента эндобронхиального воспаления. Так же у данной категории больных был зарегистрирован дисбаланс гуморального эндотоксिनowego иммунитета, что может свидетельствовать о роли АЭИ в патогенезе и тяжести течения БА.

Бронхиальная астма (БА) является распространенной болезнью органов дыхания, имеющая тенденцию к росту заболеваемости во всем мире при значительном удельном весе терапии-резистентных клинических вариантов [1].

Одним из возможных триггеров обострения и фактора самоподдерживающего хронического воспаления является эндотоксин (ЭТ), действие которого (физиологическое или патологическое) определяется состоянием ЭТ-связывающих систем организма [2].

Целью данного исследования было изучение клинических особенностей, клеточного состава индуцированной мокроты, состояния гуморального антиэндотоксिनowego (АЭИ) иммунитета у больных среднетяжелой и тяжелой БА.

**Материал и методы.** В исследование было включено 109 больных с диагнозом БА в возрасте от 18 до 60 лет (средний возраст – 44±1,1 г.), из них было 63 (58%) женщины и 46 (42%) мужчин, находившихся на амбулаторном лечении основного заболевания.

Все больные были разделены на две клинические группы в зависимости от тяжести заболевания. В 1-ю группу вошли боль-

ные среднетяжелой БА – 68 человек (62,4%), ОФВ<sub>1</sub> – 67,09±2,10%. Пациенты 1 группы получали комбинированную терапию: сальметерол в дозе 100 мкг/сут и флутиказон пропионат в дозе 500-750 мкг/сут. Во 2-ю группу были включены больные тяжелой БА – 41 человек (37,6%), ОФВ<sub>1</sub> – 34,45±1,05%. Пациенты 2 группы получали комбинированную терапию: сальметерол в дозе 100 мкг/сут и флутиказон пропионат в дозе 1000 мкг/сут. Контрольную группу составили 23 здоровых донора.

Анализ уровня контроля у больных бронхиальной астмой осуществляли с помощью опросника ACQ (Asthma Control Questionnaire) Elizabeth Juniper (1999 г). При анализе уровня контроля верхней границей контролируемой астмы считали средний балл – 0,75, а средний балл от 0,75 до 1,5 – частично контролируемая астма, неконтролируемая астма – средний балл выше 1,5.

Уровни антиэндотоксिनowych антител классов А, М, G (соответственно АЭТ-IgA, АЭТ-IgM, АЭТ-IgG) в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА. В качестве антигена использовали коммерческий препарат липополисахарида *Escherichia coli* K235

(Sigma Chem. Co., USA) по протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского [3].

Определение характера эндобронхиального воспаления осуществляли с помощью изучения количества нейтрофилов и эозинофилов в индуцированной мокроте. Индуцированную мокроту получали в соответствии с рекомендациями Европейского респираторного Общества [4].

**Результаты собственных исследований.** При анализе контроля БА было зарегистрировано: в 1 группе средний балл по опроснику ACQ составлял  $3,00 \pm 0,14$ , во 2 группе –  $4,06 \pm 0,12$ , что означает, неконтролируемый характер течения БА во всех клинических группах ( $p < 0,01$  между 1 и 2 группами).

При изучении клеточного состава индуцированной мокроты в группе тяжелой БА зарегистрировано преимущественно нейтрофильный характер эндобронхиального содержимого (нейтрофилы – 65 (48-75)%, эозинофилы 2 (2-4)%), а в группе среднетяжелой БА эозинофильно-нейтрофильный характер эндобронхиального содержимого (нейтрофилы – 50 (30-65)%, эозинофилы – 4 (2-15)%).

Уровень АЭТ-IgM был достоверно повышен во всех клинических группах: в 1-й группе – в 1,9 раза, во 2-й группе – в 2,0 раза по сравнению с нормальной величиной (0,095 ед. опт. плотн.) этого показателя ( $p < 0,05$  в обоих случаях). Повышение данного показателя у больных БА может свидетельствовать как о наличии системной антигенемии, так и о преимущественно Т-независимом характере антительного ответа на ЭТ. Концентрация АЭТ-IgA в 1-й клинической группе была достоверно выше величины данного показателя у здоровых доноров в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), а во 2-й группе концентрация не выходила за пределы диапазона нормы (0,130 ед. опт. плотн.,  $p > 0,05$ ). Повышение сывороточного АЭТ-IgA может рассматриваться как своеобразный ответ иммунной системы на биологический запрос со стороны иммунной системы ассоциированной со слизистыми оболочками о потребности в «сборке» повышенного количества секреторного АЭТ-IgA, который в избытке потребляется на периферии. В этом контексте «нормальный» уровень АЭТ-IgA при тяжелой БА может быть связан с истощением этого механиз-

ма защиты слизистых оболочек от чрезмерного действия ЭТ.

Во всех группах больных БА концентрация АЭТ-IgG не выходила за пределы нормы и без существенных межгрупповых отличий, что расценивалось нами как антительный нормореспондерный генетически детерминированный ответ на липополисахарид граммнегативной флоры [5].

#### **Выводы:**

1. Клиническими особенностями среднетяжелой и тяжелой БА на амбулаторном этапе лечения (ингаляционные ГКС и  $\beta_2$ -агонисты длительного действия) является низкий уровень контроля согласно опроснику ACQ: в 1 группе (среднетяжелой БА) – 3,00, 2 группа (тяжелая БА) – 4,06 ( $p < 0,01$ ), и два фенотипа эндобронхиального воспаления: с преобладанием эозинофилов, и с преобладанием нейтрофилов.

2. При тяжелой и среднетяжелой персистирующей БА выявлен дисбаланс системного гуморального АЭИТ в виде достоверного повышения уровня сывороточного АЭТ-IgM в 1,9 раза в 1 группе и во 2 группе – 2 раза ( $p < 0,01$ ) относительно уровня нормы, что отражает активную транслокацию ЭТ (ингаляционного и кишечного происхождения) во внутренние среды организма. У больных среднетяжелой БА уровень АЭТ-IgA был достоверно выше нормы в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), в группе больных тяжелой БА данный показатель был в диапазоне здоровых лиц. При этом уровень АЭТ-IgG сохранялся в пределах нормы.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Global initiative for asthma: Global strategy for asthma management and prevention (update 2012) [Electronic resource]. Режим доступа: <http://www.ginasthma.org>
2. Amersfoort Van E., Van Berkel T. J.C., Kuiper J. Receptors, Mediators, and Mechanisms Involved in Bacterial Sepsis and Septic Shock. *Clinical Microbiol. Rev.* 2003, 16 (3), 379-414.
3. Патент 70193 А. Спосіб визначення антитіл до ліпополісахаридів грамнегативних бактерій/Гордієнко А.І., Білоглазов В.О. – Заявл. 29.12.2003; Опубл. 15.09.2004. – Бюл. № 9.
4. Paggiaro P.L., Chanez P., Holz O., Ind P.W. Sputum induction. *Eur Respir J.* 2002, 20 (37), 3s-8.
5. Гордиенко А.И., Бакова А.А., Химич Н.В., Белоглазов В.А. Уровни естественных антител к липополисахаридам энтеробактерий у постоянных доноров республики Крым. *Имунологія та алергологія* 2003, 4, 31-36.

## CLINICAL CHARACTERISTICS AND CONDITION ANTIENDOTOXIN IMMUNITY IN PATIENTS WITH MODERATE TO SEVERE ASTHMA

Beloglazov V.A., Popenko Yu.O., Gordienko A.I.,  
Shadchneva N.A.

*Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia*

The aim of study was to evaluate the clinical features, cellular composition of induced sputum and the state of humoral antiendotoxin immunity in patients with moderate to severe asthma. The study included 109 patients with a diagnosis of asthma. All the patients were divided into two groups depending on the severity of the disease. The study reported that moderate and severe asthma had uncontrolled course in almost all cases. Neutrophilic endobronchial inflammation component was observed to predominate in the patients with severe asthma. Besides imbalance of humoral endotoxin immunity was recorded in this group of patients, which may indicate the role of imbalance of humoral endotoxin immunity in pathogenesis and severity of asthma.

---

---

## ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОРЕЗОНАНСНОЙ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Болдырева Ю.С., Лобкова О.С.

*Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова,  
Санкт-Петербург, Россия*

В работе отражены современные представления о возможностях использования биорезонансной диагностики и терапии у больных аллергическими заболеваниями. Биорезонансная диагностика позволяет точно диагностировать причинно значимые инфекции у пациентов без инвазивного вмешательства, поэтому метод рекомендуется широко применять для профилактики и лечения не только у взрослых, но и у детей.

**Актуальность.** В аллергологической практике на сегодняшний день существует большое количество традиционных диагностических и лечебных методов, с помощью которых можно эффективно обследовать и лечить пациентов. Однако, существуют обстоятельства, которые осложняют течение заболевания и затрудняют подбор лечебных средств: лекарственная аллергия на многие препараты (антибиотики, НСПП, йодконтрастные вещества, анестетики и др.), которые нужны пациенту по показаниям, но применение их невозможно, недостаточное и, зачастую, дорогостоящее в современной лабораторной диагностике обследование пациентов на предмет паразитарных и вирусных инфекций. Учитывая эти аспекты, в течение 7 лет в клинической практике авторы исследования стали активно при-

менять диагностическое обследование ВРТ и биорезонансную терапию аллергических и соматических заболеваний [1, 3, 4, 5].

**Цель исследования:** изучение возможности использования биорезонансной диагностики и терапии у больных аллергическими заболеваниями и разработка методов их профилактики на основе полученных результатов.

В дополнение к традиционным аллергологическим методам обследования пациентов использовался диагностический биорезонансный прибор «Паркес», который относится к разделу новейших технологий в биорезонансной медицине и соответственно имеет ряд отличительных особенностей. Он позволяет провести обследование организма на наличие паразитарных (глистных) инвазий, простейших, грибковых, бактериальных, вирусных

инфекций с высокой точностью, провести диагностику по органам и системам, определить непереносимость продуктов питания, недостаток витаминов, макро- и микроэлементов [3, 4, 5].

Биорезонансная терапия – это метод оздоровления, позволяющий устранить причины, которые привели к нарушению здоровья, и создающий оптимальные условия для включения механизмов самовосстановления и саморегуляции, присущих организму любого человека от рождения. Результаты исследований электронных сигналов в живых организмах, полученные одновременно в Университете Макса Планка в Германии и в Марбургском Университете (проф. Ф.А. Попп), показали, что между клетками и внутри клеток большинства живущих организмов существует постоянный обмен информацией на внутриклеточном уровне. М. В. Го со своим коллективом, основываясь на результатах экспериментов, подтвердил, что всякий биохимический процесс – это проявление электромагнитной активности клеток. Это означает, что как химически, так и биологически мы можем воспроизводить его. Ученые точно установили параметры электромагнитных частот, характерные для определенных тканей и органов до и после их активизации. Это значит, что применяя биорезонансную терапию, с большой точностью можно влиять на биохимические процессы, происходящие в нашем организме. Биорезонансная терапия медицинским прибором «BIOMEDIS» – это исключительно естественный метод оздоровления, позволяющий устранить причины, которые привели к нарушению здоровья и создать оптимальные условия для включения механизмов самовосстановления и саморегуляции, присущих организму любого человека от рождения. В дополнение к антипаразитарному набору программ в аппаратный блок прибора включен и широкий спектр лечебных программ, нейтрализующих ряд наиболее частых причинных факторов основных болезней – хронический стресс, нарушение взаимодействий в центральной нервной, гормональной и иммунной системах. Частотные влияния БРТ восстанавливают и активизируют основные системы регуляции и контроля организма [2, 4, 5].

**Материалы и методы исследования.** Обследовано с помощью клинических, аллергологи-

ческих, иммунологических методов диагностики (постановки кожных тестов, реакции торможения миграции лимфоцитов с пищевыми, бактериальными, микотическими аллергенами, определения уровня специфических Ig E по отношению к бытовым, пищевым, пыльцевым аллергенам, Ig G – по отношению к паразитарным антигенам), а также диагностического вегето-резонансного тестирования (ВРТ) с использованием диагностического комплекса «Паркес» (российский сертификат соответствия № 0470108 от 10.12.2010 г.) у 50 больных аллергическими заболеваниями: острой и хронической рецидивирующей крапивницей – 33 пациентов, атопическим дерматитом, осложненным микотической инфекцией – 9, псориазом – 3, бронхиальной астмой – 5 больных в возрасте 18-56 лет, женщин – 32, мужчин – 18. У всех больных выявлены глистные инвазии (по данным обследования ВРТ). Наиболее часто встречаемыми были трихинеллы (89,0% больных), аскариды (73,0%), описторхи (78,0%), дифиллоботриоз (62,0%), стронгилоидоз (62,0%), гименолепидоз (62,0%), энтеробиоз (55,0%), трихостронгилоидоз (50,0%), метагонимоз (50,0%), анкилостомидоз (45,0%), тениаринхоз (45,0%). Реже встречались эхинококкоз (39,0%), клонорхоз (39,0%), шистосомоз (39,0%), трихоцефалез (34,0%), цистицеркоз (34,0%), альвеококкоз (34,0%), фасциолез (28,0%), тениоз (23,0%). У 45,0% пациентов выявлены лямблии. Кроме того, у 50,0% пациентов обнаружена грибковая инфекция – кандидаальбиканс, у 80,0% – эпидермофитон, аспергиллус, трихофитон. У 100,0% пациентов выявлены стафилококк, стрептококк, у 80,0% – хеликобактер пилори, иерсинии – 17,0%, у 8,0% – сальмонелла. Среди вирусных инфекций у 100,0% пациентов обнаружен вирус герпеса I, II типа и вирус папилломы, реже встречались аденовирусная, ротавирусная, РС-вирусная инфекция, вирусы Коксаки различных типов. У 90,0% пациентов выявлен микроэлементоз, чаще встречалось недостаточное содержание в организме селена, цинка, меди, железа, играющих основную роль в регуляции защитных функций иммунной системы, антиоксидантной защиты и апоптоза. Также у 15,0% пациентов отмечалось наличие в организме тяжелых металлов (ртути, свинца), а также нефтепродуктов. Следует отметить, что только у 30,0% пациентов имела место сенсibili-

лизация пищевыми, бытовыми, пылевыми аллергенами.

**Результаты комплексной терапии.** Биорезонансную терапию с помощью медицинского аппарата «BIOMEDIS» (НПО «Биомедис», рег. удостоверение № ФСР 2008/03495 от 24.07.2009 г.) прошли 18 пациентов, из которых 5 человек, страдающих микотической экземой, 2 – бронхиальной астмой, 10 пациентов – крапивницей, 3 – псориазом, 2 больных – поллинозом. Пациенты получили 15-25 сеансов 2 раза в неделю в течение 2-2,5 часов лечение по программам «Дренаж». «Лимфа и детокс», «Детокс матрикс», «Очистка крови», «Очистка плазмы», «Элиминация токсинов», а также весь спектр антипаразитарных программ по нозологическим формам, учитывая индивидуальный паразитарно-микробный и вирусный пейзаж для каждого пациента. После проведенной терапии через 1-1,5 месяца все пациенты отметили значительное улучшение состояния, заключающееся в исчезновении симптомов заболевания и нормализацию клинико-лабораторных показателей обследования крови, а также повторных результатов диагностики ВРТ, свидетельствующих об элиминации паразитарных инвазий.

**Обсуждение.** Биорезонансное тестирование с помощью медицинского диагностического комплекса «Паркес» позволяет точно диагностировать причинно-значимые инфекции широкого спектра у пациентов без инвазивного вмешательства, что не всегда удается сделать с помощью иммунологиче-

ских методов и ПЦР. Вследствие этого метод рекомендуется широко применять не только во взрослой, но и в детской практике. У всех обследованных пациентов с помощью диагностического комплекса «Паркес» выявлены паразитарные инвазии. Это позволило правильно подобрать терапию и существенно повысить эффективность лечения. Комплексное лечение пациентов аллергией с применением биорезонансной терапии позволяет врачу быстро и эффективно оказать неотложную помощь и получить положительный результат.

Таким образом, применение таких инновационных способов диагностики и лечения больных как ВРТ и биорезонансная терапия, помогает быстро и безопасно провести лечение больных аллергическими заболеваниями и эффективно профилактировать обострение заболевания в будущем.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адаптивная биорезонансная терапия интеллектуальными приборами.– М.: «Биомедис», 2011.–41 с.
2. Анохин П. К. Принципиальные вопросы общей теории систем.– М., 1971.– 48 с.
3. Гаряев П. П. Волновой геном. М.: «Общественная польза», 1994.– 52 с.
4. Готовский Ю. В., Косарева Л. Б., Блинков И. Л., Самохин А. В. Экзогенная биорезонансная терапия фиксированными частотами.– М.: «Имедис», 2011.– 151 с.
5. Ревегук А. А. Новое поколение медицинских приборов.– М.: «Биомедис», 2011.– 15 с.

### USE BIO-RESONANCE DIAGNOSTICS AND THERAPY IN PATIENTS WITH ALLERGIC DISEASES

**Boldyreva Y. S., Lobkova O. S.**

*Military-Medical Academy named S. M. Kirova, Saint-Petersburg, Russia*

The study reflects current view about the possibilities of using bio-resonance diagnostics and therapy in patients with allergic diseases. Bioresonance diagnostics allows to form precise diagnose without invasive intervention, so this method could be recommended for widespread use for the prevention and treatment not only in adults but also in children.

## ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ВИРУС КРАСНУХИ В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ

Борисова Т. К., Дмитриев Г. В., Мельникова Т. С.,  
Зверев В. В.

ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова РАМН, Москва, Россия

Для изучения иммунного ответа на ВК были использованы 2 модельные системы: кролики Шиншилла и мыши линии Balb/c. Показано, что титр вируснейтрализующих антител при иммунизации кроликов ВК штамм С-77 (39 пас) был достоверно выше такового при иммунизации вакцинным штаммом, что может свидетельствовать о более высокой антигенности штамма С-77. На линии мышей Balb/c показана способность ВК индуцировать клеточный ответ. Показано, что вакцинный штамм Ra 27/3 и штамм С-77 обладают разной иммуногенностью не только в отношении гуморального ответа, но и клеточного. В ответ на вакцинный штамм развивается преимущественно клеточный ответ по Тх-2 типу, а на штамм С-77 преобладает активация Тх-1 типа. Высокий уровень выявляемого в системе *in vitro* провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  свидетельствует о запуске врожденного иммунитета при встрече с ВК.

**Введение.** Большинство вакцин против краснухи, содержащих аттенуированный штамм краснухи Wistar RA 27/3, вызывает сероконверсию в 92-98%. Тем не менее, многолетние наблюдения в США показали, что среди вакцинированных данной вакциной школьников (вакцинация в возрасте 6 лет) со временем (к 16 годам) у 3-14% отсутствовали полностью антитела к вирусу краснухи, а у 4-23% был низкий, субпротективный уровень антител. Молекулярные механизмы такого низкого поствакцинального иммунного ответа неизвестны [1]. Менее изучен клеточный механизм развития иммунного ответа на вирус краснухи.

**Целью работы** являлось изучение роли различных клеточных популяций в формировании иммунного ответа на вирус краснухи на модельной системе.

**Материалы и методы.** В работе использовали вирус краснухи двух штаммов: отечественный штамм вируса краснухи С-77- дикий вариант (wt) (6 пассаж) и ослабленный вариант (са) 39 пассаж, и вакцинный штамм вируса краснухи Wistar RA 27/3 на 27 пассаже. Антигенные свойства вариантов штамма С-77 (wt и са39) и штамма WistarRA27/3 изучали с использованием иммунологического маркерного теста на кроликах Шиншилла (самки, 2,5-3,0 кг). Сыворотки крови исследовали

в реакции нейтрализации. Реакцию нейтрализации проводили с использованием реакции ЦПД в культуре клеток RK-13 [2]. Мыши линии Balb/c, самки, 18-20 г. были получены из питомника Андреевка. Животных иммунизировали препараты всех штаммов в дозе 3,0lg ТЦД<sub>50</sub>/мышь. Для иммунизации *in vitro* и выявления секреции цитокинов использовали клеточную суспензию спленоцитов (2·10<sup>6</sup>/мл) интактных и иммунных мышей. В качестве положительного контроля в культуру спленоцитов мышей добавляли митоген ФГА – 5 мкг/мл. Для определения секреции цитокинов использовали коммерческие ИФА-системы фирмы R&D Biosciences (США). Титр антител, специфичных к ВК в сыворотке кроликов и мышей, проводили с помощью набора «Векто-Рубелла – IgG» «Вектор-Бест» (Россия) по протоколу, рекомендованному фирмой-производителем.

**Результаты.** Ранее нами было показано, что вирус краснухи (ВК) индуцирует формирование иммунного ответа как у кроликов, так и у мышей [2]. В данной работе было решено использовать мышиную модель для оценки Т-клеточного ответа, а для сравнения гуморального ответа на разные штаммы ВК – кроликов Шиншилла.

Уже на первой неделе после иммунизации кроликов ВК наблюдался рост титра антител

к wt C-77, который достигал максимальных значений 1:32 на 3-9 неделях. Титр антител к са39 варианту штамма C-77, а также к штамму RA27/3 был значительно ниже, что согласуется с классическим испытанием Линнеманна на иммуногенность ослабленных штаммов. После повторной иммунизации максимальный титр вируснейтрализующих антител был выявлен у кроликов, зараженных wt вариантом штамма C-77 (1:32) на третьей неделе, титр вируснейтрализующих антител, индуцированных са39 C-77, составил 1:16 с первой по пятую неделю после повторного заражения. Титр антител к штамму RA27/3 составил 1:8 на первую и третью неделю после вторичной иммунизации и 1:4 на пятую неделю. Следует отметить, что титр вируснейтрализующих антител при иммунизации са39 C-77 был достоверно выше такового при иммунизации вакцинным штаммом, что может свидетельствовать о более высокой антигенности штамма C-77. Для оценки Т-клеточного ответа на ВК была проанализирована секреция цитокинов IFN- $\gamma$ , IL-4 и IL-10 в культурах интактных и гипериммунных спленоцитов мышей. Было показано, что в ответ на иммунизацию всеми штаммами ВК в культуре спленоцитов гипериммунных мышей наблюдалась секреция всех анализируемых цитокинов. Однако была отмечена разница в концентрации цитокинов, продуцируемых на разные штаммы. Так, наиболее значимые величины секретируе-

мых цитокинов IL-4 и IL-10 наблюдались в ответ на вакцинный штамм RA27/3, тогда как в ответ на штамм C-77 концентрация данных секретируемых цитокинов была значительно ниже. Напротив, в группах мышей гипериммунизированных штаммом C-77 (6пас и 39 пас) при иммунизации *in vitro* спленоцитов соответствующим штаммом концентрация выявляемого цитокина IFN- $\gamma$  увеличивалась в 10 раз по сравнению с первичной иммунизацией интактных спленоцитов и была достоверно выше таковой в ответ на вакцинный штамм. Во всех культурах спленоцитов отмечалась повышенная секреция цитокина TNF- $\alpha$ . Это относится также и к иммунизации диким штаммом вируса краснухи, что свидетельствует об участии факторов врожденного иммунитета в иммунном ответе на вирус краснухи. Таким образом, анализируя полученные данные по секреции цитокинов *in vitro* в ответ на ВК, можно заключить, что при иммунизации мышей вирусом краснухи штамм C-77 (6п и 39п) преобладает активация Th-1 типа в отличие от вакцинного штамма RA 27/3, для которого соотношение Th1/Th2 сдвинуто в сторону Th-2 типа.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Reef S.E., Frey T.K., Teal K., et al. – JAMA 2002, v. 287, p. 464-472.
2. Дмитриев Г.В., Борисова Т.К., Файзулов Е.Б., Зверев В.В. – РАЖ, 2011, № 4, с. 445-446.

### THE IMMUNE RESPONSE TO THE RUBELLA VIRUS IN THE MODEL SYSTEM

Borisova T. K., Dmitriev G. I., Melnikova T. S., Zverev V. V.

*Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, RAMS, FSBI, Moscow, Russia*

To study the immune response to RV were used 2 model system: Chinchilla rabbits, and mice of the line Balb/c. It is shown that the titer of virus neutralizing antibodies by immunization of rabbits RV strain C-77 (pas 39) was reliably higher than that upon immunization with vaccine strains, which may indicate a higher antigenicity of strain C-77. The line of mice Balb/c shows the ability of the RV cell response. It is shown that the vaccine strain RA 27/3 and strain C-77 have different immunogenicity not only in terms of humoral response and cellular. In response to the vaccine strain develops mainly cell response on Th-2 type, and the strain C-77 predominant activation of Th-1 type. High level detected *in vitro* proinflammatory cytokine TNF- $\alpha$  indicates the start of innate immunity at the meeting with the RV.

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА У ДЕТЕЙ В ИРКУТСКЕ ЗА ДЕСЯТИЛЕТНИЙ ПЕРИОД

Буйнова С. Н.<sup>1</sup>, Мизерницкий Ю. Л.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ДПО Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, Иркутск; <sup>2</sup>Научно-исследовательский клинический институт педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Проведено эпидемиологическое исследование по программе ISAAC частоты симптомов аллергического ринита у детей 7-8 и 13-14 лет в г. Иркутске в 1998-1999 гг. и 2008-2009 гг. Согласно результатам исследования, среди школьников увеличилась частота риноконъюнктивальных симптомов за 10-летний период. Отмечается высокая степень сочетания симптомов ринита и астмы.

*Ключевые слова:* аллергический ринит, эпидемиология

Аллергический ринит (АР) является одним из самых распространенных хронических заболеваний в детском возрасте. Высокая значимость этого заболевания обусловлена его высокой частотой, негативным влиянием на социальную активность и качество жизни детей, частым сочетанием с другой патологией, особенно бронхиальной астмой.

Эпидемиологическое мультицентровое исследование по программе ISAAC (International Study of Asthma and Allergy in Childhood), охватившее более 1 млн. детей 6-14 лет в 98 странах, показало, что частота симптомов АР варьирует от 0,8 до 39,7% [4, 5]. Распространенность АР в различных регионах России колеблется от 12 до 24% [1, 2, 3]. С середины XX века уровень распространенности АР существенно повысился, но в последнее десятилетие в большинстве стран отмечается снижение темпов прироста частоты симптомов АР в среднем до 1% в год (в диапазоне от 0,4% в Западной Европе до 2,3% в Африке) [5]. Максимальное увеличение было зафиксировано в странах с низким и средним уровнем дохода, в основном, у старших детей [4, 5]. Исследователи высказывают мнение, что рост частоты симптомов АР, вероятно, достиг своего пика в большинстве регионов.

В России выполнены единичные исследования, посвященные изучению динамики частоты симптомов АР у детей. Так, в Мо-

скве у детей 13-14 лет отмечено увеличение распространенности симптомов АР с 33,1% в 1996 г. до 39,0% в 2006 г ( $p < 0,01$ ) [1]. В Новосибирске у детей 7-8 лет частота симптомов АР в 2002 г. не изменилась по сравнению с 1996 г. (21,3% и 22,6% соответственно,  $p > 0,05$ ), а у детей 13-14 лет отмечен небольшой, но недостоверный прирост (32,0% и 29,6%,  $p = 0,0$ ) [2]. В Иркутске данные о тенденциях в распространенности АР отсутствуют. В связи с этим целью данной работы явилось изучение динамики частоты симптомов АР у детей 7-8 и 13-14 лет за период с 1998-1999 гг. по 2008-2009 гг.

**Материалы и методы.** Согласно программе ISAAC, проведен анкетный скрининг в случайно отобранных школах г. Иркутска. Вопросники для школьников 1-2-х классов заполняли их родители, старшеклассники на вопросы анкеты отвечали самостоятельно. В 1998-1999 гг. в исследование было включено 3037 детей 7-8 лет и 3061 – 13-14 лет, в 2008-2009 гг. – 3084 и 3010 школьников соответственно. Статистическая обработка проводилась на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ MS Excel (Microsoft Office 2007). Статистическую значимость различия величин, полученных в разные временные интервалы, вычисляли как сравнение двух выборочных долей вариант с помощью ППП STATISTICA 6.0.

**Результаты и обсуждение.** Как первичное, так и повторное анкетирование показало высокую распространенность симптомов АР. Так, наличие когда-либо чихания, насморка или заложенности носа без признаков простуды или гриппа в 2008 г. отметили 33,5±0,9% детей 7-8 лет и 47,4±0,9% – 13-14 лет ( $p < 0,001$ ). В тоже время проявления со стороны носа за последний год (текущие симптомы) регистрировались несколько реже – у 28,3±0,8% детей 7-8 лет и 37,4±0,9% – 13-14 лет ( $p < 0,001$ ). Эти данные сопоставимы с показателями текущих симптомов ряда стран Европы: Польши (27,0% у детей 6-8 лет и 33,0% – 13-14 лет), Литвы (22,1% и 26,0% соответственно), Финляндии (40,1% у детей 13-14 лет), а также Новосибирска (20,9% у детей 7-8 лет и 32,5% – 13-14 лет) [2, 4, 5].

В обеих возрастных группах отмечен прирост частоты текущих АР симптомов, более выраженный у младших школьников (23,1±0,8% в 1998 г. и 28,3±0,8% в 2008 г.,  $p < 0,001$ ) по сравнению с подростками (34,1±0,9% и 37,4±0,9% соответственно,  $p < 0,05$ ). Среднегодовой прирост составил в первой группе 0,52%, во второй – 0,33% в год. Следует отметить, что в обеих возрастных группах увеличение распространенности симптомов АР в большей степени отмечалось у девочек: 26,8±1,1% и 34,2±1,1% в группе младших девочек и 42,1±1,2% и 49,3±1,3% у девочек-подростков ( $p < 0,001$  в обоих случаях). В структуре тяжести симптомов АР увеличилась доля легких проявлений заболевания: у детей 7-8 лет от 56,8% в 1998-1999 гг. до 63,6% в 2008-2009 гг. ( $p < 0,001$ ), у детей 13-14 лет – от 73,6% до 81,9% соответственно ( $p < 0,001$ ). Вероятно, это связано с улучшением диагностики АР, а также с большей информированностью детей и родителей.

При анализе сезонности проявлений риноконъюнктивита выявлено, что среди как младших, так и старших детей отмечается снижение доли изолированных симптомов поллиноза, проявляющихся с мая по сентябрь, но эти различия не достигают достоверных значений. Так, у детей 7-8 лет в 1998-1999 гг. изолированные летние симптомы составляли 32,4%, в 2008-2009 гг. – 26,5%, у детей 13-14

лет – 23,9% и 22,6% соответственно ( $p > 0,05$  в обоих случаях).

Сохраняется высокая частота сочетаний симптомов поражения верхних и нижних дыхательных путей: от 8 до 20% анкетированных детей указали в анкетах одновременно на наличие признаков и астмы, и ринита; при этом каждый третий ребенок с назальными проявлениями имел и астмоподобные симптомы.

**Заключение.** Таким образом, проведенное исследование в г. Иркутске показало, что за последнее десятилетие среди детей 7-8 и 13-14 лет по данным анкетного скрининга отмечается достоверное увеличение частоты симптомов АР, в основном, за счет легких форм. При этом сохраняется высокая частота сочетаний назальных и астмоподобных симптомов. В связи с этим необходимо совершенствование диагностики, лечения и профилактики АР как самостоятельного заболевания, так и предиктора бронхиальной астмы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биличенко Т. Н., Балдуева М. Ф., Чучалин А. Г. Десятилетняя динамика респираторного здоровья подростков 13-14 лет в г. Москве // Сб. трудов XVII Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Казань, 2007. – С. 6.
2. Кондюрина Е. Г., Елкина Т. Н., Филатова Т. А. и др. Динамика аллергического марша у школьников г. Новосибирска // Аллергология. – 2003. – № 3. – С. 36-39.
3. Черняк Б. А., Тяренькова С. В., Буйнова С. Н. Аллергические риниты в Восточной Сибири: распространенность, этиологическая характеристика и взаимосвязь с бронхиальной астмой в разных возрастных группах // Аллергология. – 2002. – № 2. – С. 3-9.
4. Ait-Khaled N., Pearce N., Anderson H. R. et al. Shah and the ISAAC Phase Three Study Group Global map of the prevalence of symptoms of rhinoconjunctivitis in children: The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three // Allergy. – 2009. – Vol. 64. – P. 123-148.
5. Asher M. I., Montefort S., Björkstern B. et al. ISAAC Phase Three Study Group. Worldwide time trends prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys // Lancet. – 2006. – Vol. 26 (368). – P. 733-743.
6. УДК [616.211-002+612.017.2] –036.22-053.2

## THE EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ALLERGIC RHINITIS IN CHILDREN IN IRKUTSK CITY DURING THE 10 YEARS PERIOD

Buynova S. N.<sup>1</sup>, Mizernizkii Y. L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk; <sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Epidemiological investigation of allergic rhinitis symptoms frequency was undertaken on ISAAC program in children 7-8 years and 13-14 years in Irkutsk City in 1998-1999 and 2008-2009. According to results of investigation, the frequency of symptoms of rhinoconjunctivitis among schoolchildren has increased during 10 years period. The high degree of combination of asthma and rhinitis was observed.

*Key words:* allergic rhinitis, epidemiology

---

---

## ДИАГНОСТИКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ (ЛН)

Васнева Ж. П., Кузнецова Т. А., Верблани Н. А.

АО «Самарский диагностический центр», Самара, Россия

Анализ результатов 20-летней работы по обследованию пациентов с ЛН с помощью разработанного CD45-теста показал, что востребованность в данном виде лабораторного обследования устойчиво возрастает. При использовании в тест-системе *in vitro* местных анестетиков (МА) объем проведенных исследований возрос в 25 раз. В 4,3 раза увеличилась доля детей, направленных на оценку чувствительности к МА. Частота встречаемости повышенных показателей к анестезирующим и анальгезирующим средствам у пациентов с ЛН регистрируется в 56,8% и 45,0% случаев, соответственно, к антибиотикам – 18,4%, витаминам – 27,6% случаев.

*Ключевые слова:* CD45-тест, лекарственная непереносимость, лабораторная диагностика

Проблема эффективной лабораторной диагностики для пациентов с ЛН не теряет своей актуальности и по настоящий день. Ряд зарубежных авторов отдают предпочтение *in vivo* тестам по причине таких достоинств, как высокая корреляция с данными клинического анамнеза, высокая специфичность и информативность [1]. Однако, практика использования *in vivo* тестов свидетельствует о высоком риске развития анафилактических реакций, который достигает 37,0%. В связи с этим, более предпочтительным считается использование методов *in vitro* диагностики, основным достоинством которых является то, что они не инвазивны, более удобны в интерпретации полученных результатов и предоставляют возможность для проведения их стандартизации [2].

Среди всех методов *in vitro* можно выделить такие, которые направлены на оценку специфического гуморального иммунитета, другие – клеточно-опосредованного. В рамках первой группы методов наибольшее распространение приобрели ИФТС по определению уровней специфических IgE- и IgG-антител в сыворотке периферической крови. Однако, информативность таких исследований очень ограничена по той причине, что истинно аллергические реакции на лекарственные препараты (ЛП) встречаются редко и в большем проценте случаев не сопровождаются генерализованным выбросом специфических антител. В связи с тем, что большинство реакций ЛН клеточно-опосредованы, при лабораторном обследовании такой категории пациентов требуются методы,

оценивающие состояние специфической сенсибилизации на клеточном уровне. В лабораторной практике имеется широкий ассортимент и таких методов, но все они давно морально устарели, трудоемки и не поддаются элементарной унификации и стандартизации [3].

К решению проблемы лабораторного обследования пациентов с ЛН в отделе лабораторной диагностики (ОЛД) Самарского диагностического центра (СДЦ) приступили с 1993 года и в 1996 году был разработан и внедрен CD45-тест. Данный тест позволяет оценить степень сенсибилизации к водорастворимым ЛП по динамике уровня экспрессии общелейкоцитарного антигена CD45 в пробе с исследуемым веществом относительно таковой в контрольной пробе с физиологическим раствором [4]. Кроме того, использование технологических возможностей проточной цитометрии позволяет уточнить характер выявленной повышенной лекарственной сенсибилизации (реагиновый, цитотоксический, псевдоаллергический). Исследование критериев информативности данного теста показало, что определяемый коэффициент сенсибилизации (КС) зависит от комплекса патологических процессов, групповой принадлежности используемого ЛП и сопряжен с иммунологическими показателями, определяющими развитие аллергической реактивности. Так, для анестезирующих средств, антибиотиков и витаминов информативность метода колеблется в пределах 74,0-66,7%, достоверность – 68,4-77,8%, чувствительность – 75,0-87,5%, специфичность 62,5-75,0%. Для анальгезирующих средств данные критерии находятся в более низких пределах 55,2-61,8%. Дискриминационная концентрация (ДК) КС для антибиотиков, антигистаминных и гормональных препаратов составила – 0,5, анестезирующих средств и витаминов – 0,3, остальных – 0,2 [5].

**Целью** данной работы явился анализ результатов использования CD45-теста в практике работы клинической лаборатории за период 1993-2012 гг. при обследовании пациентов с ЛН.

**Результаты и обсуждение.** Анализ динамики потока пациентов с ЛН, направляемых на методы специфической диагностики, показал, что за пятилетний период (1993-1997) было обследовано всего 418 человек (1991 исследований), тогда как с внедрением CD45-теста в 1998-2002 гг. – уже 812 человек (2521

исследований), 2003-2007 гг. – 1649 человек (5026 исследований), 2008-2012 гг. – 1961 человек (7795 исследований).

Следует отметить, что удельная доля пациентов с непереносимостью местных анестетиков (МА) в общем потоке пациентов с ЛН за период 2001-2009 гг. возросла в 1,85 раз, доля исследований – в 5 раз. Количество пациентов, направленных на оценку КС к МА за этот период возросло в 18,25 раз, проведенных исследований – в 25 раз. Кроме того, отмечается возрастание удельной доли детей среди пациентов с непереносимостью МА. На период 2001-2006 гг. она составляла 6,0%, в 2007-2010 гг. – 15,0%, к 2012 г. возросла до 26,0% случаев. Отмечено и увеличение удельной доли мужчин в данном потоке пациентов с 17,4% случаев (2001-2008 гг.) до 28,0% (2009-2012 гг.).

Анализ результатов клинической апробации CD45-теста за период 2001-2007 гг. показал, что у пациентов с ЛН повышенные уровни КС (>ДК) к анестезирующим средствам регистрируются, в среднем, в 62,6%, анальгезирующим средствам – в 45,5%, антибиотикам – в 26,1%, витаминам – в 43,25%, антигистаминным препаратам – в 32,0% случаев. За период 2010-2012 гг. таковые к анестетикам отмечаются в 51,0%, анальгетикам – 44,6%, антибиотикам – 10,7%, витаминам – 12,0% случаев.

Проведенные нами сравнительные исследования диагностической информативности CD45-теста с другими методами специфической диагностики (Калий-тест, Гистамин-тест, ЦИК-тест и ИФТС), внедренными в ОЛД СДЦ, показали, что частота повышенных (> ДК) КС к ЛП, полученных с помощью CD45-теста, в среднем за 15 летний период, составляет 35,0% случаев, тогда как таковая, полученная с помощью других тестов, колеблется от 8,8% до 22,0%.

Таким образом, резюмируя результаты проведенного анализа можно отметить, что с внедрением CD45-теста в практику работы ОЛД СДЦ количество обследованных пациентов с ЛН увеличилось в 4,7 (проведенных исследований – в 4 раза), пациентов с непереносимостью МА в 18,25 (исследований в 25 раз). В 4,3 раза увеличилась доля детей и в 1,6 раз мужчин на определение КС к МА. Частота встречаемости повышенных КС к анестезирующим и анальгезирующим средствам регистрируется в 56,8% и 45,0% случаев, соответственно, к антибиотикам – 18,4%, витаминам – 27,6% случа-

ев. В сравнении с другими методами специфической диагностики CD45-тест демонстрирует более высокий уровень информативности.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nezam – Diba S., A-Farchoudi. Evaluation of the method of skin-test for penicillin sensitivity diagnosis. XVIth International Congress of Allergy and Clin. Immunol. Cancun. 1997, 126.
2. Новиков Д. К., Сергеев Ю. В., Новиков П. Д. Лекарственная аллергия. Москва, 2001, 313 с.
3. Васнева Ж. П. Лекарственная непереносимость. Самара, 2003, 160 с.
4. Патент 2295726 РФ, МПК 7601 № 33/52, 33/53, 33/49. Способ определения специфической гиперчувствительности и ее характера *in vitro*. / Васнева Ж. П.
5. Васнева Ж. П. Дисс. ... канд. биол. наук. Челябинск, 1999, 153 с.

### DRUG HYPERSENSITIVITIES DIAGNOSTIC

J. P. Vasneva, T. L. Kuznetcova, N. A. Verblany

The analyse of the 20 – years results of the investigation of drug hypersensitivities patients used by new CD45-test was done. The number of the drug hypersensitivities patients (adults and childrens) for that laboratory investigation were significantly increased. The positive results frequency to the anesthetics and analgetics, used by CD45-test, in the drug hypersensitivities patients were registrated in 56,8% and 45,0% cases, respectivity, to antibiotics – 18,4%, vitamins – 27,6%.

*Key words:* CD45-test, drug hypersensitivity, laboratory diagnostic

### ИММУНОДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Васнева Ж. П.<sup>1</sup>, Бородулина Е. А.<sup>2</sup>, Бородулин Б. Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>АО «Самарский диагностический центр»; <sup>2</sup>Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, Самара, Россия

Обосновано внедрение иммунологических методов *in vitro* в качестве дополнительных для детей с проблемной интерпретацией кожных туберкулиновых проб (Манту и Диаскинтеста). В частности, показана перспективность использования интерфероновых тестов в комплексе с отечественными методами определения CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоцитов в качестве показателя туберкулезной инфицированности у детей с отрицательным Диаскинтестом. Определены пороговые уровни CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоцитов равный 15,0% и стимулированного Диаскинтестом® IFN-γ – 18,0 пг/мл для диагностики туберкулезной инфицированности у детей с проблемной интерпретацией кожных туберкулиновых проб.

*Ключевые слова:* туберкулезная инфицированность, диаскинтест, CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоциты

**Введение.** В начале 21 века инфицирование микобактериями туберкулеза (МБТ) детей в России неуклонно увеличивалось и достигло 20,7%, а в некоторых районах до 70% случаев, росла среди детей и заболеваемость туберкулезом, которая составляла около 20 на 100 тыс. детского населения (в Самарском

регионе 17-21 на 100 тыс. населения) [1]. В связи с этим, проблема раннего выявления МБТ – инфицированных лиц стала еще более актуальной. Однако, интерпретация результатов проб Манту стала проблематичной. Сущность и механизм действия туберкулина остаются спорными, отмечается нарастание частоты ре-

зультатов, трудно интерпретируемых на фоне поствакцинальной аллергии. В современных условиях также следует принимать во внимание и рост количества иммунокомпроментированных детей и детей с аллергическими заболеваниями [2].

Появление Диаскинтеста®, основанного на использовании рекомбинантного туберкулезного аллергена, представляющего собой коктейль белков, продуцируемых генетически модифицированной *Escherichia coli*, скорее поставило новые вопросы, чем решило проблему эффективной диагностики МБТ-инфицированности. В ряде работ показано, что отмечаются отрицательные результаты Диаскинтест® у инфицированных МБТ пациентов [3]. Кроме того, было выявлено, что сопутствующая патология влияет на выраженность положительной реакции на Диаскинтест® в сторону ее повышения. Требуется объяснения и факт встречаемости положительных результатов Диаскинтеста® (до 10,0%) у здоровых, не инфицированных МБТ детей.

На XV Всероссийском Форуме имени академика В.И. Иоффе, состоявшемся в июне 2015 года в г. Санкт-Петербурге, было постулировано, что после более чем 30-летних исследований в области иммунологии туберкулеза мы находимся на этапе ревизии многих устоявшихся представлений. Назрела необходимость внедрения иммунологических методов в процесс диагностики МБТ-инфицирования, особенно для детей с проблемной интерпретацией кожных туберкулиновых проб. Среди таковых особенное внимание привлекает квантифероновый тест (КФТ), возможности которого, однако, не позволяют использовать его для выявления МБТ-инфицированности среди контактных лиц (информативность 30,4%). Требуется дальнейшего изучения и высокий процент (58,6%) отрицательных результатов КФТ у детей с генерализованным туберкулезом [3]. Внимание исследователей все более сосредотачивается на использовании методов клеточной иммунодиагностики при туберкулезе, таких как T-SPOT.TB и Mtb-CD27. В основе нового отечественного метода оценки активности туберкулезного процесса лежит определение CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup> ИФН-γ<sup>+</sup>-лимфоцитов, представляющих собой поздние эффекторы – хелперы, продуцирующие ИФН-γ в ответ на стимуляцию антигенами МБТ [4].

Известно, что при длительной антигенной стимуляции МБТ происходит накопление пула CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоцитов в ПК и повышенная МБТ – специфическая продукция ИФН-γ, что и используется в тест-системе *in vitro* в качестве показателя МБТ-инфицированности [4]. В продолжение развития данного направления, нами в свою очередь, был разработан более экономичный и простой по выполнению тест для оценки МБТ-инфицированности у детей с отрицательным Диаскинтестом®, в основе которого лежит определение уровня CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоцитов в ПК и выброса ИФН-γ клетками ПК после стимуляции Диаскинтестом® *in vitro* [5].

Целью работы явилось определение пороговых уровней CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоцитов ПК и продукции ИФН-γ, стимулированной Диаскинтестом® *in vitro* и их сравнение у здоровых детей и детей с локальными формами туберкулеза.

**Материалы и методы.** Обследовали 100 детей с ЛФТ в возрасте от 1 до 15 лет, БЦЖ-вакцинированных с положительными реакциями Манту в 100,0% и Диаскинтеста в 90,0% случаев и 54 здоровых ребенка соответствующей возрастной группы, БЦЖ-вакцинированных с положительной реакцией Манту в 100,0% случаев, оцениваемой как поствакцинальная аллергия, с отрицательным результатом на препарат Диаскинтест®. В периферической крови (ПК) определяли процентное содержание CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоцитов с использованием меченых ФИТЦ и фикоэритрином МКАТ серии LT (“Сорбент”, Москва) и лазерного проточного цитофлюориметра “Calibur” (“BD” USA) в режиме CellQuest Pro. В супернатанте после инкубации гепаринизированной ПК с фитогемагглютинином (ФГА) и Диаскинтестом® (ЗАО «Лекко», Москва) в течение 24 часов при 37°C определяли уровень ИФН-γ с использованием ИФТС (НПО “Вектор-Бест”, Новосибирск).

**Результаты и обсуждение.** Было получено, что у здоровых детей уровень CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоцитов колебался от 0,1% до 15,0% и, в среднем, составил 4,15%. Уровень спонтанной продукции ИФН-γ колебался от 0,0 до 28,0 пг/мл и, в среднем, составил 5,25 пг/мл. Уровень стимулированной ФГА продукции ИФН-γ колебался от 0,0 до 4642,0 пг/мл и, в среднем, составил 953,0 пг/мл. Уровень стимулированной Диаскинтестом® продук-

ции IFN- $\gamma$  колебался от 0,0 до 17,6 пг/мл и, в среднем, составил 8,9 пг/мл. У детей с ЛФТ уровень CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоцитов колебался от 0,1% до 99,0% и, в среднем, составил 56,5%. Уровень стимулированной ФГА продукции IFN- $\gamma$  колебался от 0,0 до 1000,0 пг/мл и, в среднем, составил 545,6 пг/мл. Уровень стимулированной Диаскинтестом продукции IFN- $\gamma$  колебался от 0,0 до 384,4 пг/мл и, в среднем, составил 38,8 пг/мл.

**Заключение.** Таким образом, можно заключить, что уровни CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>-лимфоцитов равный 15,0% и стимулированного Диаскинтестом® IFN- $\gamma$  равный 18,0 пг/мл можно рассматривать в качестве пороговых, превышение которых может указывать на инфицирование МБТ у детей или локальный туберкулезный процесс.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нечаева О.Б. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу среди детей России. Туберкулез и болезни легких. 2013, № 6, 62.
2. Бородулина Е.А., Бородулин Б.Е. Индивидуальная туберкулинодиагностика прик-тестом. Туберкулез и болезни легких. 2006, № 3, 33.
3. Ахмерова Т.Е., Бородулина Е.А., Титугина А.Ю. Проба Манту и Диаскинтест в диагностике туберкулеза у детей. Матер.1-го конгресса «Национальная ассоциация фтизиатров», С-Петербург. 2012, 71-73.
4. Патент 2480765 RU С1 МПК G01N 33/53. Способ оценки эффективности лечения туберкулеза легких. Лядова И.В., Никитина И.Ю., Кондратьев Н.А., Васильева И.А.
5. Заявка на патент № 20141474/15 (067160). Способ диагностики туберкулезной инфекции. Бородулин Б.Е., Васнева Ж.П., Бородулина Е.А. и др., от 14.10.2014.

## IMMUNE DIAGNOSTIC OF MBT INFECTION

J. P. Vasneva, E. A. Borodulina, B. E. Borodulin

The using of the immunological methods in vitro for skin tuberculin hypersensitivities childrens investigation are very actually now. Particulary, the complex of interferon methos with cytometric methods for the detection CD27neg-lymphocyte helpers are perspectivity for use as a MTB-infection rate in the children with negative Diaskintest. The discrimination levels of CD27neg-chelpers is 15,0% and Diaskintest stimulate IFN- $\gamma$  – 18,0% pg/ml in the childrens with the skin tuberculin tests interpretartions problems were revealed.

*Key words:* MTB-infection, Diaskintest, CD27neg-chelpers

## ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ НЕБЛАГОПОЛУЧНЫХ РЕГИОНОВ КАЗАХСТАНА

Газалиева М.А., Култанов Б.Ж., Тимченко Н.А.,  
Ахметова Н.Ш., Ахмалдинова Л.Л., Жумабекова Б.К.,  
Дедова О.Ю., Казимирова О.В.

*Карагандинский государственный медицинский университет,  
Караганда, Казахстан*

В статье освещены вопросы изучения экологически обусловленных заболеваний у населения урбанизированных территорий Казахстана. Малоизученной и особо актуальной является проблема ранних иммунологических изменений. При оценке иммунологической реактивности организма жителей зоны экологической катастрофы и экологического кризиса Приаралья установлено, донозологической ступенью прогнозируемых эколого-ассоциированных заболеваний являются стадия иммуносупрессии и аллергизации организма мужчин старшей возрастной группы зоны экологической катастрофы и женщин зоны экологического кризиса Приаралья.

В Республике Казахстан экология и здоровье человека – одна из актуальных проблем, к которой в настоящее время привлечено внимание исследователей [1]. Проведённые казахстанскими учёными крупномасштабные исследования с применением гигиенических, эпидемиологических, медико-биологических методов изучения урбанизированных территорий развили экологический подход к исследованию состояния здоровья населения и расширили представления о патогенезе болезней человека. Так, в ходе эколого-гигиенического районирования промышленных зон выбраны отдельные регионы Республики Казахстан с развитой черной металлургией – г. Темиртау, п. Чкалово, с центром цветной металлургии – г. Усть-Каменогорск, п. Глубокое, химической промышленности – г. Тараз, уранового производства – п. Шолакорган, п. Созак, нефтегазового сектора – г. Актау, г. Жанаозен, энергетический центр Республики – г. Экибастуз и п. Солнечный и контрольная (курортная) зона – г. Щучинск, п. Бурабай. Среди них, наиболее неблагоприятными городами, у населения которых имело место 9-8 экологически зависимых нозологий и принадлежавшие к 6-5 классам заболеваний, явились г. Темиртау, г. Усть-Каменогорск, г. Актау и г. Экибастуз; неблагоприятным городом средней степени, у населения которого имело место 7 экологически зависимых нозологий и принадлежавшие к 4 классам заболеваний – г. Тараз; к более благополучному городу, у населения которого было 4 экологически зависимых нозологии и принадлежавшие к 3 классам заболеваний – г. Щучинск [2].

Острый характер приобрела и Аральская проблема как крупнейшая экологическая катастрофа планеты. Так, казахстанская часть Приаралья объявлена зоной экологического бедствия, где наблюдается интенсивное опустынивание и другие устойчивые необратимые процессы деградации окружающей природной среды, ухудшение условий жизни, рост заболеваемости населения [3].

Анализ обнаруженного учёными Казахстана экологически обусловленных нарушений на территориях высокого уровня загрязнения, позволил представить их рост по трём основным направлениям, где наряду с увеличением частоты осложнений беременности и родов, спонтанных аборт, врожденных аномалий развития и генетических дефектов, пренаталь-

ной, перинатальной и младенческой смертности отмечен рост иммунодефицитных состояний и заболеваемости детей хроническими болезнями органов дыхания, пищеварения, крови, почек, онкологическими и аллергическими заболеваниями, а среди взрослого населения – частоты онкологических процессов, профессиональных заболеваний, химической гиперчувствительности и скрытых хронических отравлений, вторичных иммунодефицитов, хронических заболеваний систем органов дыхания и кровообращения, болезней печени и крови, дистрофических процессов [2].

В данной ситуации, когда выявляются эффекты последствий, не оставляя места для профилактических мероприятий, при прогнозировании состояния здоровья населения важно выявить предпатологические состояния, среди которых иммунопатология имеет первостепенное значение, так как иммунная система – чувствительный индикатор воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды, по изменению показателей которой можно оценить предпатологические, компенсаторные и токсические эффекты у населения неблагоприятных зон. Однако, несмотря на проведённые исследования, ещё мало сведений об иммунологическом мониторинге состояния здоровья населения изучаемых территорий. Так, Центрально-Казахстанском регионе, у горожан г. Темиртау, выявленный ряд изменений в функционировании иммунной системы, расценён учёными как умеренно выраженный комплекс экологически обусловленной иммунной недостаточности, которое затрагивает в основном клеточное звено иммунитета [4]. Также единичны работы по иммунологическому обследованию жителей экологически неблагоприятных территорий Восточно-Казахстанского региона, где также наблюдаются лабораторные проявления иммунной недостаточности [5].

В настоящее время для выявления ранних, предпатологических состояний организма людей, проживающих в условиях загрязнённой среды Приаралья, нами поставлена цель – изучить иммунологическую реактивность жителей с применением обще-клинических и иммунологических методов исследований (определение иммуноглобулинов класса А, М, G, E методом ИФА). В ходе исследования изучаемые группы населения Приаралья были разделены по полу, возрасту (18-29, 30-39,

40-49 лет) и анализировались отдельно в зоне экологической катастрофы и зоне экологического кризиса.

По результатам исследований, патологически сниженное содержание IgM (в 4,59% случаев,  $p \leq 0,01$ ) и IgG (в 17,52% случаев,  $p \leq 0,01$ ) наблюдалось у женщин зоны экокритиса и встречалось реже по сравнению с женщинами зоны экокритиса, особенно среди лиц самого старшего возраста, в то же время пониженное содержание IgA и патологически повышенное (на 10%) содержание IgE у женщин зоны экокритиса регистрировалось во всех возрастных группах чаще, чем у женщин зоны экокритиса Приаралья. При сравнении групп мужчин двух изучаемых зон установлено, что патологически сниженное содержание IgG (в 26,5% случаев) и IgA (в 2,1% случаев,  $p \leq 0,01$ ) встречалось более часто у молодых лиц мужского пола зоны экокритиса, менее часто – патологически сниженное содержание IgM во всех возрастных группах, особенно (до 4,3% случаев,  $p \leq 0,01$ ) в средней группе мужчин данной зоны, чем у лиц зоны экокритиса. Наиболее часто патологически повышенный уровень IgE (в 23,6% случаев) наблюдался в старшей возрастной подгруппе мужчин зоны экокритиса. Таким образом, донологической ступенью прогнозируемых эколого-ассоциированных заболеваний явля-

ются стадия иммуносупрессии и аллергизации организма мужчин старшей возрастной группы зоны экологической катастрофы и женщин зоны экологического кризиса Приаралья.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Современное эколого-гигиеническое состояние урбанизированных территорий Казахстана /Под редакцией д.м.н., профессора Аманжол И.А.. Караганда – 2012. – 179 с.
2. Современные проблемы экологически зависимых заболеваний населения урбанизированных территорий /Под редакцией д.м.н., профессора Аманжол И.А., д.м.н., профессора Аманбековой А.У.– Караганда – 2012.
3. Арыстанова Г.Т. Гигиеническая характеристика качества объектов окружающей среды в зоне экологической катастрофы региона Приаралья //Автореф. дисс. канд. Алматы, 2000, 31 с.
4. Койгельдинова Ш.С., Аманбекова А.У., Ибраева Л.К. и др. Иммунологическое обследование в рамках экологического мониторинга у жителей Карагандинской области //«Мед. экология: современное состояние, проблемы и перспективы» – Мат-лы конф., 20-21, Казан, 2011, Туркістан – С. 67-70.
5. Койгельдинова Ш.С., Аманбекова А.У., Ибраева Л.К. и др. Иммунологическое обследование в рамках экологического мониторинга у жителей Восточно-Казахстанского региона //«Мед. экология: современное состояние, проблемы и перспективы» – Мат-лы конф., 20-21, Казан, 2011, Туркістан – С. 70-72.

#### STUDY OF THE IMMUNOLOGICAL REACTIVITY OF THE POPULATION LIVING IN ECOLOGICALLY UNFAVORABLE REGIONS OF KAZAKHSTAN

M.A. Gazaliyeva, B. Zh. Kultanov, N.A. Timchenko,  
N.S. Akhmetova, L.L. Akhmalidinova, B.K. Zhumabekova,  
O.Y. Dedova, O.V. Kazimirova

The article highlights the issues of the study of environmentally caused diseases among the population in urban areas of Kazakhstan. Byway and particularly urgent is the problem of early immunological changes. In assessing the immunological reactivity of ecological disaster zone residents and environmental crisis Aral Sea region established preclinical stage predicted environmental-related diseases are the stage of immunosuppression and sensitization of the body of men older age group zone of ecological disaster and female zones of ecological crisis Aral Sea region.

## ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫЙ ВТОРИЧНЫЙ ИММУНОДЕФИЦИТ НА НАЧАЛЬНОЙ СТАДИИ РАКА ТЕЛА МАТКИ

Генинг Т. П., Абакумова Т. В., Антонеева И. И.,  
Генинг С. О., Михеенко А. А., Долгова Д. Р.

*Ульяновский государственный университет, Ульяновск, Россия*

Оценивали морфофункциональное состояние нейтрофилов периферической крови больных на Ia стадии рака тела матки. Секреторную активность нейтрофилов оценивали по спонтанной продукции цитокинов IL-2, IFN- $\gamma$ , G-CSF, активности миелопероксидазы, уровню катионных белков, активности в спонтанном НСТ-тесте, уровню ММП-1, -9, -13, эластазы. Фагоцитарную активность оценивали по фагоцитарному индексу и фагоцитарному числу. Для оценки рецепторного аппарата определяли экспрессию CD11b, CD16, CD63 и CD95. Топологию и ригидность мембраны нейтрофилов оценивали методом сканирующей зондовой микроскопии. Также оценивали способность к образованию внеклеточных ловушек. В результате проведенных исследований установлено на фоне увеличения относительного количества нейтрофилов, значимое возрастание уровня ММП-1 и G-CSF при снижении уровня эластазы и индуктора цитотоксической активности IL-2, усиление фагоцитарной активности. Архитектоника нейтрофилов характеризовалась изменением формы, утратой зернистости и снижением жесткости клеточной мембраны. Полученные результаты могут свидетельствовать о развитии вторичной иммунной недостаточности на Ia стадии рака тела матки по типу гиперфункции.

*Ключевые слова:* рак тела матки, фенотип периферических нейтрофилов

Вторичная иммунная недостаточность (ВИН) – нарушение иммунной системы, не являющееся результатом генетического дефекта и развивающееся у взрослых. Выделяют три формы ВИН: приобретенную, индуцированную и спонтанную. Индуцированная форма включает нарушения иммунитета, развивающиеся в том числе и при злокачественных новообразованиях. При ВИН определяют два типа иммунных расстройств: активационные, по типу гиперфункции, и депрессивные, по типу гипофункции [1], что имеет принципиальное значение при разработке схем иммунокоррекции. Признание двух типов ВИН диктует изменение идеологии при трактовке сдвигов в иммунном статусе.

РТМ занимает первое место в структуре онкогинекологической патологии в России [2]. Более чем у 70% больных РТМ заболевание диагностируется на I стадии, однако, смертность от этой патологии составляет 4,6%. Установлено, что при возникновении и развитии в организме злокачественной солидной опухоли, происходит трансформация фенотипа нейтро-

филов (Нф). Данные литературы и результаты наших исследований [3,4] позволяют предполагать модифицирующее влияние неоплазмы на Нф. Конечный эффект при этом зависит от типа опухоли, места локализации и стадии её развития.

Целью исследования была оценка морфофункционального состояния Нф периферической крови на начальной стадии РТМ.

Обследуемая группа состояла из 123 первичных больных РТМ Ia стадии (по FIGO). В лизате Нф оценивали спонтанную продукцию цитокинов (IL-2, IFN- $\gamma$ , G-CSF), эластазы и активных форм матриксных металлопротеиназ (ММП-1, -9 -13). Рассчитывали фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ) и индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ). Цитохимически в Нф определяли активность миелопероксидазы (МПО), уровень катионных белков (КБ), долю активных нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте. Результаты выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК).

Для оценки способности образования внеклеточных ловушек (NET) Высчитывали коли-

чество нейтрофильных ловушек, содержащих дрожжевые клетки, из 100 подсчитанных сетеподобных структур, и индекс нейтрофильной ловушки (усл.ед.).

Для оценки рецепторного статуса оценивали экспрессию CD11b, CD16, CD63, CD95 с использованием моноклональных антител (ЗАО «Сорбент», г. Москва). Топологию и ригидность мембраны Нф оценивали методом сканирующей зондовой микроскопии. Ригидность мембран оценивалась по модулю Юнга, который рассчитывали согласно теории Герца.

В качестве центральной характеристики применяли медиану, а при сравнении использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

В результате проведенных исследований установлено возрастание относительного количества Нф ( $60,6 \pm 3,0\%$  против  $53,4 \pm 1,7\%$  в контроле). Повышение активности МПО ( $2,72 \pm 0,07$  СЦК против  $1,56 \pm 0,16$  СЦК в контроле), количество Нф, активных в НСТ-тесте ( $2,02 \pm 0,22$  СЦК против  $1,06 \pm 0,17$  СЦК в контроле) и уровень КБ ( $1,74 \pm 0,09$  СЦК против  $0,92 \pm 0,14$  СЦК в контроле). Повышение количества этих потенциально цитотоксических медиаторов может свидетельствовать о праймировании Нф. Нами также показано незначительное, но достоверное увеличение ФИ ( $49,2 \pm 4,75\%$  против  $41,2 \pm 6,43\%$  в контроле), ФЧ ( $1,67 \pm 0,17$  у.е. против  $2,06 \pm 0,22$  у.е. в контроле). В качестве альтернативы фагоцитозу сегодня рассматриваются NET. Формирование которых является важным механизмом врожденного иммунного ответа. Нами показано снижение способности формирования NET (число NET  $17,55 \pm 2,48$  у.е. против  $24,25 \pm 3,40$  у.е. в контроле; индекс NET  $0,23 \pm 0,06\%$  против  $0,39 \pm 0,02\%$  в контроле) Нф больных РТМ на Ia стадии заболевания. В Нф больных РТМ на Ia стадии нами установлено значимое возрастание экспрессии рецептора адгезии CD11b ( $38,25 \pm 4,97\%$  против  $29,11 \pm 4,16\%$  в контроле). В то же время экспрессия CD16, отвечающего за цитотоксическую функцию Нф и характеризующего степень созревания Нф сохранялась в пределах коридора нормы. Выявленное значимое возрастание экспрессии CD63 – маркера азурофильных гранул –  $26,75 \pm 3,21\%$  против  $14,50 \pm 2,44\%$  в контроле, которое коррелирует с повышением активности МПО ( $r=0,65$ ,  $p=0,04$ ). Также установлено значимое повышение экспрессии CD95 на Нф больных РТМ ( $37,00 \pm 5,76\%$  против  $17,20 \pm 2,53\%$  в контроле).

Нф являются участниками формирования «цитокиновой сети» секретируя ряд цитокинов. Было установлено выраженное снижение количества индуктора цитотоксической активности IL-2 ( $19,26 \pm 4,43$  ( $5,17-36,45$ ) пг/мл против  $81,32 \pm 17,31$  ( $32,46-127,41$ ) пг/мл в контроле). При этом в Нф резко увеличилась выработка G-CSF ( $35,62 \pm 7,19$  ( $22,86-63,74$ ) пг/мл против  $0$  пг/мл в контроле). Количество IFN- $\gamma$  и IL-1Ra значимо не отличались от соответствующих показателей Нф доноров. С точки зрения поведения Нф в микроциркуляторном русле оценка их механических свойств позволит оценить их способность к деформации и восстановлению. Увеличение деформации клеток и площади контакта Нф с эндотелием сосуда ведет к его повреждению. Нами установлено снижение модуля Юнга нативных Нф больных РТМ на стадии Ia по сравнению с Нф доноров ( $33,00 \pm 2,63$  кПа против  $47,49 \pm 2,55$  кПа в контроле). Это свидетельствует о повышении эластичности и вязкости клеточной мембраны и снижении жесткости Нф больных РТМ на Ia стадии.

Матриксные металлопротеиназы (ММП), входящие в семейство Zn-зависимых эндопептидаз, играют важную роль в разрушении экстрацеллюлярного матрикса. В наших исследованиях не установлено значимых изменений активности ММП-13 и ММП-9 и значимое возрастание ММП-1 ( $0,774 \pm 0,103$  ( $0,713-1,063$ ) нг/мл против  $0,508 \pm 0,079$  ( $0,389-0,743$ ) нг/мл в контроле), коррелирующее с уровнем МПО ( $r=0,71$ ,  $p=0,04$ ).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют предполагать влияние опухоли на Нф на Ia стадии РТМ. Изучение морфофункционального состояния Нф позволили установить при увеличении их относительного количества изменение рецепторного аппарата, усиление аэробной и анаэробной цитотоксичности и способности к фагоцитозу, при одновременном снижении NET-активности. Изменение секреторной активности Нф характеризовалось повышением уровня ММП-1, что, возможно, инициируется усиленной продукцией АФК, снижением уровня индуктора цитотоксической активности IL-2 и резким возрастанием уровня стимулирующего гемопоэз G-CSF. Жесткость клеточной мембраны снижается. Динамика изученных показателей определяет форму ВИН на Ia стадии РТМ как активационную по типу гиперфункции, что следует учитывать при раз-

работке схем терапевтической коррекции дисбаланса компонентов иммунной системы.

Работа выполнена при поддержке гос. задания МИНОБРНАУКИ России

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Козлов В.К. Цитокиноterapia: патогенетическая направленность при заболеваниях и клиническая эффективность. – С. – Пб.: Альтер Эго, 2010. – С. 55.
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. М., 2014.
3. Антонеева И.И., Генинг Т.П. Нейтрофильные гранулоциты в динамике прогрессии рака яичников. Клини. лаб. диагностика. 2007. 8: 43-46.
4. Klink M., Jastrzemska K., Nowak M., Bednarska K., Szpakowski M., Szylo K., Sulowska Z. Ovarian cancer cells modulate human blood neutrophils response to activation in vitro. Scand J Immunol. 2008. 68 (3):328-36.

### TUMOR ASSOCIATED SECONDARY IMMUNODEFICIENCY AT THE INITIAL STAGE OF ENDOMETRIAL CANCER

T. P. Gening, T. V. Abakumova, I. I. Antoneeva, S. O. Gening,  
A. A. Mikheenko, D. R. Dolgova

*Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia*

We evaluated the morphofunctional state of neutrophils in the peripheral blood of patients with stage Ia endometrial cancer. Secretory activity of neutrophils was assessed by spontaneous production of cytokines IL-2, IFN- $\gamma$ , G-CSF, myeloperoxidase activity, level of cationic proteins in spontaneous activity NBT-test, the level of MMP-1, -9, -13, elastase. Phagocytic activity was assessed by phagocytic index and phagocytic number. To evaluate the expression of the receptor apparatus determined CD11b, CD16, CD63 and CD95. Topology and rigidity of the membrane of neutrophils was assessed by scanning probe microscopy. Also, the ability to form extracellular traps. These studies established against increase in the relative number of neutrophils, a significant increase in the levels of MMP-1 and G-CSF when the level of elastase and inducer of the cytotoxic activity of IL-2, amplification of phagocytic activity. Architectonics of neutrophils characterized by changes in the shape, grain loss and decrease the stiffness of the cell membrane. The results may indicate the development of secondary immune deficiency in the Ia stage endometrial cancer by type hyperfunction.

*Key words:* endometrial cancer, the phenotype of peripheral neutrophils

### ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ УГЛЕРОДНОГО ИМПЛАНТА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Седегова О. Н., Годовалов А. П., Асташина Н. Б.

*ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет  
им. акад. Е. А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия*

Изучен состав лейкоцитов периферической крови, а также их функциональная активность при имплантации углеродных материалов экспериментальным животным. Показана активация моноцитарно-макрофагального и лимфоцитарного звеньев иммунной системы в первые 7 суток, а также формирование репаративного процесса в последующие 30 суток после имплантации.

Известно, что длительно протекающие воспалительные заболевания пародонта зачастую приводят к патологической подвижности зубов. Комплексное лечение патоло-

гии пародонта направлено, в первую очередь, на нормализацию состояния тканей пародонта и устранение патологической подвижности зубов. Наибольшую распространенность получили адгезивно-волоконные системы, используемые для шинирования зубов [2, 3, 5]. Однако, по мнению отечественных и зарубежных авторов на сегодняшний день не существует универсальных шинирующих конструкций, применяемых в каждой конкретной клинической ситуации. Кроме того, необходимость импортозамещения известных адгезивно-волоконных систем указывает на возможность поиска новых материалов и способов шинирования подвижных зубов при пародонтите, которые способствовали бы восстановлению полноценной биомеханики зубочелюстной системы. В качестве армирующего компонента адгезивно-волоконной системы нами предложено использование углеродного композиционного волокна (УКВ), в виду его биологической совместимости с тканями организма, высоких прочностных характеристик, а также отсутствием токсичности и канцерогенности [1].

**Цель исследования** – изучить состав лейкоцитов периферической крови, а также их функциональную активность при имплантации углеродных материалов экспериментальным животным.

**Материалы и методы.** Исследования проведены на 60 крысах-самцах линии Wistar. Через 7, 15 и 30 суток после имплантации у животных получали пробы крови, готовили препараты для микроскопии и окрашивали азур-эозином по методу Романовского-Гимза. Определяли количество эозинофилов, базофилов, нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов. Фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови изучали с использованием формализированных эритроцитов барана по методу [4]. Статистическую обработку данных проводили с использованием непарного варианта *t*-критерия Стьюдента. За пороговый уровень значимости принимали величину  $p < 0,05$ .

**Основные результаты.** В ходе проведенных исследований было установлено, что во все сроки наблюдения не было статистически значимого повышения числа лейкоцитов периферической крови. Так, перед имплантацией в крови экспериментальных животных было  $9300,0 \pm 281,7$  лейкоцитов в 1 мкл, через 7 суток от момента имплантации –  $9360,0 \pm 254,4$  в 1 мкл

( $p > 0,05$  к 0 дню), через 15 суток –  $9266,7 \pm 240,4$  в 1 мкл ( $p > 0,05$  к 0 дню) и через 30 суток –  $10100,0 \pm 341,6$  в 1 мкл ( $p > 0,05$  к 0 дню). При оценке состава клеток периферической крови не выявлено статистически значимых изменений числа эозинофилов, базофилов и палочкоядерных нейтрофилов во все сроки наблюдения. До имплантации число сегментоядерных нейтрофилов было  $2961,0 \pm 297,9$  в 1 мкл, через 7 суток после имплантации их число статистически значимо снизилось до  $2152,0 \pm 95,9$  в 1 мкл ( $p < 0,05$  к 0 дню). Через 15 и 30 суток после имплантации количество сегментоядерных нейтрофилов статистически значимо не отличалось от числа таковых клеток до имплантации. Подобные изменения количества сегментоядерных нейтрофилов, вероятно, связаны с активацией клеток в первые сутки после внедрения имплантата. Число моноцитов в периферической крови экспериментальных животных до имплантации составило  $20,4 \pm 7,3$  в 1 мкл. Через 7 суток после имплантации число моноцитов статистически значимо увеличилось и составило  $77,6 \pm 20,3$  в 1 мкл ( $p < 0,05$  к 0 дню). Через 15 суток после имплантации количество моноцитов было  $108,7 \pm 16,8$  в 1 мкл ( $p < 0,05$  к 0 дню), а через 30 суток –  $104,0 \pm 42,5$  в 1 мкл ( $p < 0,05$  к 0 дню). Увеличение числа моноцитов в периферической крови совпадает с потребностью этих клеток на периферии, в очаге внедрения имплантата, поскольку основная функция тканевых макрофагов заключается в утилизации разнообразных объектов. Известно, что существует несколько вариантов активации макрофагов. Одна из них, альтернативная, способствует репаративным процессам и ремоделированию ткани, когда у макрофагов повышается способность стимулировать фибробласты на дифференцировку, увеличивать синтез коллагеновых волокон. При оценке фагоцитарной активности лейкоцитов показано, что через 7 суток после имплантации число фагоцитирующих клеток было статистически значимо меньше ( $22,8 \pm 0,6\%$ ), чем до имплантации –  $31,9 \pm 2,3\%$  ( $p < 0,05$ ). Через 15 и 30 суток после имплантации число фагоцитарных клеток статистически значимо не отличалось от такового до имплантации. Аналогичная тенденция обнаружена при оценке фагоцитарного числа. Подобное снижение фагоцитарной активности, в том числе среди моноцитов, указывает на преобладание стимулов альтернативной

активации макрофагов. Через 7 суток после имплантации число лимфоцитов в периферической крови составило  $6977,2 \pm 133,8$  в 1 мкл и было статистически значимо выше, чем до имплантации ( $5945,6 \pm 441,5$  в 1 мкл;  $p < 0,05$ ). Через 15 и 30 суток число лимфоцитов статистически значимо не отличалось от такового до момента имплантации ( $6463,0 \pm 108,0$  в 1 мкл и  $7079,0 \pm 97,0$  в 1 мкл соответственно;  $p > 0,05$ ).

**Обсуждение.** В ходе проведенных исследований установлено, что в первые 7 суток после имплантации наблюдается активация клеток иммунной системы, преимущественно моноцитарно-макрофагальной системы и лимфоцитов. Подобные изменения отражают первый этап развития иммунного ответа, когда моноцитарно-макрофагальные клетки осуществляют распознавание внедренного объекта и представляют полученную информацию лимфоцитам. В более поздние сроки активность лимфоцитарного звена снижается, а у моноцитарно-макрофагальных клеток наблюдается альтернативная активация, способствующая регенеративным процессам.

**Заключение.** При использовании углеродных материалов наблюдается активация моноцитарно-макрофагального и лимфоцитарного

звеньев иммунной системы в первые 7 суток, а также формирование репаративного процесса в последующие 30 суток.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анциферов В.Н., Рогожников Г.И., Асташина Н.Б. и др. Применение современных конструкционных материалов при комплексном лечении больных с дефектами челюстно-лицевой области // Перспективные материалы. – 2009. – № 3. – С. 46-51.
2. Гулуев Р.С. Оценка эффективности применения адгезивно – волоконных материалов для временного шинирования в комплексном лечении хронических пародонтитов: Дис. ... канд. мед. наук. Н. Новгород; 2013. – 195 стр.
3. Иванова Д.В., Коледа П.А., Жолудев С.Е. Клинические возможности замещения единично отсутствующего зуба при заболеваниях пародонта // Проблемы стоматологии. – 2012. – № 2. – С. 57-61.
4. Каплин В.Н., Кузнецов В.Ф., Обернебесова Т.П. Методические аспекты изучения фагоцитоза // I съезд иммунологов России: Тез. докл. – Новосибирск, 1992. – С. 200-201.
5. Ряховский А.Н. Вантовые мостовидные протезы // Панорама ортопедической стоматологии. – 2002. – № 3. – С. 2.

### STUDY OF THE CARBON IMPLANT INFLUENCE ON PERIPHERAL BLOOD IN EXPERIMENTAL ANIMALS

O. N. Sedegova, A. P. Godovalov, N. B. Astashina

*Acad. E. A. Wagner Perm State Medical Academy, Perm, Russia*

The composition of peripheral blood leukocytes, as well as their functional activity upon implantation of carbon materials to experimental animals was investigated. It shows the activation of monocyte-macrophage units and lymphocyte for the first 7 days, and the formation of reparative process in the next 30 days after implantation.

## ПРЯМОЕ ВЛИЯНИЕ ГЕМОПОЭТИНОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ Т- ЛИМФОЦИТОВ

Гончаров А. Г., Шмаров В. А., Малащенко В. В.,  
Меняйло М. Е., Газатова Н. Д., Тодосенко Н. М., Мельников А. Е., Мела-  
щенко О. Б., Мархайчук А. З., Селедцов В. И.

ФГАОУ ВПО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», Кали-  
нинград, Россия

Показано, что G-CSF, GM-CSF, IL-7 и Epo могут оказывать прямое влияние на функциональные свойства человеческих Т-лимфоцитов. В частности, Epo способен снижать провоспалительную Т-клеточную активность. В отличие от вышеупомянутых гемопоэтинов, CSF-M, так же как IL-3, не оказывал значимого влияния на функциональные свойства Т-клеток.

*Ключевые слова:* колоние-стимулирующий фактор; интерлейкин-3; интерлейкин-7; эритропоэтин; Т-лимфоцит; адаптивный иммунитет

**Актуальность.** Гемопоэтины играют важную роль в механизмах регуляции естественного иммунитета, ускоряя мобилизацию иммунных клеток на борьбу с патогенами. В то же время влияние гемопоэтинов на механизмы долговременной иммунной защиты исследованы мало. Т-лимфоциты являются своеобразными дирижерами адаптивных иммунных реакций и играют основополагающую роль как в генерации, так и поддержании долговременной, патоген-специфической, иммунной защиты организма.

**Цель.** Исследовать прямое влияние гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF), макрофагального колоние-стимулирующего фактора (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF), граулоцит-макрофагального колоние-стимулирующего фактора (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), интерлейкина-3 (interleukine-3, IL-3), IL-7 и эритропоэтина (erythropoietin, Epo) на активацию и функциональные свойства Т-лимфоцитов.

**Материалы и методы.** Т-лимфоциты выделяли из мононуклеарных клеток здоровых доноров (2 женщины и 5 мужчин, средний возраст составил  $30 \pm 9$  года) методом позитивной магнитной сепарации с использова-

нием магнитных частиц, конъюгированных с анти CD3 антителами (Miltenyi Biotech, Германия). Содержание Т-клеток в исследуемых образцах составляло не менее 95%. Выделенные клетки культивировали в бессывороточной среде TexMACS (Miltenyi Biotech) с частицами, конъюгированными с антителами к CD2, CD3 и CD28 (activation/expansion kit, Miltenyi Biotech) или без них в контроле в течение 48 ч. Перед культивированием в опытные пробы добавляли исследуемые гемопоэтины. Экспрессию поверхностных молекул на клетках исследовали методом проточной многоцветной цитометрии с использованием соответствующих, меченных флюорохромами антител (e-Bioscience, США). Содержание цитокинов в клеточных супернатантах определяли посредством иммуноферментного или мультиплексного анализа с использованием коммерческих тест-систем (Вектор-Бест, Россия; Milipore, США)

**Результаты и обсуждение.** G-CSF играет ключевую роль в процессах созревания клеток миелоидного ряда. Он так же стимулирует активность зрелых нейтрофилов (Morikawa K. et al., 2002). Согласно нашим данным, активация Т-лимфоцитов может стимулировать экспрессию рецептора к G-CSF (CD114) на их поверхности. Присутствие G-CSF в культуральной

среде дополнительно повышало уровень экспрессии CD114 на активированных клетках. Среди неактивированных клеток, только CD8<sup>+</sup> центральные клетки памяти и CD8<sup>+</sup> терминально дифференцированные клетки отвечали на присутствие G-CSF повышением экспрессии CD114. G-CSF супрессировал продукцию активированными Т-клетками интерферона-гамма (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) и IL-2, стимулировал Т-клеточную продукцию IL-4, не оказывая влияния на выработку IL-10.

Мы не обнаружили значимой экспрессии рецептора M-CSF (CD115) как на покоящихся, так и на активированных Т-лимфоцитах. В соответствии с этими данными, этот гемопоэтин не оказывал существенного влияния на функциональную активность Т-клеток.

Считается, что основные иммунологические эффекты GM-CSF связаны с его влиянием на клетки моноцит/макрофагального ряда. Вместе с тем, показано, что рецепторы к GM-CSF могут экспрессироваться на Т-лимфоцитах (Yufang Shi et al., 2006). Мы установили, что GM-CSF в концентрациях 0,1 нг/мл и 1 нг/мл снижал продукцию IL-17 активированными Т-клетками до неопределяемых значений. В дозе 10 нг/мл GM-CSF, усиливал продукцию IFN- $\gamma$ . Во всех исследуемых концентрациях, GM-CSF супрессировал Т-клеточную продукцию IL-2 и IL-4.

IL-3 – гликопротеид, поддерживающий рост гемопоэтических стволовых клеток. Он также усиливает пролиферацию и дифференцировку детерминированных клеток-предшественников и вовлечен в процессы, связанные с активацией зрелых лейкоцитов. Показана экспрессия рецептора IL-3 (CD123) на гемопоэтических, эндотелиальных клетках, эозинофилах и нейтрофилах (Agnus W. et al., 2003). Полученные нами данные указывают на крайне низкую экспрессию IL-3R как на покоящихся, так и на активированных Т-лимфоцитах. Экспрессия CD123 существенно не изменялась под воздействием IL-3.

IL-7 играет важную роль в поддержании гомеостатической пролиферации лимфоидных клеток. Показана его значимость в процессе самоподдержания Т-клеток памяти (Бойчук С. В., Дунаев П. Д., 2008). Согласно результатам нашего исследования, IL-7 способен усиливать активацию наивных CD45RA<sup>+</sup>CD197<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, а также центральных CD45RA<sup>-</sup>

CD197<sup>+</sup> Т-клеток памяти. Вместе с тем, IL-7 несколько снижал уровень активации эффекторных CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>CD197<sup>-</sup> Т-клеток памяти и терминально дифференцированных эффекторных CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>CD197<sup>-</sup> Т-клеток.

Еро играет ключевую роль в поддержании эритропоэза. Рецепторы к Еро обнаружены не только на гемопоэтических клетках, но также на нейронах, эндотелиальных клетках, почечных клетках, лимфоцитах и моноцитах (Jelkmann W., 2004). Согласно нашим данным, Еро оказывал дозозависимый стимулирующий эффект на продукцию IL-2, IL-4, IL-10 и IL-13 активированными Т-лимфоцитами. Усиление продукции IL-5 было отмечено лишь в присутствии максимальной концентрации Еро (10 нг/мл). В то же время Еро оказывал супрессорный эффект на Т-клеточную продукцию IFN- $\gamma$ , не оказывая существенного влияния на продукцию IL-3, IL-6 и IL-9.

#### Выводы:

1. G-CSF, GM-CSF, IL-7 и Еро могут прямо влиять на активацию и функциональные свойства Т-лимфоцитов. В частности Еро способен супрессировать провоспалительную активность Т-клеток.
2. M-CSF и IL-3, по-видимому, не оказывают значимого прямого воздействия на функциональную активность Т-лимфоцитов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойчук С. В., Дунаев П. Д. Роль интерлейкина 7 (IL-7) в патогенезе и терапии ВИЧ-инфекции // Цитокины и воспаление. – 2008. – № 1. – С. 3–8.
2. Agnus W. Thomson, Michael T. Lotze. The Cytokine Handbook, Two-Volume Set, Fourth Edition. Academic Press; 4 edition (July 21, 2003)
3. Jelkmann W. Molecular biology of erythropoietin. Internal Medicine 43: 649-659, 2004.
4. Morikawa K., Morikawa S., Nakamura M., Miyawaki T. Characterization of granulocyte colony-stimulating factor receptor expressed on human lymphocytes. Br J Haematol (2002);118:296-304.
5. Yufang Shi, Catherine H Liu, Arthur Roberts, Jyoti Das, Guangwu Xu, Guangwen Ren, Yingyu Zhang, Liying Zhang, Zeng Rong Yuan, Hung Sheng William Tan, Gobardhan Das and Satish Devadas Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and T-cell responses: what we do and don't know. Cell Research (2006) 16: 126-133. doi:10.1038/sj.cr.7310017; published online 13 February 2006.

## DIRECT INFLUENCE OF HEMOPOETINS ON T-LYMPHOCYTE FUNCTIONALITY

Goncharov A. G., Shmarov V. A., Malashchenko V. V.,  
Meniailo M. E., Gazatova N. D., Todosenko N. M., Melnikov A. E.,  
Melashchenko O. B., Markhaychuk A. Z., Seledtsov V. I.

G-CSF, GM-CSF, IL-7 and Epo were found to be capable of affecting directly functional activities of human T-lymphocytes. In particular Epo was able to down-regulate pro-inflammatory T-cell activities. In contrast to the above-mentioned hemopoetins, M-CSF, as well as IL-3, failed to affect significantly T-cell functionality.

*Key words:* colony-stimulating factor; interleukin-3; interleukin-7; erythropoietin, T-lymphocyte, adaptive immunity

---

---

## ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У РАБОТНИКОВ АВТОСЕРВИСА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЫХЛОПНЫХ ГАЗОВ

Григорьянц К. Э., Арипова Т. У.

*Институт иммунологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан*

Проведено обследование 24 работников в возрасте от 20 до 45 лет, работающих от 1 до 20 лет в автомобильном сервисе. Изучено состояние клеточного и гуморального иммунитета. Показано, что из числа обследованных у 76% наблюдались хронические заболевания. В показателях иммунной системы наблюдались сдвиги соответствующие клиническому состоянию обследованных лиц.

*Ключевые слова:* иммунный статус, выхлопные газы, хронические заболевания

Загрязнение воздуха нефтепродуктами и выхлопными газами автомобиля, наносят значительный вред как окружающей среде и нашей планете, так и здоровью человека. Именно продукты окисления и сгорания как бензина так и дизельного топлива составляют значительную часть канцерогенных веществ в атмосфере [1,2].

Состав выхлопного газа автомобиля довольно разнообразен. Ученые насчитывают около 200 химических элементов и соединений разной степени токсичности. Помимо безопасных веществ, таких как: кислород, углекислый газ, азот и др. выхлопной дым содержит и опаснейшие токсичные вещества: формальдегид, угарный газ, бензпирен-3 и др [2, 3].

Что касается влияния на организм человека вредных веществ, то все зависит от количе-

ства попавших вредных веществ и соединений. Больше всего влиянию вредных веществ подвержены водители и работники авто сервисных служб. Длительное вдыхание выхлопных газов приводит к снижению иммунитета организма, головокружению, нарушению функционирования сердечно-сосудистой системы. Калифорнийские ученые провели исследования, и выявили, что выхлопные газы наносят значительный вред головному мозгу человека, что в дальнейшем может привести к болезни «Альцгеймера» [4].

Самый сильный вред выхлопные газы приносят в закрытых помещениях. При недостаточной вентиляции, даже при непродолжительном вдыхании выхлопных газов, это может привести к самым серьезным последствиям [3, 4].

**Целью** данного исследования явилось изучение клеточного и гуморального иммунитета работников авто сервисной службы.

**Материалы и методы исследования.** Были обследованы 24 работника автосервиса № 5 г. Ташкента. Возраст обследованных лиц был в пределах от 20 до 45 лет, со стажем работы от 1 до 20 лет в автомобильном сервисе. В зависимости от стажа работы были составлены 2 группы: 1-я группа – стаж работы до 5 лет и 2-я группа – свыше 5 лет. 15 практически здоровых молодых людей составили контрольную группу.

Для анализа состояния основных показателей иммунного статуса проведено исследование крови, взятой из локтевой вены утром до еды. Фенотипирование лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>) проводили с помощью набора моноклональных антител серии LT (ЗАО «Сорбент-сервис», Москва). Концентрацию иммуноглобулинов А, М, G определяли по методу Манчини, IgE – методом ИФА. Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли с использованием ПЭГ-6000 («Нихол», Ташкент) согласно инструкции по применению. Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ.

**Результаты и их обсуждение.** Анамнестические данные показали, что из числа обследованных лиц 54% были мужчины в возрасте до 30 лет. Состояли в браке 75% обследованных мужчин. Из них у 3-х (16,7%) не было детей, состояли в браке более 3-х лет. Анализ соматических заболеваний среди обследованных мужчин выявил следующее: аллергический ринит встречался у 25%, на аллергический дерматит жаловались 12,5%, заболевания желудочно-кишечного тракта были у 16,7%, бронхолегочная патология встречалась у 20,8% работников, артериальная гипертензия была у 2 мужчин (8,3%), урологические заболевания наблюдались у 4-х мужчин (16,7%). Таким образом, по анамнестическим данным, среди обследованных мужчин не было ни одного, который бы ни на что не жаловался.

Анализ результатов иммунологических исследований показал, что у обследованных лиц наблюдается достоверное снижение общего пула CD3<sup>+</sup>-клеток, причем более низкие показатели были у работников 1 группы (47,6 ±

1,0% против 54,3 ± 1,1% в контроле, P < 0,01), т.е. у тех, у кого стаж менее 5 лет. У работников 2-й группы показатели были ниже средних контрольных данных, но на нижней границе нормы (49,8 ± 1,1%) (P < 0,05). Анализ субпопуляционного состава Т-лимфоцитов показал, что уровень CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов снижено в обеих группах (28,6 ± 0,8%, 29,7 ± 0,85% против 33,6 ± 0,9% в контрольной группе) (P < 0,05). В 1-й группе обследованных отмечены высокие уровни содержания цитотоксических клеток (CD8<sup>+</sup>), превышающие контрольные значения в 1,3 раза (28,6 ± 0,8% против 22,3 ± 0,7%) (P < 0,05). Для 2-й группы была характерна тенденция к снижению уровня CD8<sup>+</sup>-клеток (19,8 ± 0,8%). Содержание естественных киллеров (CD16<sup>+</sup>-клеток) было выше контрольных значений в обеих группах (18,4 ± 0,6%, 19,3 ± 0,7% против 12,8 ± 0,6% в контроле) (P < 0,05). Отмечено увеличение содержания лимфоцитов с рецептором к интерлейкину-2 (CD25<sup>+</sup>) в обеих группах (28,6 ± 0,7%, 27,9 ± 0,8%) по сравнению с данными контрольной группы (22,7 ± 0,7%) (P < 0,05). Обнаружено достоверное повышение количества лимфоцитов с молекулой апоптоза (CD95) как в первой (31,6 ± 0,9%), так и во 2-й группе (32,4 ± 1,0%) относительно контрольных значений (25,8 ± 0,7%) (P < 0,05).

Следовательно, для мужчин, работающих в автосервисе, характерно увеличение зрелых, в том числе активированных Т-клеток, лимфоцитов отражающих лимфопрлиферацию, цитотоксических лимфоцитов и естественных киллеров.

При оценке гуморального иммунитета обнаружено, что у мужчин, работающих менее 5 лет, уровень В-лимфоцитов (28,7 ± 0,7%) достоверно выше контрольных значений (22,3 ± 0,6%), P < 0,05. В то время, как в группе лиц, работающих более 5 лет, наблюдалась только тенденция к повышению (24,6 ± 0,5%). Высокие значений ЦИК, превышающие нормальные физиологические пределы, обнаружены у мужчин обеих групп (P < 0,05), что указывает на достаточно высокую активность антителообразования и гуморальных механизмов иммунного процесса. Концентрация IgM оказалась повышенной в 1-й группе (165 ± 5,7 мг/%), во 2-й группе наблюдалась только тенденция к повышению – 155 ± 4,8 мг/% против 135 ± 4,1 мг/%. Уровень IgE был повышенным у 58% обследованных лиц.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что состояние иммунной системы у работников автосервиса достоверно отличается от показателей контрольной группы. Причем, более глубокие изменения в показателях иммунной системы наблюдались у лиц, имевших стаж работы меньше 5 лет в этой области. По всей видимости, это связано с процессами адаптации. Следовательно, процесс изменения иммунологической реактивности работников автосервиса во многом формируется под влиянием комплекса неблагоприятных условий, таких как выхлопные газы. Выхлопные газы (отходящие газы) – отработавшее в двигателе рабочее тело. Являются продуктами окисления и неполного сгорания углеводородного топлива. Выбросы выхлопных газов – основная причина превышения допустимых концентраций токсичных веществ и канцерогенов, являющихся частой причиной отравления в замкнутых пространствах. Количество выделяемых в атмосферу автомобилями загрязняющих веществ определяется массовым выбросом газов и составом отходящих газов [1]. Наибольшую опасность представляют оксиды азота, примерно в 10 раз более опасные, чем угарный газ. Токсичность различных углеводородов сильно отличается. Непредельные углеводороды в присутствии диоксида азота фотохимически окисляются, образуя ядовитые кислородсодержащие соединения. Обнаруженные в газах полициклические ароматические углеводороды – сильные канцерогены (бензапирен, 1,2-бензантрацен, 1,2,6,7-дибензантрацен, 5,10-диметил-1,2-бен-

зантрацен) [4]. Кроме того при использовании сернистых бензинов в отходящие газы могут входить оксиды серы, при применении этилированных бензинов – свинец (Тетраэтилсвинец), бром, хлор, их соединения. Длительный контакт со средой, отравленной выхлопными газами автомобилей, вызывает общее ослабление организма – иммунодефицит. Кроме того, газы сами по себе могут стать причиной различных заболеваний. Например, дыхательной недостаточности, гайморита, ларинготрахеита, бронхита, бронхопневмонии, рака лёгких. Выхлопные газы вызывают атеросклероз сосудов головного мозга. Опосредованно через легочную патологию могут возникнуть и различные нарушения сердечнососудистой системы [1, 4].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Луканин В. Н., Буслаев А. П., Трофименко Ю. В. и др. Автотранспортные потоки и окружающая среда: Учебное пособие для вузов. – М.: ИНФРА-М, 1998.
2. Тупикин Е. И. Общая биология с основами экологии и природоохранной деятельности: Учебн. пособие для нач. проф. образования. – М.: Издательский центр «Академия», 2002.
3. Кудяева И. В., Маснабиева Л. Б. Влияние химических веществ различной природы на показатели окислительного стресса: научное издание // Медицина труда и промышленная экология. – М., 2008. – № 1. – С. 17-24.
4. Корчагин В. А., Филоненко Ю. А. Экологические аспекты автомобильного транспорта. Учебное пособие, М.: МНЭПУ, 1997, стр. 100

#### THE CHANGINGS OF THE IMMUNE SYSTEM'S PARAMETERS IN AUTO-SERVICE EMPLOYEES UNDER THE INFLUENCE OF EXHAUST GASES

Grigor'yants K.E., Aripova T. U.

*Institute of Immunology of the Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan*

The study involved 24 workers aged from 20 to 45 years old, working from 1 to 20 years in the auto-service. The state of cellular and humoral immunity. It is shown that among the surveyed 76% were observed chronic illness. In terms of the immune system have been observed changes of relevant clinical examinees.

*Key words:* immune status, the exhaust gases, chronic diseases

## ОПЫТ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ У ДЕТЕЙ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Денисенко В. Б., Симованьян Э. Н.

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

Обследованы 67 детей с ВИЧ-инфекцией, которым была начата высокоактивная антиретровирусная терапия. Противовирусное лечение позволяет достичь стойкого подавления репликации ВИЧ, улучшить клинические и иммунологические показатели у большинства детей. У трети пациентов возникает необходимость изменения стартовой схемы в связи с утратой эффективности или побочными эффектами. Использование лопинавира/ритонавира является независимым фактором, увеличивающим продолжительность эффективности стартовой схемы антиретровирусной терапии.

Известно, что ВИЧ-инфекция (ВИЧ-И) у детей характеризуется неблагоприятным течением, быстрым формированием глубокой иммуносупрессии, что ведет к присоединению тяжелых оппортунистических инфекций, злокачественных опухолей и летальному исходу [1,2]. В связи с этим важное значение приобретают своевременная диагностика заболевания и назначение высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) [3]. ВААРТ способствует подавлению репликации ВИЧ, что приводит к положительной динамике иммунологических показателей и, в конечном итоге, к улучшению клинического статуса пациента, уменьшению скорости прогрессирования ВИЧ-инфекции и частоты летальных исходов. Вместе с тем, она не позволяет полностью элиминировать ВИЧ из организма человека, поэтому ее проводят пожизненно [4,5]. Кроме того, высокая генетическая изменчивость ВИЧ приводит к формированию лекарственной резистентности, снижению эффективности терапии и сужению возможностей для составления последующих схем лечения [3-5]. В связи с этим важное значение придается составлению стартовой и последующих схем ВААРТ, которые должны максимально длительно сохранять свою эффективность.

**Цель исследования:** охарактеризовать эффективность ВААРТ у детей с ВИЧ-И при длительном применении.

**Пациенты и методы.** Обследованы 67 детей с ВИЧ-И в возрасте 6-36 мес., ранее не по-

лучавших ВААРТ и имевшие показания к ее назначению. В схему ВААРТ входили два нуклеозидных ингибитора обратной транскриптазы ВИЧ (НИОТ) – зидовудин и ламивудин. В качестве третьего компонента методом случайной выборки в стартовую схему включали неврирапин (НВП) – у 22 чел., нелфинавир (НФВ) – у 21, лопинавир/ритонавир (ЛПВ/РТВ) – у 24 чел. Обследование пациентов проводили до начала лечения, далее один раз в 3 мес. Обследование включало клинический осмотр, определение количества Т-хелперов (CD4-лимфоцитов), вирусную нагрузку крови (ВНК) ВИЧ. При статистической обработке данных использовали методы вариационной статистики, а также анализ срока до наступления события (выживаемости) (программа «R»).

**Результаты.** Через 12 мес. ВААРТ при приеме схем 2 НИОТ + ЛПВ/РТВ, 2 НИОТ + НФВ и 2 НИОТ + НВП отмечалось достоверное ( $p < 0,05$ ) уменьшение частоты спленомегалии (с 45,8% до 4,2%; с 38,8% до 4,8%; с 45,8% до 4,2%), отставания в физическом развитии (с 83,3% до 50%; с 80,9% до 47,6%; с 77,3% до 59,1%), анемии (с 79,2% до 4,2%; с 76,2% до 28,6%; с 68,2% до 27,3%), бактериальных инфекций (со 100% до 70,8%; с 90,5% до 71,4%; с 95,5% до 82,7%), активных форм ЦМВИ (с 33,3% до 4,2%; с 38,1% до 4,8%; с 31,8% до 4,5%), Эпштейна-Барр вирусной инфекции (с 37,5% до 8,3%; с 47,9% до 9,5%; с 40,9% до 9,1%) и кандидоза (с 45,8% до 4,2%; с 52,4%

до 4,8%; с 40,9% до 4,5%), на фоне приема ЛПВ/РТВ – также гепатомегалии (со 100% до 58,3%), миокардиопатии (с 33,3% до 4,2%) и активной формы инфекции простого герпеса (с 33,3% до 4,2%).

Через 12 мес. у пациентов всех трех групп отмечалось повышение CD4-лимфоцитов, в т.ч. при приеме схемы 2 НИОТ + ЛПВ/РТВ – с Me 16,5% (ИКИ 12-23%) до Me 31% (ИКИ 26-35%), схемы 2 НИОТ + НФВ – с Me 15% (ИКИ 12-24%) до Me 27% (ИКИ 18-34%), схемы 2 НИОТ + НВП – с Me 21,5% (ИКИ 17-27%) до Me 29% (ИКИ 26-39%). У 100% больных, получавших ЛПВ/РТВ, через 12 мес. ВНК ВИЧ была менее 50 коп./мл, тогда как при приеме схем 2 НИОТ + НФВ и 2 НИОТ + НВП число таких пациентов было достоверно меньшим (71,4% и 68,2%;  $p < 0,05$ ).

Продолжительность приема стартовой ВААРТ составляла 12-60 мес. (Me 28 мес., ИКИ 13-60 мес.). На момент окончания исследования она сохраняла эффективность у 37 чел. (55,2%), была изменена в связи с утратой эффективности – у 25 (37,3%), из-за тяжелых побочных эффектов – у 5 (7,5%). Вирусологическая неэффективность имела место у 25 чел. (37,3%), иммунологическая неэффективность – у 6 (8,9%). Клинико-лабораторные показатели на момент начала стартовой ВААРТ исследованы в однофакторной и многофакторной моделях Кокса. При тестировании в однофакторной модели установлено, что статистически значимые значения продемонстрировали следующие показатели – «Спленомегалия» (отношение рисков ОР 2,7; 95% ДИ 1,1-3,7;  $p = 0,040$ ), «Энтеропатия» (ОР 2,8; 95% ДИ 1,1-7,2;  $p = 0,047$ ), «Генерализованная оппортунистическая инфекция» (ОР 3; 95% ДИ 1,2-7,9;  $p = 0,033$ ) и «Схема 2 НИОТ + ЛПВ/РТВ» (ОР 0,08; 95% ДИ 0,01-0,35;  $p < 0,001$ ). Тестирование указанных предикторов в многофакторной модели Кокса показало, что только «Схема 2 НИОТ + ЛПВ/РТВ» являлась независимым предиктором, увеличивающим длительность сохранения эффективности стартовой схемы ВААРТ (ОР 0,08; 95% ДИ 0,01-0,39;  $p = 0,016$ ). Кривая времени до утраты эффективности для схемы 2 НИОТ + ЛПВ/РТВ достоверно отличалась от схем 2 НИОТ + НВП ( $p < 0,001$ ) и 2 НИОТ + НФВ ( $p = 0,013$ ).

Побочные эффекты ВААРТ развились у 21 чел. (31,3%), в т.ч. тошнота – у 14 (20,9%), рвота – у 9 (13,4%), аллергическая сыпь – у 6 (8,9%),

липодистрофия – у 2 (3%), лекарственный гепатит – у 1 ребенка (1,5%). Следует отметить, что по мере увеличения продолжительности ВААРТ в связи с подбором оптимальной схемы отмечалось неуклонное уменьшение числа детей с побочными эффектами, которое через три года после начала терапии достигло статистически значимой величины (13,4% через 12 мес., 2,3% – через 36 мес.,  $p = 0,045$ ), а через четыре года снизилось до нуля ( $p = 0,040$ ).

#### Выводы:

1. Современные схемы ВААРТ позволяют достичь стойкого подавления репликации ВИЧ, улучшения клинических и иммунологических показателей при длительном применении у большинства детей с ВИЧ-И.

2. У трети пациентов с течением времени возникает необходимость изменения стартовой схемы ВААРТ в связи с утратой эффективности, чаще связанной с невозможностью полностью подавить репликацию ВИЧ.

3. Побочные эффекты ВААРТ развиваются у трети больных, однако лишь у незначительного числа детей они служат причиной изменения схемы ВААРТ.

4. Независимым фактором, увеличивающим продолжительность сохранения эффективности стартовой схемы ВААРТ, является назначение схемы 2 НИОТ + ЛПВ/РТВ.

5. Включение ЛПВ/РТВ в стартовые и последующие схемы ВААРТ, подбор препаратов с учетом резистентности ВИЧ способствуют повышению эффективности и безопасности лечения при ее долгосрочном применении.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение / В. В. Покровский и др. – М.: Геотар-Медицина, 2004. – 496 с.
2. Рахманова А. Г. ВИЧ-инфекция у детей / А. Г. Рахманова, Е. Е. Воронин, Ю. А. Фомин. – СПб.: Питер, 2003. – 448 с.
3. Афонина Л. Ю. Антиретровирусная терапия у детей с ВИЧ-инфекцией: клинические рекомендации / Л. Ю. Афонина, Ю. А. Фомин, Е. Е. Воронин. – М., 2009. – 57 с.
4. Бартлетт Дж. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции – 2012 / Дж. Бартлетт, Дж. Галлант, П. Фам. – М.: Р. Валент, 2012. – 528 с.
5. Тимченко В. Н. Иммунологические и лабораторные особенности ВИЧ-инфекции у детей первого года жизни / В. Н. Тимченко, Ю. А. Архипова, Н. Д. Джангавадзе // Журнал инфектологии. – 2013. – № 1. – С. 63-68.

## EXPERIENCE OF PROLONGED ANTI-VIRAL THERAPY IN HIV-INFECTED CHILDREN

Denisenko V.B., Simovanyan E.N.

The study included 67 children with HIV who started highly activity antiretroviral therapy. Antiviral treatment allows to get a stable suppression of HIV replication, improve clinical and immunological parameters in the majority of children. One-third of patients it is necessary to change the starting schema in connection with the loss of efficacy or side effects. The use of lopinavir / ritonavir is an independent factor in extending the effectiveness of the starting schema antiretroviral therapy.

---

## ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОЦЕНКИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ С КОКСАРТРОЗОМ ПРИ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

Дмитриева Л.А.<sup>1</sup>, Лебедев В.Ф.<sup>2</sup>, Черных О.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Иркутский научный центр хирургии и травматологии; <sup>2</sup>Иркутский  
государственный медицинский университет, Иркутск, Россия

Работа основана на результатах обследования и хирургического лечения 73 пациентов коксартрозом III-IV стадии. Исследована способность клеток периферической крови больных продуцировать IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IF- $\gamma$ . Показано, что в послеоперационном периоде имеет место изменение баланса продуцируемых цитокинов, что может привести к неблагоприятным последствиям в функционировании иммунной системы и развитию вторичной иммунодепрессии. В связи с чем, проведение иммунологического мониторинга с определением уровня продукции цитокинов позволяет оценить риск развития как ранних, так и поздних послеоперационных осложнений.

*Ключевые слова:* коксартроз, цитокины, эндопротезирование, прогнозирование

**Актуальность.** Тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава (ТЭТС) является наиболее эффективным методом лечения пациентов с тяжелыми формами коксартроза. Однако по мере освоения хирургических технологий и увеличения количества выполняемых вмешательств по имплантации эндопротезов все чаще возникают вопросы лечения послеоперационных осложнений [2]. Чрезвычайно важным при ТЭТС является обеспечение стабильности эндопротеза. По данным литературы у 25-60% пациентов признаки расшатывания эндопротезов появляются уже в течение первых лет после имплантации. Существенное место среди осложнений занимают нагноения в области эндопротеза [1]. Не подлежит сомнению тот факт, что инфек-

ционный раневой процесс является результатом взаимодействия макро- и микроорганизмов, при этом одна из ведущих ролей в этом процессе отводится иммунной системе [4]. Важнейшими эндогенными регуляторами иммунологических реакций организма являются цитокины [5]. Множественные физиологические и патофизиологические эффекты цитокинов обосновывают целесообразность их определения в качестве прогностических критериев развития возможных осложнений при реконструктивных операциях на крупных суставах.

**Цель** – определение динамики продукции цитокинов у больных с коксартрозом до и после операции ТЭТС и их значимости в развитии послеоперационных осложнений.

**Материал и методы исследования.** Обследовано 73 пациента с коксартрозом III-IV стадии, находившихся на лечении методом ТЭТС. Больные женского пола составили 56,2% (41 чел.), мужского пола – 43,8% (32 чел.). Возрастной диапазон обследованных варьировал в пределах от 35 до 53 лет (средний возраст  $45,3 \pm 1,2$ ).

Цитокиновый профиль оценивали по способности продукции клетками периферической крови IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IF- $\gamma$  в условиях базовой активации и при стимуляции фитогемагглютинином и липополисахаридом (ФГА и ЛПС). Концентрацию цитокинов определяли в супернатантах после инкубации клеток методом твердофазного иммуноферментного анализа. Обследование проводилось до оперативного вмешательства и в динамике на 1, 7, 14 и 21 сутки послеоперационного периода. В качестве контрольных показателей были использованы результаты, полученные при обследовании 15 здоровых лиц, разовых доноров крови, сопоставимых по полу и возрасту с группой обследованных пациентов. Статистическую обработку результатов проводили по общепринятым математическим алгоритмам с использованием пакета программ «Statistica-6».

**Результаты исследования.** В процессах нарушения структуры и функции тканей особая роль принадлежит секретлируемым фагоцитами цитокинам, важнейшими из которых являются IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$ , обладающие большим флогенным и деструктивным потенциалом. В супернатантах, полученных после культивирования взвеси клеток, уровни спонтанной продукции IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  в дооперационном периоде составили  $110,31 \pm 17,16$  и  $73,34 \pm 10,51$  пг/мл соответственно. Вместе с тем показатель, характеризующий отношение индуцированной продукции ИЛ-1 $\beta$  к его спонтанному уровню (индекс стимуляции синтеза ИЛ-1 $\beta$ ) варьировал в широких пределах. Так, у 35,6% больных клетки периферической крови реагировали на стимуляцию усилением синтеза ИЛ-1 $\beta$  в диапазоне значений контрольной группы; у 28,4% больных стимуляция ЛПС приводила к депрессии синтеза данного цитокина; у 36% больных наблюдалась его гиперпродукция. В послеоперационном периоде спонтанный уровень IL-1 $\beta$  возрастал на 1 сутки ( $159,89 \pm 22,31$  пг/мл), снижался на 7 сутки ( $55,93 \pm 11,38$  пг/мл) с последующим увеличением концентрации к 21 суткам наблюдения выше исходного уровня ( $158,23 \pm 22,31$ ). Динамика

спонтанной продукции TNF $\alpha$  в послеоперационном периоде имела аналогичный характер.

При стимуляции ЛПС в дооперационном периоде наблюдалось выраженное усиление синтеза IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  в несколько раз ( $904,82 \pm 81,24$  и  $1169,59 \pm 47,43$  пг/мл). После ТЭТС индуцированная продукция провоспалительных цитокинов прогрессивно нарастала до окончания срока наблюдения, составляя к 21 дню  $1744,53 \pm 94,01$  пг/мл для IL-1 $\beta$  и  $1339,10 \pm 41,43$  для TNF $\alpha$ . Таким образом, активация иммуноцитов митогенами у больных с коксартрозами приводит к выраженному усилению продукции провоспалительных цитокинов. При эндопротезировании потенциальный провоспалительный ответ усиливается. Следует полагать, что клетки-продуценты медиаторов воспаления находятся в состоянии праймирования, определяющего выраженный локальный провоспалительный ответ на оперативное воздействие.

Динамика продукции IL-2 и IL-4, синтезируемых преимущественно Th, имела несколько иной характер. Спонтанный уровень IL-2 до операции составлял  $178,21 \pm 11,40$  пг/мл. Послеоперационный период характеризовался некоторым увеличением его синтеза до  $224,27 \pm 42,36$  пг/мл к концу периода наблюдения. При стимуляции ФГА уровень продукции IL-2 до операции составил  $273,44 \pm 17,83$  пг/мл, в послеоперационном периоде значительно снижался, составляя к 21 суткам  $184,65 \pm 28,44$  пг/мл. Уровень синтеза IL-4 нестимулированными клетками исходно составлял  $138,56 \pm 32,87$  пг/мл. В послеоперационном периоде концентрация его снижалась на 1-2 сутки с тенденцией к нарастанию к 7 суткам и последующим значимым угнетением на 14-21 сутки наблюдения ( $32,41 \pm 12,17$  пг/мл). Стимуляция ФГА приводила к выраженной депрессии Th2 с подавлением синтеза IL-4 до операции и во все сроки послеоперационного периода до  $45,04 \pm 09,65$  пг/мл на 21 сутки наблюдения.

Продукция IF- $\gamma$ , синтезируемого преимущественно Th1, при незначительном отличии средних показателей от контрольной группы характеризовалась выраженными индивидуальными колебаниями внутри группы, что нашло отражение в достоверно более высоком показателе индекса стимуляции синтеза IF- $\gamma$ . Из данных литературы известно, что IF- $\gamma$  подавляет пролиферацию хондроцитов

и синтез этими клетками протеогликана, внося потенциальный вклад в развитие деструктивных процессов при остеоартрозах [3]. Еще более выраженные изменения отмечались в продукции ИФ- $\gamma$  в послеоперационном периоде, спонтанный и стимулированный синтез которого был подавлен во все сроки после операции, с более выраженной депрессией его продукции к 21-м суткам.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что у больных с тяжелой формой коксартроза на фоне имеющегося цитокинового дисбаланса хирургическое воздействие инициирует активную продукцию провоспалительных медиаторов. Так, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , а также ИЛ-6, продукция которого усиливается данными медиаторами, способствуют резорбции костной ткани, активируя остеокласты, ингибируют синтез коллагена, нарушают процессы микроциркуляции в тканях, что в конечном итоге может привести к отдаленным осложнениям, в частности, усилению конфликта между имплантатом и организмом и формированию нестабильности эндопротеза. В свою очередь нарушение регуляторной функции иммунной системы с недостаточностью функции клеток Т-хелперного ряда определяет более высокий риск развития осложнений инфекционно-воспалительного характера в различные сроки послеоперационного периода.

Таким образом, иммунная реакция, возникающая в ответ на хирургическую агрессию, является цитокин-опосредованной. На раннем этапе она играет роль защитного механизма, но гиперреактивность и связанная с ней избыточная секреция цитокинов, особенно провоспалительных, или наоборот, гипозергический тип реагирования трансформируют первоначально защитный механизм в патологический. В связи с чем, представляется логичным исследование способности иммунокомпетентных клеток к продукции цитокинов, поскольку их синтез является одним из важных показателей функциональной активности клеток иммунной системы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дмитриева Л. А., Лебедев В. Ф., Коршунова Е. Ю. // Бюл. ВСИЦ СО РАМН. – 2013. – № 2 (90), Ч. 1. – С.153-158.
2. Прохоренко В.М., Павлов В.В. – Инфекционные осложнения при эндопротезировании тазобедренного сустава. Новосибирск: Наука, 2010. – 179 с.
3. Gao Y., Grassi F., Ryan M. R., Terauchi M. et al. // J. Clin. Invest. – 2007. – V. 117. – P. 122-132.
4. Martines-Pastor J.C., Munos-Mahamud E., Vilchez F. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. – 2009. – Vol. 53, N 11. – P. 4772-4777.
5. Takayanagi H. Nat. // Rev. Rheumatol. – 2009. – V. 5 (12). – P. 667-676.

### PREDICTIVE VALUE OF CYTOKINE PROFILE EVALUATION IN COXARTHROSIS PATIENTS UNDERGOING HIP JOINT REPLACEMENT

L.A. Dmitriyeva<sup>1</sup>, V.F. Lebedev<sup>2</sup>, O.L. Chernykh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology;

<sup>2</sup>Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

The study is based on surgical treatment outcomes of 73 patients with III-IV stage coxarthrosis. The authors investigated the ability of the patients' peripheral blood cells to produce IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-2, IL-4, IF- $\gamma$ . As the study results have demonstrated, there is a postoperative change in the balance of cytokine production, which might adversely affect immune system functioning and bring to secondary immune depression. For these reasons, monitoring of cytokine production can help to evaluate the risk of development of postoperative complications, both early and late.

*Key words:* coxarthrosis, cytokines, endoprosthesis replacement, prediction.

## ГЕНЫ ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ И ДЕТОКСИКАЦИИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПОЗИЦИИ ХЛОРОФОРМОМ

Долгих О. В.<sup>1,2,3</sup>, Зайцева Н. В.<sup>1,2,3</sup>, Кривцов А. В.<sup>1</sup>,  
Бубнова О. А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский политехнический университет», Пермь, Россия

Проведена оценка особенностей иммунного статуса и распределения генов иммунорегуляции и детоксикации среди детского населения Пермского края в условиях поступления избыточных концентраций хлороформа с питьевой водой. Выявлен измененный генетический полиморфизм генов: рецептора запуска апоптоза FAS, фактора гистосовместимости HLA-DR1, GSTA4 (глутатион-трансфераза), ZMPSTE24 (цинк-металлопептидаза), MMP9 (металлопротеиназа), а также их ассоциация с контаминацией биосред хлороформом и специфическим иммунологическим ответом.

*Ключевые слова:* полиморфизм генов, CD95<sup>+</sup>, ген металлопротеиназы, хлороформ

Современные диагностические иммунологические и молекулярно-генетические технологии, в частности ПЦР и проточная цитометрия, позволяют провести объективную и достоверную оценку иммунного ответа и полиморфизма его генов у населения в условиях повышенной внешнесредовой химической нагрузки [2, 3]. Нарушения здоровья, обусловленные измененным хлорированием качества водной среды, определяют актуальность исследований по определению чувствительности организма к действию хлорорганических соединений и функционального состояния систем генетической и иммунной регуляции гомеостаза [1, 4, 5].

**Цель работы** – анализ изменения иммунологических и генетических маркеров у детского населения в условиях контаминации водной среды хлороформом.

**Материалы и методы.** Выполнено комплексное обследование 89 детей в возрасте от 3 до 7 лет, которые постоянно проживают и посещают детские сады на территории Пермского края с повышенным содержанием хлороформа в питьевой воде. Группу сравнения составили 46 детей, проживающие на экологически

благополучной территории. Группы были сопоставимы по соматической заболеваемости и этнической принадлежности.

Исследования биосред (кровь) на содержание хлорорганических углеводов (хлороформ) выполнялось методом анализа равновесной паровой фазы на газовом хроматографе «Кристалл-5000» в соответствии с МУК 4.1.2115-06. Фенотипирование лимфоцитов проводили на проточном цитометре FACSCalibur фирмы «Becton Dickinson». Определение популяций и субпопуляций лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>) проводили методом мембранной иммунофлуоресценции с использованием панели меченых моноклональных антител к мембранным CD-рецепторам. Маркеры пролиферативных реакций (CA 72-4, CA 19-9) определялись с помощью иммуноферментного анализа на анализаторе «Elx808IU». Специфические к хлороформу IgG определяли методом модифицированного конкурентного иммуноферментного анализа на анализаторе «Elx808IU» (США) согласно МР 111-14/55-04-02. Для определения генотипов использовали вариант ПЦР в режиме реального времени и метод аллельной дискри-

минации. Проведено изучение полиморфизма генов иммунорегуляции: гена рецептора запуска апоптоза (FAS), гена фактора гистосовместимости HLA-DR1, а также генов детоксикации: GSTA4 (глутатион-трансфераза), ZMPSTE24 (цинк-металлопептидаза), MMP9 (металлопротеиназа). Обработка данных по генотипированию проводилась с использованием унифицированной программы «Ген Эксперт». Использовались статистические методы для описания равновесия частот генотипов и аллелей генов по равновесию Харди-Вайнберга.

**Результаты.** Средние концентрации хлороформа в пробах воды исследуемой территории превосходили примерно в 2,5 раза аналогичные концентрации в пробах воды территории сравнения ( $p < 0,05$ ). Проведенное химико-аналитическое исследование выявило повышенные уровни хлороформа в биосредах обследуемых детей – в 2,0 раза, выше, чем в крови детей территории сравнения. Установлен достоверно повышенный относительно референтных значений уровень специфической сенсибилизации к хлороформу по критерию IgG у 41,8% детей, с достоверным различием от нормальных значений. Повышенный уровень фетальных белков зафиксирован в сыворотке крови 2,2% детей – CA 19-9 и у 3,2% детей – CA 72-4 проживающих на территории наблюдения. При этом отклонения показателей CA 19-9 по отношению к группе сравнения были достоверными ( $p < 0,05$ ). Наблюдаются достоверные отклонения показателей CD-иммунограммы в сравнении с референтным уровнем – снижение активационного маркера CD25<sup>+</sup>, а также CD95<sup>+</sup> (у 26,7-63,3% детей). Результаты моделирования отношения шансов изменения иммунологических тестов при возрастании концентрации контаминантов в биологических средах позволило установить достоверное ( $p < 0,05$ ) понижение CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup> при увеличении концентрации хлороформа ( $R^2=0,68-0,87$  при  $p < 0,05$ ).

В процессе генетического анализа была выявлена достоверно повышенная ( $p < 0,05$ ) в 4,0 раза распространенность гетерозиготного генотипа гена глутатион-S-трансферазы у обследуемых детей относительно группы сравнения. Аллельный полиморфизм гена металлопротеиназы (MMP9) характеризуется наличием достоверных различий группы наблюдения с группой сравнения (повышение распростра-

ненности мутантного аллеля MMP9 в 2,5 раза). Повышены распространенность вариантного гомозиготного генотипа гена FAS и гетерозиготного варианта гена HLA по отношению к группе сравнения. При этом наблюдается достоверная взаимосвязь содержания ключевых ферментов (глутатион-S-трансферазы), а также активационных клеточных рецепторов (CD95<sup>+</sup>) с ответственными за них кандидатными генами ( $p < 0,05$ ).

**Вывод.** Проведенное обследование детского контингента, проживающего в условиях контаминации питьевой воды хлороформом, выявило повышение экспрессии онкопролиферативных белков (CA 72-4, CA 19-9) и специфической чувствительности к компонентам факторной нагрузки (повышение содержания IgG к хлороформу), а также генетические нарушения иммунорегуляции, ассоциированные с полиморфизмом генов рецептора запуска апоптоза FAS и фактора гистосовместимости HLA-DR1, и детоксикации гены GSTA4 (глутатион-трансфераза), SOD2 (супероксиддисмутаза), ZMPSTE24 (цинк-металлопептидаза), TERT (теломераза), MMP9 (металлопротеиназа).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Долгих О. В., Кривцов А. В., Харахорина Р. А., Ланин Д. В. Иммуные и ДНК-маркеры воздействия техногенной нагрузки. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012, 4, 240-241.
2. Долгих О. В., Бубнова О. А., Горшкова К. Г., Пирогова Е. А. Результаты иммуногенотипирования детей и взрослых, экспонированных техногенными гаптенами // Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8 (17). № 3. С. 302-305
3. Долгих О. В., Зайцева Н. В., Лужецкий К. П., Андреева Е. Е. Особенности иммунной и генетической дезадаптации у детей в условиях избыточной гаптенной нагрузки // Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8 (17). № 3. С. 299-302
4. Dolgikh O., Zaitseva N., Dianova D. Molecular markers of apoptosis in industrial workers // In vivo: international Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research. 2011, Vol. 25, 3, 523-524
5. Долгих О. В., Зайцева Н. В., Дианова Д. Г., Лыхина Т. С., Кривцов А. В., Гугович А. М. Особенности лимфоцитарно-клеточного звена у детей, проживающих на техногенно нагруженных территориях. Биологические мембраны. 2012, 29, 5, 349-353

## GENES OF IMMUNOREGULATION AND DETOXIFICATION AND IMMUNOLOGICAL EFFECTS IN CHILDREN AFTER EXPOSURE TO CHLOROFORM

O. V. Dolgikh<sup>1,2,3</sup>, N. V. Zaitseva<sup>1,2,3</sup>, A. V. Krivtsov<sup>1</sup>, O. A. Bubnova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies";

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Perm State National Research University"; <sup>3</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education

"Perm National Research Polytechnic University", Perm, Russia

The assessment of the features of the immune status and distribution of the genes of immunoregulation and detoxification among children in Perm region in the conditions of the intake of excessive concentrations of chloroform with drinking water has been conducted. The changed genetic polymorphism of genes has been revealed: the apoptosis-inducing FAS receptor, factor of histocompatibility HLA-DR1, GSTA4 (glutathione transferase), ZMPSTE24 (zinc metalloproteinase), MMP9 (metalloproteinase), as well as their association with biological media contamination with chloroform and specific immunological response.

*Key words:* polymorphism of genes, CD95<sup>+</sup>, matrix metalloproteinase gene, chloroform

---

---

## ОЦЕНКА ОСОБЕННОСТЕЙ ИММУННЫХ МЕДИАТОРОВ У ДЕТЕЙ, ЭКСПОНИРОВАННЫХ СТРОНЦИЕМ

Долгих О. В.<sup>1,2,3</sup>, Старкова К. Г.<sup>1</sup>, Пирогова Е. А.<sup>1</sup>,  
Вдовина Н. А.<sup>1</sup>, Безрученко Н. В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский политехнический университет», Пермь, Россия

Выявлены особенности изменения иммунной регуляции и продукции медиаторов (простагландинов, лейкотриенов, брадикинина) у детей, экспонированных стронцием. Установлено увеличение содержания специфических IgG к стронцию, а также продукции неспецифических иммунных медиаторов простагландина E2, лейкотриенов C4/D4/E4 и брадикинина.

Иммунная система, являясь одним из важнейших компонентов поддержания гомеостаза, через широкий спектр медиаторных регуляторных механизмов участвует в контроле многих физиологических процессов. В связи с этим изменение функциональной активности иммунной системы может выступать важным индикаторным показателем, определяющим адаптационный потенциал организма в условиях чрезмерной внешнесредовой химической нагрузки [1-5].

**Цель работы** – оценить показатели иммунной медиаторной регуляции у детского населе-

ния, проживающего в условиях биогеохимической провинции с повышенным содержанием стронция.

**Материалы и методы.** Выполнено обследование детского населения (27 детей в возрасте от 8 до 11 лет), постоянно проживающего в условиях потребления питьевой воды несоответствующего качества по содержанию стронция (группа наблюдения). Группу сравнения составил 51 ребенок, проживающих вне стронциевой геохимической провинции.

Определение стронция в воде и биосредах детей выполняли методом масс-спектромет-

рии с индуктивно связанной плазмой. Концентрацию IgE общего, простагландинов (P<sub>g</sub>) E<sub>2</sub> и F<sub>2α</sub> и брадикинина исследовали с помощью иммуноферментного анализа, уровень специфических антител к стронцию – аллергосорбентным тестированием с ферментной меткой. Количественное определение цистеиниловых лейкотриенов (LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>) осуществляли с помощью «CAST ELISA» (Cellular antigen stimulation test ELISA), стимулируя клетки специфическим антигеном.

Обрабатывали результаты исследований методом вариационной статистики с расчетом средней арифметической и её стандартной ошибки и анализировали с помощью t-критерия Стьюдента. Корреляционный анализ зависимостей «гаптен – специфический иммунный ответ» проводили с использованием коэффициента корреляции по Спирмену (r) для количественной оценки взаимосвязи между двумя независимыми величинами. Различия между группами и значимость взаимосвязей считали достоверными при значении  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** Оценка качества воды хозяйственно-питьевого водоснабжения на территории наблюдения обнаружила несоответствие установленным нормативам по содержанию стронция и превышение в 6 раз показателей на территории сравнения. При этом в крови детей обследуемой группы показано превышение содержания стронция в 3,9 раз относительно группы сравнения ( $0,125 \pm 0,021$  мкг/см<sup>3</sup> против  $0,031 \pm 0,003$  мкг/см<sup>3</sup> соответственно; референтный интервал  $0,01 - 0,077$  мкг/см<sup>3</sup>,  $p < 0,05$ ).

Исследование показателей гиперчувствительности показало у 51,9% обследованных детей повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень общей сенсibilизации по содержанию IgE общего ( $219,6 \pm 124,2$  МЕ/дм<sup>3</sup> при норме  $< 99,9$  МЕ/дм<sup>3</sup>,  $p < 0,05$ ), в среднем в 2,5 раза при отсутствии достоверных различий с группой сравнения. В то же время специфическая сенсibilизация к компонентам факторной нагрузки выразилась повышенным в 1,4 раза относительно референтного диапазона содержанием антител к стронцию по критерию IgG ( $0,142 \pm 0,08$  у.е.; референтный уровень  $< 0,1$  у.е.), различия достоверны по кратности превышения нормы ( $p < 0,05$ ).

Исследование особенностей неспецифического иммунного медиаторного механизма регуляции в условиях воздействия строн-

ция показало достоверное увеличение уровня спонтанного синтеза лейкотриенов LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> (группа наблюдения  $119,4 \pm 28,1$  пг/см<sup>3</sup>, группа сравнения  $35,8 \pm 17,1$  пг/см<sup>3</sup>; референтный интервал  $0...150$  пг/см<sup>3</sup>). При этом последующий анализ выявил выраженную положительную коррелятивную взаимосвязь между концентрацией LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> и уровнем металла в крови ( $r = 0,42$ ;  $p < 0,05$ ). В условиях эксперимента при антигенной стимуляции клеток стронцием, предварительно сенсibilизированных к металлу, отмечен толерогенный эффект на уровне 42% от спонтанной продукции ( $68,8 \pm 21,5$  пг/см<sup>3</sup>), а в группе сравнения наблюдалась активация высвобождения лейкотриенов в 2,22 раза ( $79,0 \pm 35,6$  пг/см<sup>3</sup>), без достоверных различий.

У детей, испытывающих воздействие стронция, установлено изменение уровня иммунных медиаторов простагландинов, причем отмечено достоверное возрастание продукции P<sub>g</sub> E<sub>2</sub> ( $240,263 \pm 55,830$  пг/см<sup>3</sup>) относительно группы сравнения ( $123,997 \pm 28,934$  пг/см<sup>3</sup>) ( $p < 0,05$ ), в то время как для P<sub>g</sub>F<sub>2α</sub> обозначена только тенденция к увеличению. Также наблюдался достоверно повышенный в среднем в 2,3 раза уровень брадикинина в обследуемой группе (группа наблюдения  $5,341 \pm 1,334$  пг/см<sup>3</sup>; группа сравнения  $1,589 \pm 0,274$  пг/см<sup>3</sup>), который, в свою очередь, способен оказывать стимулирующее воздействие на синтез простагландинов ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, в результате проведенных исследований иммунного медиаторного механизма регуляции у детского населения, проживающего в условиях повышенной экспозиции стронцием, были выявлены функциональные изменения медиаторных компонентов иммунной системы, которые проявились гиперпродукцией простагландина E<sub>2</sub>, лейкотриенов и брадикинина на фоне повышенной общей и специфической к стронцию сенсibilизации организма.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Долгих О. В., Зайцева Н. В., Лужецкий К. П., Андреева Е. Е. Особенности иммунной и генетической дезадаптации у детей в условиях избыточной гаптенной нагрузки. Российский иммунологический журнал. 2014; 8 (3): 299-302.
2. Зайцева Н. В., Долгих О. В., Дианова Д. Г. Влияние контаминации формальдегидом на показатели иммунной системы детей // Известия Са-

- марского научного центра Российской академии наук, том 16, № 5 (2), 2014. – С. 702-704.
3. Ланин Д. В., Зайцева Н. В., Землянова М. А., Долгих О. В., Дианова Д. Г. Характеристика регуляторных систем у детей при воздействии химических факторов среды обитания. Гигиена и санитария. 2014; 2: 23-26.
  4. Харахорина Р. А., Гугович А. М., Долгих О. В., Кривцов А. В., Лыхина Т. С. Роль реагинов и лейкотриенов в развитии техногенно обусловленных нарушений у детей. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012; 4: 233-234.
  5. Dolgikh O. V., Kharakhorina R. A., Dianova D. G., Gugovich A. M. State of cell regulation in children exposed to phenols // Proceedings of the 3rd International Academic Conference «Applied and Fundamental Studies», 2013 – С. 149-152

## ANALYSIS OF IMMUNE MEDIATORS IN CHILDREN UNDER CONDITIONS OF CHRONIC EXPOSURE TO STRONTIUM IN DRINKING WATER

O. V. Dolgikh<sup>1,2,3</sup>, K. G. Starkova<sup>1</sup>, E. A. Pirogova<sup>1</sup>,  
N. A. Vdovina<sup>1</sup>, N. V. Bezruchenko<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies";  
<sup>2</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Perm State National Research University";  
<sup>3</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Perm National Research Polytechnic University", Perm, Russia

The features of immune regulation and production of mediators (prostaglandins, leukotrienes, bradykinin) were investigated in children with high content of strontium in drinking water. It was found that children observed increase in total IgE level and specific antibodies to strontium as well as production of non-specific immune mediators prostaglandin E2, leukotrienes C4/D4/E4 and bradykinin.

---

## МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МИТОХОНДРИЙ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ У ДЕТЕЙ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Евсеева Г. П., Ефименко М. В., Ли Л. А., Козлов В. К.

*Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания – НИИ охраны материнства и детства, Хабаровск, Россия*

Проведена оценка мембранного потенциала митохондрий и активности митохондриальных дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови у детей с внебольничной пневмонией (ВП). Методом проточной цитометрии определено увеличение содержания в периферической крови лимфоцитов со сниженным уровнем мембранного потенциала митохондрий, что свидетельствует об активации митохондриального пути апоптоза. При цитохимическом исследовании зарегистрировано нарушение клеточной энергопродукции (снижение функциональной активности митохондриальных дегидрогеназ).

Развитие и течение многих заболеваний у детей сопровождается снижением энергообеспечения лимфоцитов и именно у этих детей патология протекает с осложненным течением, иммунными нарушениями и бывает торпидной к стандартной этиопатогенетической терапии [1]. Нарушение дыхания на уровне клетки связано с изменением мембранного

потенциала митохондрий (МПМ,  $\Delta\Psi_m$ ), который отражает регуляцию транспорта ионов в направлении отдельных потоков субстратов и метаболитов. Митохондриальный мембранный потенциал не имеет постоянного значения, он может изменяться под воздействием многих внутриклеточных биохимических процессов [4]. Определение МПМ – один из наиболее

лее адекватных методов исследования функционального и энергетического состояния живой клетки и поддержание нормального  $\Delta\psi_m$  является важным компонентом здоровья клеток. Его целостность часто используется в качестве меры жизнеспособности клеток, т.к. потеря  $\Delta\psi_m$  приводит к снижению продукции АТФ и может способствовать запуску каскада проапоптотических факторов [3]. Осознание того, что его изменение может иметь важные патофизиологические последствия, вызвало повышенный интерес к данной проблеме [4, 5].

**Целью** исследования явилось изучение активности митохондриальных дегидрогеназ в лимфоцитах со сниженным  $\Delta\psi_m$ .

**Материалы и методы.** Для решения данной задачи было обследовано 55 детей, больных внебольничной пневмонией (ВП). Контролем послужили показатели 30 здоровых детей, сопоставимых по полу и возрасту.

Проведено исследование активности ферментов сукцинатдегидрогеназы (СДГ), альфа-глицерофосфатдегидрогеназы ( $\alpha$ -ГФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в лимфоцитах периферической крови количественным методом по Нарциссову Р.П. (1969). Анализ структуры популяции клеток по активности дегидрогеназ проводили, рассчитывая среднюю активность фермента, гетерогенность клеток по активности фермента (коэффициент вариации), сбалансированность пулов с разной активностью ферментов (коэффициент асимметрии) и показатель клеток с нормальной (близкой к среднему значению) активностью (коэффициент эксцесса).

Процентное содержание клеток со сниженным  $\Delta\psi_m$  в общей популяции лимфоцитов периферической крови определяли методом проточной лазерной цитометрии (BD FACSCalibur, USA) в программе Cell Quest Pro с использованием красителя JC-1 (Vector Dikcenson, USA), поглощение которого митохондриями напрямую связано с величиной  $\Delta\psi_m$ .

Статистический анализ проводился с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel и «STATISTICA 10.0». Результаты представлены в виде средних величин и стандартной ошибки средней величины ( $M \pm m$ ). Оценка достоверности различий средних величин проведена с использованием t-критерия Стьюдента. Уровень значимости считали достоверным при  $p < 0,05$ . Для выявления сопряженности показателей применяли бисериальный коэффициент корреляции (раз-

новидность коэффициента Пирсона) и факторный анализ методом главных компонент.

**Основные результаты.** При поступлении в клинику НИИ ОМиД у детей с ВП активность СДГ была снижена у 61% больных и составила  $17,35 \pm 0,79$  гр./кл., против  $23,42 \pm 0,58$  гр./кл. в группе контроля ( $p < 0,001$ ). Снижение активности  $\alpha$ -ГФДГ выявлено у 45,5% и средняя активность энзима составила  $13,71 \pm 0,54$  гр./кл. (в группе контроля –  $18,39 \pm 0,91$  гр./кл.,  $p < 0,001$ ), что свидетельствует об угнетении процессов клеточной энергопродукции. В сравнении с группой «контроль» у детей с ВП выявлено снижение отношения СДГ/ $\alpha$ -ГФДГ, что указывает на несоответствие между энергопотребностью клетки и энергопродукцией в системе митохондриального окислительного фосфорилирования. Кроме того, обнаружено увеличение разнородности лимфоцитов по активности СДГ и  $\alpha$ -ГФДГ ( $26,11 \pm 1,5$  и  $28,58 \pm 1,4$  соответственно), что характерно для гипоксических состояний. Увеличение уровня ЛДГ в 1,8 раза по сравнению с группой контроля ( $20,72 \pm 1,36$  гр./кл. и  $11,75 \pm 0,96$  гр./кл. соответственно,  $p < 0,001$ ) и соотношения ЛДГ/ $\alpha$ -ГФДГ в 1,7 раз указывало на то, что обеспечение энергией клеток при ВП происходит за счет компенсаторного повышения малоэффективного анаэробного пути получения энергии.

При оценке уровня мембранного потенциала митохондрий ( $\Delta\psi_m$ ) выявлено достоверное увеличение содержания лимфоцитов со сниженным уровнем  $\Delta\psi$  в периферической крови детей с внебольничной пневмонией («ВП» –  $63,5 \pm 2,8\%$  vs. «контроль» –  $28,5 \pm 1,75\%$ ;  $p < 0,001$ ). Т.е. у детей с ВП, частота выявления лимфоцитов со сниженным  $\Delta\psi_m$  была в 2,2 раза выше, чем в группе контроля.

Корреляционный анализ выявил значимые отрицательные взаимозависимости средней силы между показателем  $\Delta\psi_m$  и средней активностью СДГ ( $r = -0,476$ ,  $p < 0,001$ ), коэффициентом вариации СДГ ( $r = -0,646$ ,  $p < 0,001$ ), средней активностью  $\alpha$ -ГФДГ ( $r = -0,616$ ,  $p < 0,001$ ), коэффициентом вариации  $\alpha$ -ГФДГ ( $r = -0,566$ ,  $p < 0,001$ ), средней активностью ЛДГ ( $r = -0,588$ ,  $p < 0,001$ ), коэффициентом вариации ЛДГ ( $r = -0,423$ ,  $p < 0,001$ ). То есть у детей, больных ВП снижение активности митохондриальных окислительно-восстановительных ферментов ведет к увеличению числа лимфоцитов со сниженным мембранным потенциалом лимфоцитов.

При этом проведенный факторный анализ показал, что наиболее значимый фактор – это увеличение содержания лимфоцитов со сниженным мембранного потенциалом митохондрий (0,9195), по сравнению со средней активностью СДГ (-0,7427),  $\alpha$ -ГФДГ (-0,7308) и ЛДГ (-0,7461).

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о формировании у детей с ВП митохондриального пути реализации апоптогенной программы лимфоцитов периферической крови, сопровождающееся нарушением биоэнергетики этих клеток.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клембовский А.И., Сухоруков В.С. Митохондриальная недостаточность у детей // Арх. патологии. – 1997. – № 5 (59). – С. 3–7.
2. Кондратьева Е.В., Лобанова Е.Г. Влияние озона на мембранный потенциал митохондрией тромбоцитов // Медицинский альманах. – 2013. – № 3 (27). – С. 58–59.
3. Ли Л.А., Лебедько О.А., Ефименко М.В. и др. Мембранный потенциал митохондрий лимфоцитов и биогенез активных форм кислорода в периферической крови у детей с внебольничной пневмонией // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 3. – С. 47–51
4. Ramadass and Bereiter-Hahn How DASPMI Reveals Mitochondrial Membrane Potential: Fluorescence Decay Kinetics and Steady-State Anisotropy in Living Cells // Biophysical Journal 2008 95 (8) 4068–4076].
5. Perelman A. et al. JC-1: alternative excitation wavelengths facilitate mitochondrial membrane potential cytometry // Cell Death and Disease. – 2012. – 3. – С. 1–7.

### MITOCHONDRIAL MEMBRANE POTENTIAL OF IMMUNOCOMPETENT BLOODCELLS OF CHILDREN WITH CAP (COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA)

G.P. Evseeva, M.V. Efimenko, L.A. Li, V.K. Kozlov

*Khabarovsk Facility «Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration» – Scientific research institute of Mother and Child Care, Khabarovsk, Russia*

Evaluation of mitochondrial membrane potential and mitochondrial dehydrogenases activity in peripheral blood lymphocytes of children with pneumonia was carried out. We identified increasing content of peripheral blood lymphocytes with reduced levels of mitochondrial membrane potential (flow cytometry method), indicating the activation of the mitochondrial apoptosis pathway strength. Cytochemical analysis reveals violation of cellular energy production (decreased functional activity of mitochondrial dehydrogenases).

### ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА КОРЕННЫХ МАЛОЧИСЛЕННЫХ НАРОДОВ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

Евсеева Г. П., Целых Е. Д., Ефименко М. В.,  
Васильева Ж. Б., Козлов В. К.

*Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания – НИИ охраны материнства и детства, Дальневосточный государственный гуманитарный университет, Министерство здравоохранения Хабаровского края, Хабаровск, Россия*

В работе представлены данные о содержании цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6; TNF $\alpha$ , INF $\gamma$ , INF $\alpha$  в сыворотке крови у подростков коренных малочисленных народов (нанайцы, орочи, эвены), проживающих в условиях Хабаровского края. Выявлено повышение уровня IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, TNF $\alpha$  у подростков этнического населения по сравнению с показателями у подростков пришлого населения. Чрезмерная продукция эндогенных цитокинов является фактором прогрессирования патологических процессов, одной из причин этого может быть «экономный» или «северный» тип метаболизма, присущий «малым» народам.

**Актуальность.** В регионах проживания коренного населения изменились условия проживания, произошла смена исторически сложившегося белково-липидного характера питания на «европейский углеводистый тип», вырос уровень техногенного загрязнения, значительно ухудшилось качество продуктов питания и воды. Сочетание проблем урбанизации, экологии и социально-экономических условий привели к нарушению среды обитания человека и укладу жизни коренных малочисленных народов (КМН) Дальнего Востока, что может оказывать влияние на состояние гомеостатических систем организма на всех уровнях – биохимическом, физиологическом, морфологическом и иммунном, при этом возможен как срыв адаптивных процессов с последующим развитием заболеваний, так и перестройка физиологических функций для обеспечения возможности существования в экстремальных условиях.

Заболеваемость детей КМН Дальнего Востока находится на высоком уровне. Патология органов дыхания у них регистрируется в 1,5-2 раза чаще, чем в среднем по Хабаровскому краю. Растут показатели заболеваемости эндокринной патологией, болезнями пищеварительной системы, почек, костно-мышечной системы и др. Большой интерес представляет иммунный статус коренных народностей Дальнего Востока как показатель длительной адаптации к экстремальным условиям региона, в котором малые народности проживали тысячи лет и которые были для них адекватны. Некоторые показатели иммунного статуса, например, цитокины, могут служить индикаторами здоровья населения, проживающего в различных экологических условиях [1]. Нарушение баланса цитокинов играет определенную роль в формировании патогенеза аллергических, инфекционных и других заболеваний, при этом результаты содержания цитокинов не всегда могут идентично интерпретироваться по отношению к нормативным у разных этнических групп, проживающих на разных территориях [3].

**Цель исследования:** изучить показатели цитокинового статуса у подростков коренных малочисленных народов, проживающих в условиях Хабаровского края.

**Материалы и методы.** Проведено комплексное экспедиционное обследование подростков обоего пола, в местах компактного

проживания представителей КМН: нанайцы (n=125), орочи (n=48) и эвены (n=23). Средний возраст обследованных подростков составил  $14,25 \pm 0,09$  лет. Контрольной группой послужили подростки пришлого населения европеоидной расы, в большинстве русские (96,2%), проживающие на исследуемой территории во втором-четвертом поколении.

Оценка содержания цитокинов IL- $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6; TNF $\alpha$ , INF $\gamma$ , INF $\alpha$  в сыворотке крови проведена иммуноферментным анализом (ИФА) с помощью наборов реагентов Вектор-Бест (г. Новосибирск).

Статистический анализ проводился с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 10.0». Полученные результаты представлены в виде Me (Q25–Q75), где Me – значение медианы, Q25–Q75 – значения 25-го и 75-го квартилей. Уровень значимости считали достоверным при  $p < 0,05$ .

**Основные результаты.** Нами выявлено, что медиана содержания IL-1 $\beta$  в группе подростков коренной национальности составила 2,214 пг/мл (1,246–3,0 пг/мл) и было достоверно выше, чем у подростков пришлого населения – 1,265 пг/мл (0,481–2,032 пг/мл),  $p = 0,015$ . Наиболее высокие показатели определялись в группе детей нанайцев.

Концентрация IL-2 в группе КМН была в 6,8 раз выше, чем у подростков пришлого населения и составила 170,16 пг/мл (5,635–2141,5 пг/мл) и 25,115 пг/мл (1,51–122,08 пг/мл) соответственно,  $p = 0,041$ . Чрезмерная продукция эндогенных цитокинов является фактором прогрессирования патологических процессов.

Данные, полученные при исследовании IL-4, показали превышение концентрации по сравнению с нормативным показателем в этнической группе подростков в 6,9 раз: 116,28 пг/мл (12,625–457,145 пг/мл) и 16,975 пг/мл (7,125–113,755 пг/мл) соответственно,  $p = 0,033$ . Увеличение уровня противовоспалительного цитокина IL-4, возможно связано с регуляторным дисбалансом со стороны других цитокинов, проявляющихся в форме повышенной иммунологической реактивности.

Результаты исследования содержания IL-6, маркера воспаления, показали, что медиана концентрации цитокина у подростков КМН была очень высокой по сравнению с показателями у пришлого населения и составила – 6,08 пг/мл (0–39,11 пг/мл) и 0 пг/мл (0–0 пг/мл) соответственно,  $p = 0,015$ .

Аналогичные результаты получены при анализе содержания TNF $\alpha$  – более высокие концентрации выявлены у подростков коренного населения: 0 пг/мл (0-170,525 пг/мл) по сравнению группой сравнения (0-0 пг/мл),  $p=0,039$ , что может свидетельствовать о предрасположенности к заболеваниям, протекающим по воспалительному типу.

Концентрация IFN $\gamma$  у подростков коренного и пришлого населения достоверно не различалась и составила 46,365 пг/мл (10,0-80,91 пг/мл) и 42,5 пг/мл (10,0-53,185 пг/мл) соответственно.

Таким образом, у подростков коренных малочисленных народов, проживающих на территории Хабаровского края выявлены более высокие уровни провоспалительных цитокинов, чем у подростков пришлого населения, что согласуется с данными других исследователей [2]. Согласно данным, представленным в научной литературе, высокая продукция цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, TNF $\alpha$  ведет к дегенерации живых систем и является фактором прогрессирования патологических процессов. Одной из причин этого может быть «экономный» или «северный» тип метаболизма, присущий «малым» народам, так по результатам исследований, полученных В. Rosengren

с соавт. [4] в экспериментах на животных, показано, что острое воспаление вызывается липосахаридами, секретируемыми под влиянием фосфолипаз, экспрессию которых определяет рацион, аналогичный западному типу. Сочетание изменений в иммунном статусе и имеющийся высокий уровень заболеваемости и смертности детей коренной национальности, является следствием адаптации коренных народностей к условиям цивилизации.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ройт А. Основы иммунологии. – М.: Мир, 1991. – 328 с.
2. Шатунов А. Ю. Уровни цитокинов в крови лиц, проживающих в условиях Крайнего Севера (исследование якутской популяции) / А. Ю. Шатунов, В. Г. Кривошапкин // Дальневосточный медицинский журнал. – 1999. – № 3. – С. 39-42.
3. Щепеткин И. А., Чердынцева Н. В., Васильев Н. В. Регуляция функциональной активности нейтрофилов цитокинами. – Иммунология. – 1994. – № 1. – С. 4-7.
4. Rosengren B., Peilot H., Umaerus M. et al. Secretory phospholipase A2 group V. Lesion distribution, activation by arterial proteoglycans, and induction in aorta by a wester diet // Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol. – 2006. – 26.№ 7. – P. 1579-1585.

### PECULIARITIES OF CYTOKINE STATUS OF INDIGENOUS MINORITIES OF THE FAR EAST

G. P. Evseeva, E. D. Celikh, M. V. Efimenko,  
Zh. B. Vasileva, V. K. Kozlov

*Khabarovsk Faculty «Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration» – Scientific research institute of Mother and Child Care; The Far-Eastern State University of Humanities; The Ministry of Health of the Khabarovsk Territory, Khabarovsk, Russia*

The paper presents the data on the contents of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6; TNF $\alpha$ , INF $\gamma$ , INF $\alpha$  in blood serum of adolescents of Indigenous Peoples (Nanai, Orochi, Evens) living in the Khabarovsk Territory. The research revealed increase of IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, TNF $\alpha$  among adolescents of ethnic population compared to adolescents of newcomers. Excessive production of endogenous cytokine is a factor of pathological processes progression, one reason for this may be «economic» or «northern» type of metabolism of «small» nations.

## ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

Елисеева В. С.<sup>1</sup>, Кругляк С. П.<sup>2</sup>, Скляр Л. Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России;

<sup>2</sup>Краевая клиническая больница № 2 Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Владивосток, Россия

Проведено исследование уровней ИЛ-6, ИЛ-2 и ИЛ-23 при формировании мутаций лекарственной резистентности на поздних стадиях ВИЧ-инфекции. Полученные данные свидетельствуют, что при формировании мутаций резистентности и сохраняющемся высоком уровне вирусной нагрузки наблюдаются более выраженные изменения в уровнях цитокинов, чем в отсутствие детектируемых мутаций резистентности при поддержании уровня вирусной репликации.

**Актуальность.** Благодаря быстрому появлению новых фармакологических групп антиретровирусных препаратов и внедрению концепции высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) появилась возможность добиться длительной супрессии репликации вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [4]. Однако внедрение ВААРТ породило ряд проблем, в том числе формирование резистентности вируса. При этом возникновение мутантных штаммов ВИЧ, резистентных к антиретровирусным препаратам, является одной из основных причин неэффективности ВААРТ [2].

Наблюдение за болезнью на поздних стадиях позволяет устанавливать факторы, в том числе со стороны иммунной системы, влияющие на лечебно-диагностический процесс [1]. Прогрессирование ВИЧ-инфекции обусловлено нарушением выработки и взаимодействия цитокинов, вырабатываемых Т-хелперами первого и второго типов – их уменьшения и повышения соответственно.

Несмотря на многочисленные исследования, механизмы повреждения иммунной системы при ВИЧ-инфекции по-прежнему до конца не ясны. Это относится и к случаям вирусологического и иммунологического неуспеха, поскольку формирование в организме больного вирусов с мутациями в геноме может иметь существенное значение при развитии иммунного ответа [3].

**Цель работы** состояла в оценке уровня цитокинов у пациентов на поздних стадиях заболевания при развитии лекарственной резистентности.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 50 пациентов, проживающих на территории Приморского края. Возраст пациентов составил  $40,0 \pm 6,5$  лет. Распределение по полу было равноценным: 25 мужчин и 25 женщин. Лабораторные тесты контроля эффективности ВААРТ включали иммунологические критерии оценки ( $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ) методом проточной цитометрии, определение вирусной нагрузки (ВН) ВИЧ методом полимеразной цепной реакции (Real Time ПЦР). Показаниями к исследованию мутаций резистентности послужили неэффективность проводимого лечения, оцененная по РНК ВИЧ или числу  $CD4$ -лимфоцитов в крови. Молекулярно-генетические исследования плазмы крови, взятой в период проведения терапии, проводились с помощью тест-системы ViroSeq «HIV-1 Genotyping System» v 2.0 (Celera Diagnostics, Abbott, США). Исследованию был подвергнут ген, кодирующий протеазу ВИЧ (1-99 кодоны) и две трети гена, кодирующего обратную транскриптазу (1-335 кодоны). Для проведения автоматического определения последовательностей методом капиллярного электрофореза использован генетический анализатор АВ 3500 (Applied Biosystems, США).

Анализ полученных хроматограмм секвенсов проводился с использованием компьютерной программы «Sequencing Analysis» v 5.4; анализ мутаций лекарственной резистентности ВИЧ – программ «ViroSeq» v 2.8 и «SeqScape» v 2.7. Полученные консенсусные последовательности сравнивались с референсными с помощью базы данных Стенфордского университета. Определение концентраций ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-23 проводили с помощью тест-систем иммуноферментного анализа (сэндвич-ELISA, eBioscience, Австрия) в плазме крови. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью t-критерия Стьюдента и программы SPSS 22.

**Результаты.** Лица, принявшие участие в исследовании, сформировали четыре группы наблюдения. Группу пациентов с вирусологическим успехом ВААРТ, у которых уровень ВН ВИЧ был недетектируемым, составили 11 человек (22%). По результатам секвенирования генома пациенты были разделены на две группы – с выявленной лекарственной резистентностью (28 чел., 56%) и отсутствием детектируемых мутаций резистентности в геноме (11 чел., 22%). Группу сравнения составили 12 здоровых доноров крови.

Давность установления диагноза ВИЧ-инфекции варьировала от 5 месяцев до 14 лет. Более половины больных было выявлено на поздних стадиях – 4А, 4Б, 4В, что составляло 57%. Большинство пациентов указывали на половой путь заражения (31 чел., 62%), 19 пациентов (38%) указали на факт внутривенного употребления наркотиков в течение длительного времени. Длительность проведения ВААРТ значительно варьирует от 4 месяцев до 8 лет. Среди схем ВААРТ первого ряда соотношение назначенных схем, содержащих 2 НИОТ+ННИОТ и 2 НИОТ+ИП, было примерно одинаковым – 53% и 47% соответственно. При оценке уровня приверженности к проводимой терапии было установлено, что почти у половины больных (31 чел., 62%) наблюдалась приверженность низкого уровня, у 14 пациентов (28%) – среднего, у 3 пациентов уровень приверженности был оценен как 100%, а еще у 2 пациентов – как 95%. На факт самостоятельного прерывания назначенной терапии на различные промежутки времени указали 40 больных (80%).

Наиболее значительные изменения уровней цитокинов были отмечены в группе па-

циентов с мутациями резистентности: содержание ИЛ-6 в этой группе увеличилось в 2,3 раза ( $p<0,001$ ), а ИЛ-2 уменьшилось в 1,6 раз ( $p<0,001$ ) по сравнению с нормой. Изменения ИЛ-23 были менее выраженными: наблюдалось увеличение в 1,6 раз ( $p<0,01$ ). В группе пациентов с сохраняющейся ВН на фоне АРВТ без выявленных мутаций резистентности наблюдалось повышение ИЛ-6 в 1,5 раз ( $p<0,001$ ), снижение ИЛ-2 – в 1,4 раза ( $p<0,001$ ). Содержание ИЛ-23 не отличалось от уровня в группе пациентов с мутациями резистентности ( $p<0,01$  по сравнению с нормой). В группе пациентов с вирусологическим успехом ВААРТ уровни ИЛ-6, ИЛ-2 и ИЛ-23 мало отличались от уровней цитокинов в группе доноров ( $p<0,01$ ,  $p<0,05$  и  $p<0,05$  соответственно).

**Выводы.** При прогрессировании ВИЧ-инфекции на поздних стадиях заболевания при сохранении ВН ВИЧ на фоне формирования лекарственной устойчивости наблюдается достоверное увеличение уровней ИЛ-6 и снижение ИЛ-2. При сохранении ВН ВИЧ на фоне отсутствия мутаций резистентности эти изменения менее выражены. Изменения концентраций ИЛ-23 выражены незначительно. Измерение уровней цитокинов может быть использовано для мониторинга прогрессирования ВИЧ-инфекции и формирования мутаций лекарственной устойчивости.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агошков А. А., Пшеничная Н. Ю., Айдамирова Х. А., Шевченко Т. А. Клинико-лабораторные и эпидемиологические аспекты ВИЧ-инфекции в «продвинутых» стадиях в Чеченской Республике // Цитокины и воспаление. – 2014. – № 3. – С.70-71.
2. Гашникова Н. М., Богачев В. В., Барышев П. Б. и др. Распространенность мутаций, ответственных за резистентность к антиретровирусным препаратам, среди вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Новосибирской области // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 6. – С.56-60.
3. Селимова Л. М., Серебровская Л. В., Иванова Л. А., Носик Д. Н. Показатели CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов пациентов, инфицированных вариантами вируса иммунодефицита человека 1-го типа подтипа А, несущими мутации V77I в протеазе и A62V в обратной транскриптазе. // Вопросы вирусологии. – 2010. – № 2. – С.22-26.
4. Хоффман К., Рокштро К. Ю. Лечение ВИЧ-инфекции. М.: Р. Валент, 2012. – 736 с.

## CYTOKINE PROFILE OF HIV-INFECTED PATIENTS WITH HIV-1 DRUG RESISTANCE MUTATIONS

V. S. Eliseeva, S. P. Kruglyak, L. F. Sklyar

The study of cytokine levels IL-6, IL-2 and IL-23 of patients in the late stages of HIV infection with mutations associated with HIV resistance are carried through. The results show that in case drug resistant HIV-1 variants with high viral load there are more marked changes in cytokine profile than in the absence of drug resistant of patients with HIV replication.

---

## ВЛИЯНИЕ АНТЕ- И ПОСТНАТАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ РЕСПИРАТОРНОЙ ПЫЛЬЦЕВОЙ АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ

Емелина Ю. Н.<sup>1</sup>, Вахлова И. В.<sup>1,2</sup>, Тузанкина И. А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Областная детская клиническая больница № 1;

<sup>2</sup>Уральский государственный медицинский университет; <sup>3</sup>ФБГУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Целью данного исследования было оценить влияние генетических и неблагоприятных перинатальных факторов, характера вскармливания и наличия кожных высыпаний в грудном возрасте на риск формирования респираторной пыльцевой аллергии у детей. Выявлена высокая частота отягощенной наследственности по АЗ (73,8%), показано повышение абсолютного риска формирования поллиноза при наличии АЗ у родственников пробанда – на 43,2%. Показано, что абсолютный риск развития респираторной аллергии к пыльце деревьев при наличии кожных высыпаний у детей в постнатальном периоде повышается на 35,1%.

**Введение.** По данным современных эпидемиологических исследований распространенность аллергических заболеваний (АЗ) среди детского населения составляет 15-25% [1]. В настоящее время накоплено достаточно данных, указывающих на мультифакторную этиологию данной патологии с участием генетической предрасположенности (атопии) и воздействием факторов внешней среды. Некоторые авторы указывают на генетическую детерминированность гиперпродукции IgE и зависимость синтеза специфических IgE от воздействия внешних факторов [2]. Другие авторы указывают на многообразие генов, ответственных за atopическую предрасположенность, одни из которых контролируют выработку общего IgE, другие регулируют выработку аллергенспецифических IgE, третьи ответственны за развитие и поддержание аллергического воспаления [3, 4]. По данным Балаболкина И. И. 60-75% детей с atopическими заболеваниями имеют отягощенную наслед-

ственность по АЗ [2]. К факторам, вызывающим внутриутробную сенсибилизацию плода и влияющим на формировании atopического фенотипа относятся: угроза прерывания беременности, поздние токсикозы, гестоз, вирусные заболевания матери, курение матери во время беременности [1]. Первичная профилактика АЗ при наличии факта семейной atopии сможет снизить риск формирования аллергопатологии у детей.

**Цель:** проанализировать роль факторов анте- и постнатального периода в формировании респираторной аллергии к пыльце деревьев у детей.

**Материалы и методы.** Обследовано 182 человека в возрасте 5-17 лет из 26 городов Свердловской области. Основную группу составили 141 человек, имеющих ежегодные аллергические проявления поллиноза в апреле-мае на протяжении двух и более сезонов цветения, группу контроля – 41 человек, не имеющих АЗ.

У всех обследуемых детей ретроспективно проведен генеалогический анализ, изучены неблагоприятные факторы анте- и постнатального периода с заполнением индивидуальных анкет. Статистическая обработка данных проводилась параметрическими и непараметрическими методами с использованием пакета прикладных программ STATISTICA-6. Влияние различных факторов на формирование поллиноза оценивали с помощью четырехпольной таблицы и расчетом разности абсолютных рисков (Risk Defereans, RD) и отношения шансов (Odds Ratio, OR). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Средний возраст детей в основной группе составил  $10,0 \pm 0,3$  лет, преобладали мальчики – 71,6%, девочки – 28,4%. Средний возраст детей в группе контроля составил  $12,6 \pm 0,5$  лет, мальчики – 51,2%, девочки – 48,8%. Стаж поллиноза в основной группе составил –  $4,8 \pm 0,5$  лет. У всех детей (100%) в основной группе проявления сезонного АР сочетались с конъюнктивальными симптомами, т.е. имело место течение аллергического риноконъюнктивита (АРК). У 90,1% детей проявления АРК сочетались с поражением нижних отделов дыхательных путей, из них: у 78% имелись проявления БА, у 22% – признаки гиперреактивности дыхательных путей без клинических проявлений бронхообструктивного синдрома. У 22% детей АРК сочетался с проявлениями атопического дерматита (АД), у 30,5% детей – с перекрестной пищевой аллергией в виде орального аллергического синдрома.

Анализ родословных обследуемых детей позволил установить, что отягощенная наследственность по аллергической патологии достоверно чаще отмечалась в основной группе – 73,8% в сравнении с группой контроля – 14,6%,  $p < 0,01$ . Отмечено, что при наличии отягощенной наследственности по АЗ абсолютный риск развития респираторной аллергии к пыльце деревьев у детей повышался на 43,2% в сравнении с детьми, родственники которых не имеют АЗ [RD=43,2, ДИ 95%=30,9÷55,5]. Наличие АЗ у матери повышало абсолютный риск развития поллиноза у детей на 25% [RD=25,0, ДИ 95%=18,4÷31,6], причем величина этого риска была сопоставима с абсолютным риском, определяемым при наличии аллергопатологии одновременно у матери и родственников по материнской

линии [RD=24,8, ДИ 95%=18,3÷31,4]. Наличие АЗ у отца повышало абсолютный риск развития респираторной аллергии к пыльце деревьев у детей на 24,3% [RD=24,3, ДИ 95%=17,8÷30,7], что также было сопоставимо с абсолютным риском, отмеченным при наличии АЗ у отца и родственников по отцовской линии [RD=23,2, ДИ 95%=16,9÷29,4]. Наличие АЗ у родственников с обеих сторон повышало абсолютный риск развития поллиноза у детей на 28,9% [RD=28,9, ДИ 95%=21,4÷36,3].

При анализе перинатального анамнеза отмечено, что в основной и контрольной группах различные неблагоприятные факторы действовали с одинаковой частотой ( $p > 0,05$ ), наиболее часто встречались следующие: гестоз – 46,6% и 48,8%, токсикоз 1 половины беременности – 46,1% и 43,9%, ОРЗ во время беременности – 34,0% и 39,0%, медицинские аборт в анамнезе – 34,8% и 29,3%, а также угроза прерывания беременности на раннем сроке – 31,2% и 29,3%. Не выявлено влияния каких-либо перинатальных факторов на формирование респираторной аллергии к пыльце деревьев у обследуемых детей, т.к. отмечена высокая частота воздействия неблагоприятных факторов, действовавших в перинатальном периоде в обеих обследуемых группах.

При анализе характера вскармливания в грудном возрасте обратило на себя внимание достоверно большее количество детей с ранним искусственным вскармливанием в группе контроля – 51,2% и 19,9%,  $p < 0,01$ , тогда как в основной группе количество детей с продолжительностью грудного вскармливания больше года было достоверно больше – 34,8% и 14,6%,  $p = 0,05$ .

Отмечено, что кожные высыпания в постнатальном периоде достоверно чаще отмечались в основной группе – 75,2% и 29,3%,  $p < 0,01$ . Выявлено, что в основной группе кожные высыпания достоверно чаще дебютировали в возрасте до 3-х месяцев – 40,6% и 16,7% ( $p < 0,05$ ). Суммарно в возрасте до 1 года кожные высыпания отмечались у 83,0% детей в основной группе и у 33,3% – в группе контроля,  $p < 0,01$ . Установлено, что абсолютный риск развития респираторной аллергии к пыльце деревьев при наличии кожных высыпаний у детей в постнатальном периоде повышался на 35,1% [RD = 35,1, ДИ 95% = 21,8÷48,5], а вероятность ее развития увеличивалась в 7 раз [OR=7,3, ДИ 95%= 3,4÷15,9]. Причем, более значимо абсо-

лютный риск развития поллиноза повышался при появлении кожных высыпаний на первом году жизни – на 36,8% [RD = 36,8, ДИ 95% = 25,8÷47,7], вероятность развития респираторной аллергии к пыльце деревьев в этом случае также максимально повышалась – в 15 раз [OR=15,4, ДИ 95%= 5,2÷45,5] в сравнении с детьми, не имеющими кожных высыпаний до 12 месяцев жизни.

**Заключение.** Выявлена высокая частота отягощенной наследственности по АЗ у детей с поллинозами (73,8%), что согласуется с данными Балаболкина И. И. [2]. Отмечено, что наличие отягощенной наследственности по АЗ повышало абсолютный риск развития респираторной аллергии к пыльце деревьев на 43,2% в сравнении с детьми, родственники которых не имели АЗ. Отмечена сопоставимость повышения абсолютного риска развития поллиноза у детей при наличии АЗ у матери – 25% и у отца – 24,3%,  $p > 0,05$ .

Не удалось проследить взаимосвязи между ранним искусственным вскармливанием и развитием поллиноза впоследствии. Полученные результаты различаются с данными представленными в литературе [1, 5]. Различия можно объяснить тем, что количество детей с продолжительностью грудного вскармливания 6-12 месяцев и более в группе с поллинозом было достоверно больше, чем в группе контроля, что может свидетельствовать о наличии профилактической настроенности матерей с семейной атопией, проживающих на территории Свердловской области, на сохранение длительного грудного вскармливания для профилактики развития ранних аллергических проявлений у детей.

Показано, что абсолютный риск развития респираторной аллергии к пыльце деревьев при наличии кожных высыпаний у детей по-

вышался на 35,1%, а вероятность ее развития увеличивалась в 7 раз. Это согласуется с данными многочисленных исследований и объясняется концепцией «атопического марша», предложенной Мах Кjellman в 80-х годах XX века. Причем, наибольшее повышение абсолютного риска развития поллиноза отмечено при появлении кожных высыпаний на первом году жизни – на 36,8%, вероятность развития поллиноза в этом случае также максимально повышалась – в 15 раз в сравнении с детьми, не имеющими кожных высыпаний в грудном возрасте. Т.е. первый год жизни ребенка является наиболее значимым периодом в плане выявления первых атопических проявлений и начала проведения вторичной профилактики с целью предотвращения формирования респираторной аллергии в будущем.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Детская аллергология. Руководство для врачей/ под редакцией А. А. Баранова, И. И. Балаболкина. М.: «Гэотар-медиа», 2006, 688 с.
2. Клиническая аллергология детского возраста с неотложными состояниями. Руководство для врачей/ под редакцией Балаболкина И. И., Булгаковой В. А. М.: «Медицинское информационное агентство», 2011, 260 с.
3. Гуцин И. С., Курбачева О. М. Аллергия и аллерген-специфическая иммунотерапия. М.: Фармарус Принт Медиа», 2010, 228 с.
4. Сравнительный анализ комплекса генов, принимающих участие в развитии бронхиальной астмы. Останкова Ю. В., Иващенко Т. Э., Баранов В. С., Лаврова О. В. Медицинская иммунология, 2015, 17 (специальный выпуск), 71-72.
5. Факторы риска атопического дерматита у детей в районе имени Лазо Хабаровского края. Супрун Е. Н., Ефименко М. В., Нестерова А. В. Медицинская иммунология, 2015, 17 (специальный выпуск), 76-77.

## ROLE OF GENETIC AND POSTNATAL FACTORS ON THE FORMATION OF RESPIRATORY POLLEN ALLERGY IN CHILDREN

Emelina U. N., Vahlova I. V., Tuzankina I. A.

The aim of the study have been to evaluate the role of genetic and other factors in the perinatal period and in the first year of life children on the formation of respiratory pollen allergy. Has been shows an increase in the absolute risk of formation of pollen allergy in children with allergic diseases in the family – by 43,2% [RD=43,2, ДИ 95%=30,9÷55,5], compared with children who do not have a family history of allergies, presence of skin lesions increased absolute risk – by 35,1% [RD = 35,1, ДИ 95% = 21,8÷48,5] compared with children who did not have skin rashes.

## ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СПЕКТРА КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ФИБРОЗНО- КИСТОЗНОЙ МАСТОПАТИИ У ЖЕНЩИН С ДИФФУЗНЫМ НЕТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ

Ергешева А. С., Каримова Д. Ф.

*Институт Усовершенствования Врачей МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан*

Было проведено исследование по изучению состояния иммунной системы у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией (ФКМ) и наличием диффузно нетоксического зоба (ДНЗ). Полученные результаты исследования показали, что между группами пациенток с ФКМ и с ФКМ в сочетании с ДНЗ были выявлены достоверные различия по содержанию CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, а также фагоцитоза и ЦИК.

*Ключевые слова:* фиброзно-кистозная мастопатия, щитовидная железа, иммунный статус.

В силу физиологических особенностей молочная железа (МЖ) находится в состоянии постоянной смены процессов пролиферации и инволюции, связанной с фазами менструального цикла и соответствующим им различным уровням половых гормонов [2, 3]. При раке МЖ первыми в организме женщины реагируют иммунная система и обменные процессы [1, 2, 3]. Наиболее чувствительными факторами иммунитета являются провоспалительные и противовоспалительные цитокины [1, 3, 4]. Изучение особенностей иммунного профиля и их взаимосвязи с клинико-морфологическими вариантами мастопатии на фоне миомы матки даст практическому врачу новые возможности в ранней диагностике рака МЖ.

**Целью** исследования явилось изучение состояния иммунной системы у женщин с ФКМ на фоне ДНЗ.

**Материалы и методы исследования.** Проведено обследование 64 женщин с различными формами мастопатии. Из них у 34 женщин отмечена ФКМ (19 женщин с ФКМ и 15 женщин с фиброзной мастопатией) и у 30 женщин ФКМ сочеталась с наличием диффузно-нетоксического зоба (ДНЗ). Контрольную группу составили 20 практически здоровых женщин. Лабораторные исследования включали определение в сыворотке крови гормонов ФСГ, ЛГ, ТТГ, Пролактин, ТТГ, Т3, Т4. Иммунологические исследования проводились изучени-

ем в периферической крови количественного определения лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD-HLADR, CD95 с помощью моноклональных антител серии LT («Сорбент», Москва, Россия). Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли с использованием латексных частиц, уровень ЦИК в сыворотке крови определяли с использованием ПЭГ-600 («Нихол», Ташкент) согласно инструкции по применению. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики с вычислением среднего арифметического (M), его ошибки (m) и критерия Стьюдента (t).

**Результаты и их обсуждение.** Анализ проведенных исследований показал, что у женщин с ФКМ без патологии щитовидной железы (ПЩЖ) и у женщин с ДНЗ и ФКМ количество CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов достоверно ниже контрольных значений (P<0,01). При изучении количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов у женщин с ДНЗ и ФКМ был выявлен их дефицит (P<0,01) (P<0,05), который сопровождался повышением содержания CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>- и CD20<sup>+</sup>-клетками (P<0,01) по сравнению с данными контрольной группы, причем повышенное содержание было и по отношению к группе женщин с ФКМ, но без патологии щ/ж. (P<0,01). Было выявлено, что процентное содержание фагоцитарной активности нейтрофилов

в крови женщин с ФКМ без ПЩЖ и с ДНЗ этот показатель был достоверно сниженным по сравнению с значениями контрольной группы ( $P < 0,01$ ). Частота высоких ЦИК среди обследованных больных женщин, особенно с наличием ДНЗ, велика и составляла  $50,3 \pm 4,5\%$ . Критериями раннего пролиферативного процесса могут быть увеличение количества лимфоцитов с рецептором к IL-2 (CD25<sup>+</sup>), клеток позднего пролиферативного процесса, активированных через рецептор к сублокусу HLA-DR (CDHLA-DR<sup>+</sup>). У женщин с ФКМ количество лимфоцитов с маркером ранней активации – CD25, было достоверно повышенным по сравнению с контролем, а у женщин с ФКМ и ДНЗ наблюдалось снижение количества лимфоцитов с маркером ранней активации – CD25 и повышение клеток с маркером поздней активации – CD HLA-DR ( $P < 0,01$ ).

Апоптоз присутствует в зрелых соматических клетках в течение жизни человека при образовании кератиноцитов, слущивании эпителиальной выстилки желудка и кишечника, эндометрия, атрезии фолликулов яичников, регрессии молочной железы, при лактации, атрофии предстательной железы, кастрации. В наших исследованиях было выявлено, что количество лимфоцитов экспрессирующих антиген апоптоза повышено по сравнению с таковыми данными здоровых женщин ( $P < 0,05$ ).

Проведенные нами исследования показали, что у женщин с ФКМ наблюдается разнонаправленное изменение содержания иммунокомпетентных клеток. Однако, наличие диффузно-нетоксического зоба усугубляет иммунодефицитное состояние, которое сопровождается значительным количественным снижением в периферической крови общего пула Т-лимфоцитов, Т-хелперов и повышением Т-супрессоров, что может отражать нарушение формирования цитотоксических реакций, связанных с распознаванием молекул МНС I класса. Известно, что именно этот тип цитотоксичности обеспечивает распознавание и элиминацию из организма измененных аутологических клеток, поэтому можно предположить, что повышенный уровень ЦТЛ у женщин с диффузно-нетоксическим зобом играет существенную роль в развитии роста миомы [3,4]. Содержание НК-клеток при этом существенно увеличивается. НК-клетки во многом определяющие неспецифическую

резистентность организма, осуществляют первую линию обороны против развития опухолей [2,4]. Они оказывают цитотоксическое и цитостатическое действие на широкий спектр клеток организма. Наряду с этими свойствами, они обладают способностью секретируют ряд цитокинов, благодаря чему участвуют в регуляции реакций гуморального и клеточного иммунитета, а также гемопоэза, контролируют рост и дифференцировку стволовых кроветворных клеток [4]. Известно, что при контакте из НК-клеток в клетку-мишень поступают сигнальные молекулы, включающие процесс ее апоптоза [4], в связи с чем можно предположить, что выявленный в данном исследовании повышенный уровень CD95<sup>+</sup>-клеток у женщин с ФКМ, и с ДНЗ, и без ПЩЖ может быть обусловлен повышенным содержанием натуральных киллеров. Кроме того, надо отметить тот факт, что экспрессия интерлейкина-2 происходит только параллельно с активацией клетки и предохраняет ее от процесса апоптоза [4]. В случае, если лимфоциты не получили полного “комплекта” активирующих сигналов из-за недостаточности тиреоидных гормонов (Т3, Т4), лимфоциты подвергаются так называемому “активационному” апоптозу, развивающемуся в результате дисбаланса активационных сигналов. Выявленное снижение активационных лимфоцитов с маркерами CD25 у женщин с ММ и с ДНЗ свидетельствует о том, что у определенного количества клеток процесс активации нарушается из-за, возможно, нарушения работы щитовидной железы, что приводит к повышенному количеству CD95<sup>+</sup>-клеток.

Выявленная направленность иммунных сдвигов и их выраженность указывают на важную патогенетическую роль иммунных механизмов в развитии и прогрессировании ФКМ у женщин с диффузно нетоксическим зобом.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вихляева Е. М. Руководство по эндокринной гинекологии, М., 2000, с 424-487.
2. Епишин А. В., Денайло И. Н., Епишина Н. А. Иммунные изменения при эндемическом зобе // Врачебное дело. – 1986. – № 4. – С. 68-72.
3. Потин В. В., Сазонова С. Н. Особенности регуляции функции щитовидной железы у больных диффузным нетоксическим зобом // Пробл.эндокрин. – 1988. – № 1. – С. 40-42.
4. Ярилин А. А. Основы иммунологии. // кн. М., 1999. – 450 с.

## THE FEATURES OF SUBPOPULATION SPECTRUM OF THE PERIPHERAL BLOOD CELLS IN FIBROCYSTIC BREAST IN WOMEN WITH DIFFUSE NONTOXIC GOITER

Ergesheva A. S., Karimova D. F.

*Institute of Postgraduate Medical Education under MoH of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan*

A study was conducted to study the state of the immune system in women with fibrocystic mastopathy (FCM) and the presence of diffuse nontoxic goiter (DNG). These results showed that among the groups of patients with FCM and FCM in combination with DOP revealed significant differences in the content of CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, as well as phagocytosis and the CEC.

*Key words:* fibrocystic breast disease, thyroid, immune status

---

---

## АПОПТОЗ И КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЙ МЕТАБОЛИЗМ МОНОЦИТОВ ПРИ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

Ерыгина Е. Н., Романова Н. В., Романов В. А.

*ГБОУ ВПО «ЯГМУ» Минздрава России, Ярославль, Россия*

Исследованы маркеры апоптоза моноцитов (экспрессия CD95 антигена иммунофлюоресцентным и ДНК клеток микроцитометрическим методами) и их связи с кислородзависимым метаболизмом в тестах хемилюминесценции клеток у 34 больных дискоидной красной волчанкой (ДКВ) и у 143 – системной красной волчанкой (СКВ). Контрольная группа состояла из 33 здоровых доноров. Только при СКВ установлено увеличение экспрессии CD95 антигена на фоне снижения ДНК клеток и взаимосвязи маркеров апоптоза между собой и спонтанной продукцией активных форм кислорода на фоне усиления окислительного стресса циркулирующих макрофагов со снижением резервного потенциала клеток.

**Актуальность.** Сведения литературы о состоянии маркеров апоптоза моноцитов и их связи с окислительным стрессом фагоцитов у больных кожными и системными формами красной волчанки немногочисленны и достаточно противоречивы [3, 4, 5]. Исследование данного вопроса представляется целесообразным в плане выяснения иммунопатологических механизмов развития этих заболеваний, а также для совершенствования лабораторных методов дифференциальной диагностики и разработки подходов к профилактике и лечению различных форм красной волчанки.

**Цель работы** – изучение маркеров апоптоза моноцитов (Мн) и их связей кислородзависимым метаболизмом клеток у больных дискоидной красной волчанкой (ДКВ) и системной красной волчанкой (СКВ).

Обследовано 177 человек в возрасте от 20 до 60 лет (143 больных СКВ и 34 – ДКВ). Больные СКВ были обследованы в соответствии с диагностическими критериями ACR. Средний возраст больных СКВ составил 51,4± 10,9 года, длительность заболевания 95,2±14 месяцев; при ИКВ соответственно – 54,9±18,1 года и 12,6± 4,5 месяца. Мужчин среди больных СКВ было 3 (2,1%), женщин – 140 (97,9%), среди ИКВ соответственно 7 и 16 (30,4% и 69,6%).

Минимальная степень активности воспалительного процесса (A1) диагностирована у 73 больного (51,1%), умеренная (AII) – у 70 (48,9%). Кожный синдром у больных СКВ был выявлен в 78,3%, фотосенсибилизация – у 88 (61,5%) больных, поражение кожи в виде эритематозной или сосудистой «бабочки» – у 42 (29,4%), дискоидные очаги – у 36 (25,2%), сет-

чатое ливедо – у 24 (16,8%), трофические нарушения – у 12 (8,4%), капилляриты – у 68 (47,5%). Суставной синдром у больных СКВ был выявлен у 108 пациентов (75,5%), поражения нервной системы – у 101 (70,6%), лимфоаденопатия – у 32 (22,4%) больных, сосудистые поражения (тромбозы, синдром Рейно) – у 25 (17,5%) и у 34 (23,8%) пациентов, АФС – у 38 (26,6%). Поражения сердца были констатированы у 42 (29,4%) больных, легких – у 48 (33,6%), почек – у 56 (39,1%). У 25-73,5% больных ИКВ была диагностирована дискоидная красная волчанка, у 9 (26,4%) пациентов – диссеминированная красная волчанка. При клинико-лабораторном и инструментальном обследовании больных ИКВ признаков системности не выявлялось. Контрольная группа (33 здоровых донора) была представлена 2 (6,1%) мужчинами и 31 (93,9%) женщиной.

**Используемые методы.** Популяции моноцитов и нейтрофилов периферической крови человека получали с помощью центрифугирования на двойном градиенте плотности фиколла – верографина с последующим выделением моноцитов из смеси мононуклеаров центрифугированием в градиенте плотности перколла [1]. Исследовали экспрессию CD95 антигена на Мн с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции, ДНК клеток – микроцитометрическим методом с красителем акридиновым оранжевым, кислород-зависимый метаболизм в тестах спонтанной и индуцированной эпидермальным стафилококком люминолзависимой хемилюминесценции (сХЛ, иХЛ) [1]. Функциональный резерв фагоцитов оценивали по коэффициенту активации (КА – отношение индуцированных тестов к спонтанным).

Статистическая обработка данных проведена с помощью программного пакета Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) с вычислением показателей среднего ± стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ), для исследования взаимосвязи изученных показателей применен корреляционный анализ. Различия между группами считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Основные результаты.** Установлено, что при СКВ экспрессия CD95<sup>+</sup> на Мн была статистически достоверно выше – 64 (48-72)%, чем у здоровых лиц – 52 (42-56)%, ( $p < 0,05$ ), в то время как у больных ДКВ этот показатель 55 (51-62)% существенно не отличался от результатов

исследования здоровых лиц ( $p > 0,05$ ). Только у больных СКВ установлено существенное снижение ДНК в Мн ( $5,56 \pm 2,45$  mV) по сравнению с данными пациентов с ДКВ ( $8,36 \pm 1,55$  mV,  $p < 0,05$ ) и доноров ( $8,85 \pm 2,42$  mV). Разница между показателями ДНК Мн при ДКВ и здоровых лиц статистически недостоверна ( $p > 0,05$ ). С нарастанием активности СКВ установлено уменьшение содержания ДНК в Мн ( $5,28 \pm 1,67$  до  $4,25 \pm 2,2$  mV,  $p < 0,05$ ).

Показатели кислородзависимого метаболизма Мн (сХЛ –  $1,0 \pm 1,0$ , иХЛ –  $1,4 \pm 2,5 \times 10^4$  имп/мин, КА –  $2,1 \pm 4,1$ ) у больных ДКВ не отличались от показателей здоровых лиц (соответственно  $0,7 \pm 0,3$  и  $1,8 \pm 1,5 \times 10^4$  имп/мин, КА –  $2,5 \pm 1,8$ ;  $p > 0,05$ ). При СКВ констатировано увеличение спонтанной продукции активных форм кислорода на фоне неизмененных индуцированных показателей и снижения резервных функций моноцитов по сравнению с аналогичными данными у больных ДКВ и здоровых людей (сХЛ –  $2,1 \pm 1,8$ , иХЛ –  $1,3 \pm 1,3 \times 10^4$  имп/мин, КА –  $0,8 \pm 0,8$ ;  $p > 0,05$ ).

Анализ взаимозависимостей исследованных показателей показал, что при СКВ имелись обратные корреляционные связи между CD95 Мн и ДНК Мн, а также обратные связи ДНК Мн со спонтанной продукцией активных форм кислорода фагоцитами.

**Заключение.** Результаты исследования свидетельствуют о выраженных изменениях маркеров апоптоза моноцитов (увеличение экспрессии CD95 антигена на фоне снижения ДНК клеток) и их взаимосвязях на фоне усиления окислительного стресса циркулирующих макрофагов с выработкой высокотоксичных гистодеструктивных активных форм кислорода и снижения резервного потенциала клеток исключительно при СКВ. Эти данные демонстрируют важную роль моноцита в иммунопатогенезе СКВ, как клетки, ответственной за развитие системности процесса при СКВ. Снижение резервных функций фагоцитов у больных СКВ, вероятно, определяет длительную персистенцию иммунных комплексов при этом заболевании. Выполненные исследования согласовываются со свободнорадикальной теорией патогенеза СКВ [2]. С практической точки зрения исследование величин экспрессии CD95 и ДНК моноцитов может быть использовано в качестве дополнительных лабораторных тестов для дифференциации ДКВ и СКВ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М.: ВНИРО; 1995.
2. Ahsan H., Ali A., Ali R. Oxygen free radicals and systemic autoimmunity. Clin. Exp. Immunology. // – 2003.–131 (3).– P. 398-404.
3. Liphau B.L. et. al. Reduced expressions of Fas and Bcl-2 proteins in CD14<sup>+</sup> monocytes and normal CD14 soluble levels in juvenile systemic lupus erythematosus. // Lupus.–2013.– Aug;22 (9).– P. 940-947.
4. Munoz LE et. al. Apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. // Lupus.–2008.– May17 (5).– P. 371-375.
5. Ren Y et al. Increased apoptotic neutrophils and macrophages and impaired macrophage phagocytic clearance of apoptotic neutrophils in systemic lupus erythematosus. // Arthritis Rheum.– 2003.– Oct.48 (10).– P. 2888-97.

### APOPTOSIS and OXYDATIVE STRESS OF MONOCYTES in LUPUS ERYTHEMATOSUS

E. N. Erygina, N. V. Romanova, V. A. Romanov

Studied markers of apoptosis of monocytes (expression of CD95 antigen with indirect immunofluorescence assay, and DNA in cells with microcytofluorimetry) and their relationship to oxydative stress cell with the chemiluminescence tests cells in 34 patients with diskoid lupus erythematosus and 143 – Systemic Lupus Erythematosus (SLE). The control group consisted of 33 healthy donors. Only when the SLE found increased expression of CD95 declining antigen DNA cells apoptosis markers and the relationship between them and the spontaneous production of reactive oxygen species for oxidative stress with increased circulating macrophages with reduction of the standby capacity of the cells.

### СОДЕРЖАНИЕ ДВОЙНЫХ ПОЗИТИВНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Ефименко М. В., Супрун Е. Н., Матухно А. В.,  
Евсеева Г. П., Половова Е. Б.

*Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания – НИИ охраны материнства и детства; Дальневосточный государственный медицинский университет; Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения министерства здравоохранения Хабаровского края  
Хабаровск, Россия*

Заметная роль в развитии иммунных нарушений принадлежит минорным субпопуляциям, однако нет единого мнения об их функциональном и диагностическом значении. Обследование 124 пациентов 1-17 лет с бронхолегочной патологией (ВП, БА, ВПРЛ) установило увеличение содержания DP-лимфоцитов в периферической крови преимущественно у больных острыми инфекциями бактериальной этиологии (ВП) и снижение их числа на фоне хронического воспалительного процесса различного генеза (БА, ВПРЛ). Выявленные особенности требуют дальнейшего изучения с целью определения их диагностической значимости для оценки и коррекции изменений иммунной системы у детей с бронхолегочной патологией.

**Актуальность.** Несмотря на значительные успехи современной медицины, заболевания органов дыхания у детей остаются актуальной проблемой педиатрии. Несмотря на успехи в разработке и внедрении новых антибакте-

риальных препаратов они занимают 1 место в структуре общей заболеваемости и не имеют тенденции к снижению. Многочисленными исследованиями установлено, что развитие и течение многих заболеваний, сопровожда-

ется снижением иммунологической реактивности. В процессе исследований значительно расширились представления о функционировании системы иммунитета у детей с бронхолегочной патологией, однако в последнее время появились сообщения, что, помимо  $CD3^+CD4^+/CD8^-$  и  $CD3^+CD4^-/CD8^+$  Т-лимфоцитов, в периферической крови и органах иммунной системы человека и других млекопитающих выявляется популяция двойных позитивных, то есть дубль-позитивных (DP, D-лимфоцитов), а именно лимфоцитов, имеющих фенотип  $CD3^+CD4^+CD8^+$ . В настоящее время выделено несколько субпопуляций DP-лимфоцитов:  $CD4^{dim}CD8^{bright}$ ,  $CD4^{med}CD8^{bright}$ ,  $CD4^{bright}CD8^{dim}$  [3]. О функциональном значении DP-клеток продолжаются дискуссии и выделяются теории: DP – незрелая форма Т-хелперов; DP – высокодифференцированные центральные Т-клетки памяти, которые имеют большое значение в развитии реакций адаптивного иммунитета в ответ на различные инфекционные агенты [1,2], то есть пока не существует единой теории, которая дала бы определение двойным позитивным DP-клеткам, охарактеризовала бы их функциональное значение для организма и обосновала значимость определения данной популяции для клинической практики.

**Цель исследования.** Изучение содержания  $CD4^+CD8^+$  Т-лимфоцитов – DP-клеток при бронхолегочной патологии различного генеза (внебольничной пневмонии, бронхиальной астме и пороках развития бронхолегочной системы).

**Материалы и методы.** Ретроспективный анализ данных иммунограмм 124 пациентов в возрасте 1-17 лет с диагнозами внебольничная пневмония (ВП) (n=39), бронхиальная астма (БА) (n=27) и врожденный порок развития лёгких (ВППЛ) (n=58). Пациенты проходили лечение на базе Хабаровского филиала «ДНЦ ФПД» – НИИ Омид. Для сравнительной оценки в базу данных были включены данные иммунограмм 57 здоровых детей в возрасте 1-17 лет, сопоставимых по полу и возрасту.

Лабораторное обследование включало определение субпопуляций Т-лимфоцитов в периферической крови методом проточной цитометрии (Becton Dickinson, США) в автоматизированном режиме учета результатов Multitest. По данным иммунограмм была составлена сводная статистическая таблица в ре-

дакторе Microsoft Office Excel 2007. Для оценки динамики DP-клеток, то есть  $CD4^+CD8^+$  Т-лимфоцитов сравнивали среднее арифметическое взвешенное от абсолютного числа  $CD4^+CD8^+$  в группах пациентов и определяли взаимосвязь исследуемых иммунологических показателей со средним арифметическим абсолютного числа  $CD3^+/CD4^+/CD8^+$  лимфоцитов по коэффициенту корреляции Пирсона. Уровень значимости считали достоверным при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Клеточное звено иммунитета у пациентов с ВП в сравнении с показателями здоровых детей отличается достоверным снижением относительных и абсолютных значений Т-лимфоцитов ( $CD3^+/CD45^+$ ), Т-хелперов ( $CD4^+/CD3^+$ ) и субпопуляции цитотоксических лимфоцитов ( $CD8^+/CD3^+$ ) и стабильной тенденцией к угнетению экспрессии антигенных детерминант натуральных киллеров ( $CD16^+56^+/CD45^+$ ).

Развитие обострения хронического аллергического процесса (БА) у подростков сопровождается нарастающим лимфоцитозом, на фоне которого количество  $CD3^+/CD45^+$  лимфоцитов снижается за счет уровня  $CD4^+/CD45^+$ -лимфоцитов и подъём уровня  $CD19^+/CD45^+$ -лимфоцитов. Определена достоверная отрицательная корреляция ( $r_{ji} = -0,82$ ) обострений бронхиальной астмы с экспрессией на поверхностной мембране лимфоцитов рецепторов к CD8.

Клеточный иммунитет детей с ВППЛ в период ремиссии в сравнении с показателями детей группы сравнения характеризуется повышением процента  $CD19^+/CD45^+$  (16,65%±0,80 и 12,24%±0,78, соответственно) и снижением относительных значений  $CD4^+/CD3^+/CD45^+$  (35,85%±0,86 и 38,64%±1,22, соответственно) и  $CD(16+56)^+/CD45^+$  (7,65%±0,77 и 11,56%±1,09, соответственно). Период обострения сопровождается повышением относительного числа  $CD3^+/CD45^+$  в сравнении с показателями периода ремиссии (68,38% и 63,96%),  $CD4^+/CD3^+/CD45^+$  (42,0% и 35,85%),  $CD8^+/CD3^+/CD45^+$  (26,8% и 20,98%, соответственно). Повышение субпопуляции цитотоксических лимфоцитов ( $CD8^+/CD3^+/CD45^+$ ) определяет негативную динамику ИРИ, что свидетельствует об угнетении клеточных механизмов иммунного ответа в период обострения бронхолегочной патологии у детей с ВППЛ.

Отмечена тенденция к повышению числа DP-лимфоцитов у пациентов с внебольничной пневмонией, по сравнению с остальными группами, что позволяет предположить более активное участие CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> в иммунном ответе при острой бактериальной инфекции. У пациентов с БА и ВПРЛ число DP-лимфоцитов оказалось сниженным по сравнению с контрольной группой. При этом у пациентов, страдающих БА обнаружено повышение числа CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> лимфоцитов, что указывает на возможную роль вирусных антигенов в индукции заболевания. Вероятно, снижение числа DP-лимфоцитов связано с расходом их в ходе иммунного ответа.

При хроническом воспалительном процессе, характерном для пациентов с ВПРЛ выявлено увеличение числа CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, при менее выраженном повышении значения DP-лимфоцитов (по сравнению с CD4<sup>+</sup>), что свидетельствует об увеличении сроков «дозревания» CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> в CD4<sup>+</sup> у детей с ВПРЛ.

Выявлены прямые корреляционные зависимости между числом DP-лимфоцитов и абсолютным содержанием лимфоцитов ( $r=+0,95$ ,  $p<0,05$ ), CD3<sup>+</sup> лимфоцитов ( $r=+0,65$   $p<0,05$ ), CD4<sup>+</sup> лимфоцитов ( $r=+0,78$   $p<0,05$ ) и обратная корреляция с абсолютным числом CD8<sup>+</sup> ( $r=-0,86$   $p<0,05$ ). На основании выявленных корреляций можно думать, что повышение числа

DP-лимфоцитов в исследуемых группах может быть связано с активацией и пролиферацией преимущественно CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов T-хелперного звена.

**Выводы.** Установлено увеличение содержания DP-лимфоцитов в периферической крови преимущественно у больных острыми инфекциями бактериальной этиологии (ВП) и снижение на фоне хронического воспалительного процесса различного генеза (БА, ВПРЛ). Выявленные особенности требуют дальнейшего изучения с целью определения их диагностической значимости для оценки и коррекции изменений иммунной системы у детей с бронхолегочной патологией.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лебедев М. Ю., Шолкина М. Н., Живцов О. П. Содержание дубль-позитивных CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> лимфоцитов в периферической крови тяжелообожженных и больных с остеомиелитом // *Фундаментальные исследования.* – 2013. – № 12. – С. 45-48.
2. Lambert C., Ibrahim M., Iobagiu C., Genin C. Significance of unconventional peripheral CD4<sup>+</sup>CD8<sup>dim</sup> T cell subsets // *J. Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 25, № 5. – P. 418-427.
3. Nascimbeni M., Shin E. C., Chiriboga L., Kleiner DE, Rehmann B. Peripheral CD4(+) CD8(+) T cells are differentiated effector memory cells with antiviral functions // *Blood.* – 2004. – Vol. 104, № 2. – P. 478-486.

## CONTENT OF DOUBLE POSITIVE T-LYMPHOCYTES AMONG PATIENTS WITH BRONCHOPULMONARY PATHOLOGY

M. V. Efimenko, E. N. Suprun, A. V. Matuhno,  
G. P. Evseeva, E. B. Polovova

*Khabarovsk Facility «Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration» – Scientific research institute of Mother and Child Care; Far Eastern State Medical University; Institute of Advanced Training of health professionals mini-Ministry of Health of the Khabarovsk Territory, Khabarovsk, Russia*

A significant role in the development of immune disorders belongs to minor subpopulations, but there is no consensus about their functional and diagnostic value. Examination of 124 patients aged 1 to 17 with bronchopulmonary pathology (pneumonia, atopic asthma, lung congenital malformation) established the increase in DP-lymphocytes in the peripheral blood mainly among patients with acute bacterial etiology (pneumonia) infections and the decline in their numbers on the background of chronic inflammation of various origins (atopic asthma, lung congenital malformation). These peculiarities require further investigation to determine their diagnostic significance for the evaluation and correction of changes in the immune system among children with bronchopulmonary pathology.

## ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС КРОВИ У ДЕТЕЙ С БРОНХООБСТРУКТИВНЫМ СИНДРОМОМ

Ефименко М. В., Евсеева Г. П., Холодок Г. Н.,  
Козлов В. К.

Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания – НИИ охраны материнства и детства, Хабаровск, Россия

Изучена спонтанная и митоген-индуцированная выработка цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4, ИЛ-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , VEGF и MCP-1 клетками цельной крови *in vitro* у детей с бронхообструктивным синдромом. Выявленные изменения свидетельствуют в пользу вирусной этиологии заболевания, которая была подтверждена выделением ДНК вирусов в 43% случаев. Однако у 15% больных выявлялись изменения, больше характерные для аллергического воспаления, что требует целенаправленного проведения специфического аллергологического обследования с целью установления и элиминации причинно-значимых аллергенов для профилактики развития аллергического воспаления.

Особенностью течения болезней легких у детей в настоящее время является высокая частота бронхообструктивного синдрома (БОС), являющегося основным симптомокомплексом при таких заболеваниях как бронхиальная астма и обструктивный бронхит, так и сопутствующим синдромом при другой бронхолегочной патологии, утяжеляющим течение основного заболевания [1]. Исследования свидетельствуют об участии многочисленных провоспалительных цитокинов в формировании и развитии воспаления. Дисбаланс цитокинов приводит к дефектам иммунного ответа, нарушениям защитных и формированию патологических ответных реакций организма. Одним из наиболее важных показателей иммунитета при инфекционных и иммунопатологических заболеваниях является потенциальная способность клеток к секреции цитокинов [2]. Оценка спонтанной продукции цитокинов *ex vivo* позволяют оценить активацию клеток крови в организме обследуемого пациента, а индуцированная митогеном продукция – их потенциальную способность к секреции цитокинов [3]. В связи с этим растет интерес к изучению функциональной активности иммунокомпетентных клеток при различной патологии.

**Целью** исследования явилась оценка спонтанной и индуцированной продукции цитокинов клетками цельной крови у детей с БОС.

**Материалы и методы.** Для решения данной задачи было обследовано 24 ребенка, больных

внебольничной пневмонией (ВП), сопровождающейся БОС, 20 детей с ВП без БОС сопоставимых по полу и возрасту. Диагноз бронхиальной обструкции ставился на основании клинико-анамнестических данных, результатах физического и функционального исследования.

Проведено исследование спонтанной и митоген-индуцированной продукции клетками цельной крови цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4, ИЛ-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , VEGF и MCP-1 методом иммуноферментного анализа с помощью наборов ЗАО Вектор-БЕСТ (Россия, г. Новосибирск).

Статистический анализ проводился с использованием пакетов прикладных программ «STATISTICA 10.0». Полученные результаты представлены в виде Me (Q25–Q75), где Me – значение медианы, Q25–Q75 – значения 25-го и 75-го квартилей. Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Уровень значимости считали достоверным при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Анализ уровня спонтанной и митоген-индуцированной продукции цитокинов клетками цельной крови *in vitro* показал, что у детей с БОС спонтанная продукция IL-1 $\beta$  была в 2,7 раза ниже, чем у детей без БОС и составила 77,9 пг/мл (31,6-257,9 пг/мл) и 214,1 пг/мл (137,4-259,8 пг/мл) соответственно,  $p = 0,0265$ , против 0 пг/мл (0-3 пг/мл) показателей в контроле. Уровень митоген-индуцированной продукции у детей с БОС

увеличивался в 3,3 раза и достигал уровня показателей у детей без БОС (прирост 1,2 раза) и составил 257,4 пг/мл (125,8-258,9 пг/мл) и 259,2 пг/мл (222,0-261,1 пг/мл) соответственно. Повышение продукции IL-1 $\beta$  свидетельствует об активации всего интерлейкинового каскада в ответ на действие возбудителя, но у детей с БОС эти процессы происходили с некоторым запаздыванием.

Другим цитокином, обладающим способностью инициировать и стимулировать воспалительные реакции является TNF- $\alpha$ . Спонтанная продукция TNF- $\alpha$  у детей с БОС также была ниже, чем у детей без БОС и составила 124,5 пг/мл (61,8-162,2 пг/мл) и 195,3 (61,1-247,6 пг/мл) соответственно,  $p=0,0573$ . Уровень митоген-индуцированной продукции увеличился у детей без БОС в 1,3 раза и составил 245,8 (62,7-247,2 пг/мл), у детей с БОС концентрация увеличилась в 1,8 раза и составила 224,1 (45,0-247,5 пг/мл). Увеличение продукции цитокина при дополнительной стимуляции свидетельствует об имеющихся резервных возможностях иммунокомпетентных клеток крови.

У детей с БОС спонтанная продукция VEGF была увеличена в 2,6 раза до 41,0 пг/мл (20,9-93,3 пг/мл) по сравнению с показателями у детей без БОС – 24,4 пг/мл (11,9-53,5 пг/мл) соответственно,  $p=0,0000$ . Уровень митоген-индуцированной продукции увеличился у детей с БОС до 60,4 пг/мл (21,7-127,9 пг/мл) и не увеличился у детей без БОС 24,9 пг/мл (16,5–59,2 пг/мл) ( $p=0,0429$ ). Экспрессия VEGF усиливается под влиянием множества факторов, включая и гипоксию, а также TNF- $\alpha$ .

MCP-1 играет важную роль при множестве заболеваний, включая аллергические реакции. Спонтанная продукция MCP-1 у детей с БОС и без БОС достоверно не различалась и составила 327,5 пг/мл (203,4-360,5 пг/мл) и 225,4 (122,5-402,6 пг/мл) соответственно, однако превышала уровень контроля в 3 и 2,5 раза. Добавление митогена увеличивала продукцию цитокина у детей без БОС до 245,2 пг/мл (138,8-483,8 пг/мл), а у детей с БОС – снижало продукцию MCP-1 в 1,2 раза до 270,1 пг/мл (110,1-650,9 пг/мл).

Различий в показателях IL-17, играющего ключевую роль при инфекционных и аутоиммунных заболеваниях, между группами не выявлено: у детей без БОС спонтанный уровень соответствовал 1,41 пг/мл (0,85-1,55 пг/мл), индуцированный – 1,13 пг/мл (0,77-1,48 пг/мл).

У детей с БОС показатели были соответственно: 1,13 пг/мл (1,03-1,69 пг/мл) и 1,20 пг/мл (0,7-1,9 пг/мл), в обеих группах детей эти показатели были снижены в 1,5 раза по сравнению с контролем и при стимуляции положительного отклика не было.

Оценка содержания иммунорегуляторного IFN- $\gamma$  так же не выявила достоверных различий: у детей без БОС спонтанный уровень соответствовал 1,3 пг/мл (0,2-1,55 пг/мл), индуцированный – 2,1 пг/мл (0-4,6 пг/мл). У детей с БОС показатели были соответственно: 1,3 пг/мл (0-4,6 пг/мл) и 3,0 пг/мл (0,4-7,65 пг/мл), при этом уровни спонтанной продукции цитокина были повышены в 1,3 раза по сравнению с контролем, и наоборот, показатели индуцированной продукции были ниже показателей контрольной группы, что может свидетельствовать о несостоятельности специфического иммунного ответа.

Уровень IL-4 у детей без БОС определялся в пределах 2,7 пг/мл (0-0,96 пг/мл), индуцированный – 0,42 пг/мл (0-1,11 пг/мл), что было выше, чем у детей с БОС 0 (0-1,17 пг/мл) и 0 (0-3,15 пг/мл), однако прирост индуцированной продукции был в 3,4 раза больше, чем в группе контроля, свидетельствует о наличии в этой группе детей с риском аллергопатологии.

Таким образом, в результате проведенного исследования был определен базальный и митоген-индуцированный уровень IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-17, IFN- $\gamma$ , IL-4, VEGF, MCP-1 *in vitro* у детей, больных ВП, сопровождающейся БОС. Выявленные изменения свидетельствуют в пользу вирусной этиологии заболевания, которая была подтверждена выделением ДНК вирусов в 43% случаев. Однако у 15% больных выявлялись изменения, больше характерные для аллергического воспаления, что требует целенаправленного проведения специфического аллергологического обследования с целью установления и элиминации причинно-значимых аллергенов для профилактики развития аллергического воспаления.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зайцева О.В. Бронхообструктивный синдром у детей // Педиатрия. – 2005. – № 4. – С. 94-104.
2. Рыжикова С. Л., Дружинина Ю. Г., Рябичева Т. Г. и др. Новый набор реагентов для культивирования и митогенной активации клеток цельной крови // Новости «Вектор-Бест». 2009. № 4 (54). С. 8-12.

3. Сергеева Н. В., Богданович Л. Н., Хотимченко Ю. С. Влияние альгината натрия на спонтанную и индуцированную продукцию цитокинов

моноклеарами периферической крови здоровых доноров *in vitro* // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2012. – № 1. – С. 35-37

## CYTOKINE STATUS IN CHILDREN WITH BRONCHIAL OBSTRUCTION

M. E. Efimenko, G. P. Evseeva, G. N. Cholodok, V. K. Kozlov

*Khabarovsk Facility «Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration» – Scientific research institute of Mother and Child Care, Khabarovsk, Russia*

Studied spontaneous and mitogen-induced production of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , VEGF and MCP-1 whole blood cells *in vitro* in children with BOS syndrome. The revealed changes testify in favor of viral etiology of the disease, which was confirmed by isolation of viruses DNA in 43% of cases. However, 15% of patients to detect changes more typical of allergic inflammation, which requires targeted for specific allergy survey in order to determine and eliminate the cause-significant allergens for the prevention of allergic inflammation.

## АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ СТАФИЛОКОККОВ К СИНТЕТИЧЕСКОМУ ПЕПТИДУ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА (ГМ-КСФ)

Зурочка В. А.<sup>1</sup>, Зурочка А. В.<sup>1</sup>, Добрынина М. А.<sup>1</sup>, Зуева Е. Б.<sup>1</sup>, Гриценко В. А.<sup>2,3</sup>, Тяпаева Я. В.<sup>2,4</sup>, Белозерцева Ю. П.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург;

<sup>2</sup>Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург;

<sup>3</sup>Оренбургский научный центр УрО РАН, Оренбург; <sup>4</sup>Оренбургский

государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

В экспериментах *in vitro* на 36 штаммах *Staphylococcus aureus* (n=24) и *S. epidermidis* (n=12), выделенных из ран у больных с синдромом диабетической стопы и из влагалища у женщин с миомой матки, выявлена меж- и внутривидовая (штаммовая) вариабельность микроорганизмов к антибактериальному действию синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – ZP2. При этом данный пептид ZP2 ингибировал рост большинства (до 91,7%) клинических изолятов бактерий на 4 и 24 часах инкубации, что определяет перспективность его использования при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний стафилококковой этиологии, в том числе эндогенной природы.

**Ключевые слова:** *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, клинические штаммы, чувствительность, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), активный центр, синтетический пептид

**Введение.** В структуре возбудителей многих эндогенных бактериальных инфекций (апостематозный нефрит, послеоперационные инфекционно-воспалительные осложнения,

раневые дефекты при синдроме диабетической стопы и др.) большую долю занимает грампозитивная кокковая флора и, прежде всего, золотистые и коагулазоотрицательные

стафилококки [1]. Данные бактерии при инфицировании внутренних органов на фоне их иммунобиологической компрометированности способны вызывать в макроорганизме инфекционно-воспалительный процесс, проявляющийся соответствующей патологией [2]. В развитие воспалительной реакции неминуемо вовлекаются клетки иммунной системы, синтезирующие различные цитокины, выполняющие регуляторную функцию [3].

Одним из ключевых цитокинов является гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) [4]. В последнее время экспериментально установлено, что синтетические аналоги его активного центра, в частности синтетический пептид ZP2, проявляют плеiotропные эффекты, обладая, помимо функции стимуляции костномозгового кроветворения, иммуномодулирующей, репаративной и антимикробной активностью [5-7]. Вместе с тем антибактериальное действие синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 в отношении клинических изолятов стафилококков пока не охарактеризовано, хотя в опытах *in vitro* на музейных штаммах грамположительных кокков показаны закономерности его дозо-зависимого влияния на рост бактерий в жидкой питательной среде с учетом их видовой принадлежности и фазы развития культур [8, 9].

**Целью** настоящего исследования явилась оценка чувствительности клинических штаммов стафилококков к антибактериальному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2.

**Материалы и методы.** Опыты *in vitro* проведены на 36 клинических штаммах стафилококков из коллекции ИКВС УрО РАН, в том числе на 24 культурах *Staphylococcus aureus* и 12 изолятах *S. epidermidis*, выделенных из ран у больных с синдромом диабетической стопы и отделяемого из влагилица у женщин с миомой матки. В опытах использован синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 (химическая формула – THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO), синтезированный твердофазным способом на синтезаторе «Applied Biosystems 430A» (USA) по методу *in situ*. Изучение влияния ZP2 в концентрации 10 мкг/мл на рост стафилококков в мясопептонном бульоне (МПБ) осуществлялось путем инкубации бактериальных культур в течение 4 и 24 часов в микрочайках стерильной пла-

стиковой планшеты в присутствии ZP2, для чего 25 мкл бактериальной взвеси, приготовленной из суточной агаровой культуры бактерий и содержащей  $5 \times 10^8$  КОЕ/мл, и 25 мкл раствора с определенной концентрацией ZP2 (в контроле использовали 25 мкл изотонического раствора NaCl) вносились в микрочайки, содержащие 200 мкл МПБ, с последующей инкубацией в термостате при 37 °С. Развитие бактериальной популяции оценивалось по динамике оптической плотности культуры (ОД), замеряемой в каждой микрочайке при длине волны ( $\lambda$ ) 492 нм на Multiscan Accent (Thermo Labsystems, Финляндия). Измерение ОД культур проводилось на 0 (исходный уровень), 4 и 24 часах инкубации. Для определения степени влияния ZP2 на рост бактериальных культур рассчитывали Индекс ингибирования (ИИ, %) по формуле [8]:

$$\text{ИИ} = (\text{ОДк} - \text{Одо}) / \text{ОДк} \cdot 100\%,$$

где ИИ – Индекс ингибирования (%); ОДк и Одо – оптическая плотность контрольной и опытной культур соответственно. Индекс ингибирования бактериальных популяций оценивался на 4 и 24 часах. Чувствительными считались штаммы, если ИИ был больше 5%. Полученные данные обработаны методами вариационной статистики с вычислением средней арифметической и ее ошибки ( $M \pm m$ ). О достоверности межвидовых отличий судили по критерию Стьюдента –  $t$  [10].

**Результаты и обсуждение.** Как видно из данных, представленных в таблице, большинство (67,7-91,7%) клинических штаммов стафилококков вне зависимости от их видовой принадлежности (*S. aureus*, *S. epidermidis*) проявляли чувствительность к антибактериальному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2. При этом доля чувствительных к ZP2 клинических изолятов золотистых стафилококков увеличивалась к 24 часам инкубации (относительно 4 часов) до  $91,7 \pm 5,8\%$  (против  $75,0 \pm 9,0\%$ ), тогда как количество культур *S. epidermidis*, чувствительных к данному пептиду, наоборот, снижалось с  $91,7 \pm 8,3\%$  (на 4 часах) до  $67,7 \pm 14,2\%$  (на 24 часах), что подтверждало ранее выявленную зависимость выраженности ингибирующего эффекта ZP2 от фазы развития бактериальных культур музейных штаммов грампозитивных кокков [8]. Следует отметить, что выявленные межвидовые отличия стафилококков по данному параметру их чувствительности к ZP2

**Таблица.** Параметры чувствительности клинических штаммов стафилококков к антибактериальному действию синтетического пептида ZP2

Параметры чувствительности	Значения параметров у разных видов стафилококков	
	S. aureus (n=24)	S. epidermidis (n=12)
Доля чувствительных к ZP2 штаммов, (%):		
- на 4 часах	75,0±9,0	91,7±8,3
- на 24 часах	91,7±5,8	67,7±14,2
Диапазон Индекса ингибирования, (%):		
- на 4 часах	5,2–24,4	5,1–42,7
- на 24 часах	5,1–59,2	5,3–58,4
Средние значения Индекса ингибирования, (%):		
- на 4 часах	15,2±1,7	20,8±3,7
- на 24 часах	30,5±3,8	21,1±6,6

носили характер тенденции и не были достоверными ( $p > 0,05$ ), возможно, из-за ограниченного числа изученных клинических изолятов бактерий.

Клинические штаммы *S. aureus* и *S. epidermidis* характеризовались широкой вариабельностью по уровню своей чувствительности к ингибирующему действию синтетического пептида ZP2. Так, значения Индекса ингибирования (ИИ) роста золотистых стафилококков колебались в диапазоне 5,2–24,4 и 5,1–59,2%, а эпидермальных стафилококков – 5,1–42,7 и 5,3–58,4% (на 4 и 24 часах соответственно), что свидетельствовало о выраженном межштаммовом разнообразии клинических изолятов стафилококков по степени их чувствительности к ZP2.

Необходимо отметить, что средние значения ИИ роста чувствительных к ZP2 клинических штаммов *S. aureus* в процессе инкубации возрастали с 15,2±1,7% (на 4 часах) до 30,5±3,8% (на 24 часах), тогда как у клинических изолятов *S. epidermidis* средние значения ИИ в зависимости от фазы культивирования практически не изменялись и соответственно составили 20,8±3,7 и 21,1±6,6%.

Таким образом, несмотря на выявленную меж- и внутривидовую вариабельность чувствительности стафилококков к антибактериальному действию синтетического пептида ZP2, рост в жидкой питательной среде большинства клинических изолятов данных микроорганизмов существенно ингибировался указанным пептидом, что определяет перспективность его использования при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний

стафилококковой этиологии, в том числе эндогенной природы [2].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гриценко В. А., Иванов Ю. Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2009. 4: 66–71.
2. Гриценко В. А., Аминин Д. Л., Зурочка А. В. и др. Некоторые биологические эффекты иммуномодуляторов естественного и синтетического происхождения *in vitro* как основа создания новых лекарственных средств для борьбы с эндогенными инфекциями. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2012. 3: 1–17 (URL: <http://elmag.uran.ru/magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf>).
3. Иммунология: структура и функции иммунной системы / Под ред. Р. М. Хаитова. М., 2013. 280 с.
4. Murphy J. M., Young I. G. IL-3, IL-5, and GM-CSF signaling: crystal structure of the human beta-common receptor. Vitam. Horm. 2006. 74: 1–30. DOI:10.1016/S0083-6729(06)74001-8.
5. Зурочка А. В., Зурочка В. А., Суховой Ю. Г. и др. Иммуотропные и биологические эффекты синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. Вестник уральской медицинской академической науки. 2011. 2/2 (35): 23–24.
6. Зурочка А. В., Зурочка В. А., Костоломова Е. Г. и др. Сравнительная характеристика антибактериальных свойств синтетических пептидов активного центра GM-CSF и веществ, полученных из супернатантов CD34<sup>+</sup>45<sup>dim</sup> клеток-предшественников гемопоэза. Цитокины и воспаление. 2012. 11 (2): 96–99.
7. Зурочка А. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Гольцова И. А., Гриценко В. А. Новые подходы к изучению спектра биологической активности синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. Российский иммунологический журнал 2014. Т. 8 (17). 3: 690–693.

8. Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зурочка А. В., Гриценко В. А. Особенности влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ на рост грамположительных кокков *in vitro*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2015. 1: 1–10 (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
9. Добрынина М. А., Зурочка В. А., Зурочка А. В., Гриценко В. А. Сравнительный анализ влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора на рост музейных культур бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia* *in vitro*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2015. 2: 1–10 (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/DMV-2015-2.pdf>).
10. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.

## ANALYSIS OF SENSITIVITY TO SYNTHETIC PEPTIDE OF THE ACTIVE CENTER OF GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (GM-CSF) AMONG CLINICAL STAPHYLOCOCCAL ISOLATES

V.A. Zurochka<sup>1</sup>, A.V. Zurochka<sup>1</sup>, M.A. Dobrynina<sup>1</sup>, V.A. Gritsenko<sup>2,3</sup>,  
Y.V. Tyapaeva<sup>2,4</sup>, Yu.P. Belozertseva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg; <sup>2</sup>Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg; <sup>3</sup>Orenburg Scientific Centre UrB RAS, Orenburg; <sup>4</sup>Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

In experiments *in vitro* on 36 strains of *Staphylococcus aureus* (n=24) and *S. epidermidis* (n=12) isolated from wounds of patients with diabetic foot syndrome and from the vagina in women with hysteromyoma detected interspecific and intraspecific variability of microorganisms to the antimicrobial action of the synthetic peptide of the active site of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) – ZP2. This ZP2 peptide inhibited the growth of most (to 91.7%) of clinical isolates of bacteria at 4 and 24 hours incubation that determines the prospects of its use in the treatment of infectious-inflammatory diseases caused by staphylococci, including endogenous nature.

*Key words:* *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, clinical strains, sensitivity, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), active center, synthetic peptide

## ИММУНОЭНДОКРИННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КАК ОСНОВА РАЗВИТИЯ ДЕЗАДАПТАЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ У ВЕТЕРАНОВ БОЕВЫХ ДЕЙСТВИЙ

Зайцева Н. С.

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

Боевой стресс как этиологический фактор развития психосоматической патологии является моделью для изучения отдаленных последствий воздействия экстремальной обстановки на организм человека. В отдаленном периоде наблюдения у военнослужащих – участников боевых действий отмечается преобладание катаболических процессов с формированием устойчивой коморбидной патологии, включающей наличие иммунной дисфункции.

Доказано, что участие в войне сопровождается пролонгированной психотравматизацией с формированием новых устойчивых функциональных системообеспечивающих адаптационных реакций, приобретающих патологическое значение при переходе в обыч-

ные условия существования (мирное время) и способных сохраняться неопределенно долгий срок (Апчел В. Я., Цыган В. Н., 1999; Сизьякина Л. П., Андреева И. И., 2008; Стрельникова Ю. Ю., 2014).

**Цель** – изучить состояние иммунной и эндокринной стресс-лимитирующей системы у комбатантов с коморбидной соматической патологией в отдаленном периоде участия в боевых действиях.

**Материалы и методы.** Проведен анализ медицинской документации 100 военнослужащих, проходивших стационарное обследование в 1602 ВКГ, г. Ростов-на-Дону. По специфике и условиям службы были выделены 2 группы: основная (I группа) – 57 военнослужащих, с впервые возникшей артериальной гипертензией (АГ) во время участия в боевых действиях на территории Чеченской республики (1994-2001 гг) и контрольная – 43 офицера, имеющие артериальную гипертензию в анамнезе, но не принимавшие участия в боевых действиях. Диагнозы учитывались на момент увольнения из рядов вооруженных сил РФ, спустя 5-8 лет от дебюта основного заболевания. Группу контроля составили военнослужащие – офицеры, страдающие артериальной гипертензией, не участвовавшие в вооруженном конфликте. Состояние иммунного статуса оценивали по экспрессии CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, внутриклеточному содержанию Foxp3 в CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. Цитотоксическую активность лимфоцитов исследовали по выработке гранзима В в Т-цитотоксических лимфоцитах и NK клетках. Определение поверхностных маркеров проводили в иммунофлюоресцентном тесте на проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, USA) с применением моноклональных антител. Кислородзависимую метаболическую активность нейтрофилов оценивали в НСТ-тесте. Уровни сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. Концентрацию альдостерона, кортизола и тестостерона в сыворотке крови исследовали с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (наборы реагентов «ИФА-БЕСТ»). Состояние нейрогормональных стресс-лимитирующих систем оценивали по индексу анаболизма (ИА) по формуле:  $ИА = \frac{\text{тестостерон сыворотки}}{\text{кортизол сыворотки}} \times 100 (\%)$ . Статистическую обработку полученных данных

проводили с использованием набора прикладных программ MS Office 2010, Statistica 6,0 for Windows.

Течение АГ гипертензии у ветеранов боевых действий чаще соответствовало второй стадии заболевания и сопровождалось развитием хронической коронарной недостаточности (доказанной коронарографически) (46%), различными нарушениями ритма (23%), хронической сердечной недостаточности (54%), энцефалопатии сосудистого генеза (76,9%). В 17% случаях АГ приобрела осложненное течение за счет развития острых нарушений мозгового кровообращения различной степени выраженности (4%), инфаркта миокарда (12%), транзиторных ишемических атак (22%). Из сопутствующей патологии чаще всего регистрировалось ожирение (46%), доброкачественная гиперплазия простаты (30,7%), язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки (23%), диффузные и узловые изменения щитовидной железы без нарушения ее функции (15,4%), инсулиннезависимый сахарный диабет (7,7%). За время наблюдения зарегистрированы 8 случаев (14%) развития онкопатологии и 2 летальных исхода (3,5%).

Анализ показателей иммунного статуса у ветеранов боевых действий выявил сохранность процессов дифференцировки Т-клеточного звена (CD3<sup>+</sup> – 76,2±1,98%), увеличение количества клеток, находящихся на поздней стадии активации (CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> – 3,67±0,45%), и усиление готовности к апоптозу (CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup> – 3±0,36%). Активационный потенциал Т-хелперов преобладал за счет процессов ранней активации (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> – 3,37±0,31%). Повышение содержания цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8<sup>+</sup> – 32,6±1,87%) привело к инверсии иммунорегуляторного индекса до 1,35. Активационные потенциалы лимфоцитов, обладающих цитотоксическим эффектом, были усилены за счет процессов поздней активации (CD8<sup>+</sup>HLA-DR – 1,96±0,28%). Регистрировалась возросшая цитотоксическая активность CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, что подтверждалось нарастанием числа клеток, секретирующих гранзим В (CD8<sup>+</sup>Gr<sup>+</sup> – 28,87±2,17%). Активность гуморального звена иммунитета (содержание В-лимфоцитов и основных классов иммуноглобулинов) находилось в пределах физиологической нормы. Оценка фагоцитарного звена выявила сохранность микробицидной активности фагоцитов при существенном сниже-

нии их адаптационных резервов (НСТ стим.  $157,52 \pm 10,28$  у.е.).

При этом детальный анализ соотношения тестостерон сыворотки/кортизол сыворотки выявил лабораторные признаки перенапряжения эндокринной стресс-лимитирующей системы у 59% ветеранов боевых действий, пограничное состояние у 26% и сохранность анаболических процессов в 15% случаев.

В группе военнослужащих запаса с артериальной гипертензией, не принимавших участие в боевых действиях, осложненное течение АГ диагностировано в 10% случаях. Среди сопутствующей патологии преобладали сахарный диабет (12%) и язвенное поражение желудка и двенадцатиперстной кишки (7%). За время наблюдения зарегистрирован 1 случай онкопатологии и 2 летальных исхода.

Изучение состояния иммунного статуса у пациентов контрольной группы выявило сохранность процессов созревания и дифференцировки Т-клеточного звена. Отмечено нарастание содержания В-лимфоцитов ( $CD19^+$  –  $12,5 \pm 0,5\%$ ) при сохранности показателей уровня основных трех классов иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в пределах репрезентативных значений ( $2,28 \pm 0,18$  г/л,  $1,1 \pm 0,9$  г/л,  $11,3 \pm 0,22$  г/л). Изучение фагоцитарной активности нейтрофилов в НСТ-тесте выявило снижение коэффициента стимуляции ( $1,6 \pm 0,05$  у.е.), свидетельствующее об уменьшении их адаптационных резервов. Анализ катаболической активности регуляторных про-

цессов (ИА) показал наличие перенапряжения стресс-лимитирующих систем 34% пациентов контрольной группы, пограничное состояние у 23% и сохранность активации стресс-лимитирующих систем у 43% пациентов, соответственно.

Таким образом, у военнослужащих – участников боевых действий в отдаленном периоде наблюдения отмечается преобладание катаболических процессов с формированием устойчивой коморбидной патологии, включающей наличие иммунной дисфункции в виде нарушения координации иммунных процессов, повышения процессов поздней активации Т-лимфоцитов и нарастания их готовности к апоптозу при сохранности процессов созревания и функциональной активности В лимфоцитов, а так же редукции микробицидной активности и адаптационных резервов фагоцитарного звена.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апчел В.Я., Цыган В.Н. Стресс и стрессустойчивость человека. СПб.: 1999. – 86 с.
2. Сизякина Л.П., Андреева И.И. Возможности и перспективы клинической иммунологии как междисциплинарной науки // Рос. аллерг. ж. – 2008. – № 1. – С. 268-270.
3. Стрельникова Ю.Ю. Типы адаптационного стрессового реагирования и изменений личности комбатантов в отдаленном периоде возвращения к мирной жизни // Вестник Российской ВМА. – 2014. – № 2. – С. 145-153.

### IMMUNOENDOCRINE INTERACTION AS A BASIS FOR DEVELOPMENT OF MALADAPTIVE PATHOLOGY IN COMBATANTS

Zaitseva N. S.

*The Rostov State Medical University, Rostov-onDon, Russia*

Combat stress as an etiological factor in the development of psychosomatic pathology is a model for studying long-term effects of exposure to extreme conditions. In the remote period of observation was noted the predominance of catabolic processes with the formation of a stable comorbid pathology, including the presence of immune dysfunction in combatants.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАЗИСНОЙ ТЕРАПИИ У МОЛОДЫХ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ В РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Иванов А. Ф., Черняк Б. А.

*ГБОУ ДПО Иркутская государственная академия последипломного образования, Иркутск, Россия*

Целью исследования являлось изучение возможности достижения полного контроля бронхиальной астмы у молодых пациентов в реальной клинической практике. В исследуемую группу были включены 23 амбулаторных пациента в возрасте 16-27 лет. Оценка уровня контроля осуществлялась при помощи вопросника "Asthma Control Test". Также проводилась оценка уровня гиперреактивности бронхов в тесте с метахолином. В ходе 12-месячного наблюдения полный контроль заболевания достигнут у 30,4% больных, что подтверждает высокую эффективность регулярной базисной терапии.

**Цель исследования:** проанализировать возможность достижения контролируемого течения бронхиальной астмы (БА) у молодых больных в условиях реальной клинической практики.

**Материалы и методы.** Группа наблюдения составила 23 амбулаторных пациента, (10 мужчин и 13 женщин) в возрасте от 16 до 27 лет (средний возраст составил  $19,1 \pm 2,85$  лет). Легкая БА отмечалась у 7 человек (30,4%), среднетяжелая БА – у 11 человек (47,8%), тяжелая БА – у 5 человек (21,8%). Все пациенты исходно оценивали свое состояние как удовлетворительное, сохраняли трудоспособность. В течение 6 месяцев, предшествующих моменту исследования, ни один из больных не обращался за медицинской помощью по поводу БА. При этом у всех обследованных отмечались регулярные клинические проявления заболевания. До момента обследования 58% больных не получали базисной терапии, 42% получали лечение в недостаточном объеме, нерегулярно принимая низкие дозы ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС). Наблюдение проводилось в амбулаторных условиях и включало пять визитов в клинику. Временные интервалы от исходного визита составили 1, 3, 6 и 12 месяцев. На каждом визите проводилось обследование, включавшее в себя определение уровня бронхиальной гиперреактивности (БГР) в тесте с метахолином и оценку степени контроля БА с использованием вопросника "Asthma Control Test" (ACT) на русском языке.

Уровень БГР определялся на основании провокационной дозы (ПД<sub>20</sub>) – кумулятивной дозы метахолина, вызывающей снижение объема форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ<sub>1</sub>) на 20% от исходного значения. Результаты теста в соответствии с международными рекомендациями [2] интерпретировались следующим образом: критерием высокой БГР являлась  $ПД_{20} \leq 0,046$  мг, средней БГР –  $ПД_{20} = 0,047-0,228$  мг, низкой БГР –  $ПД_{20} = 0,229-0,4706$  мг.

Вопросник АСТ заполнялся пациентом самостоятельно в присутствии исследователя, пациент имел возможность получить все необходимые разъяснения по характеру задаваемых вопросов и предложенных вариантов ответа. Полученные результаты интерпретировались следующим образом: критерию полного контроля БА соответствовал результат 25 баллов, хорошего контроля – от 20 до 24 баллов и недостаточного контроля – менее 20 баллов [3].

Базисная терапия назначалась на визите 1 исходя из степени тяжести БА согласно рекомендациям программы GINA [1]. В соответствии с установленной степенью тяжести заболевания 17 пациентам (73,9%) назначена монотерапия ИГКС и 6 пациентам (26,1%) – комбинированная терапия (ИГКС в сочетании с В<sub>2</sub>-агонистом пролонгированного действия).

**Результаты.** После 1 месяца регулярной базисной терапии достоверных изменений в результатах АСТ выявлено не было. Полного контроля БА удалось достичь только у одного пациента, исходно отмечавшего хорошо кон-

тролируемое течение заболевания, хороший контроль отмечался в 34,7% случаев (8 больных) и недостаточный – в 60,8% (14 больных). При этом ни у кого из пациентов с исходно хорошим контролем БА не выявлено перехода в неконтролируемое течение заболевания. Через 3 месяца лечения полного контроля БА удалось достичь у 17,3% пациентов (4 человека), количество пациентов с хорошим контролем возросло до 52,1% (12 человек). Количество пациентов с недостаточным контролем снизилось вдвое – с 15 до 7 человек. На визите 4 значимых изменений в уровне контроля БА отмечено не было. Наблюдение в срок 12 месяцев от начала терапии выявило полностью контролируемое течение БА в 30,4% случаев (7 пациентов), хороший контроль отмечен у 43,4% больных (10 человек) и недостаточный контроль сохранялся в 26,2% случаев (6 человек). Таким образом, в результате проведенной базисной терапии более чем у четверти пациентов удалось достичь полностью контролируемого течения БА. Общее количество пациентов с полным и хорошим контролем заболевания составило более 70%. Эти данные подтверждают возможность достижения контролируемого течения БА у молодых пациентов на фоне регулярной базисной терапии в условиях амбулаторной практики.

При изучении уровня БГР установлено, что на исходном визите у пациентов преобладала средняя БГР (52,1%), распространенность высокой и низкой БГР была примерно одинаковой. На фоне базисной терапии в течение одного месяца значимых изменений в уровне БГР среди пациентов отмечено не было. При обследовании на визите 3 выявлена тенденция к увеличению распространенности низкой БГР (45,8%), преимущественно за счет снижения числа пациентов со средним уровнем БГР (28,7%), что соответствует продемонстрированному выше нарастанию уровня контроля БА в этот период. Однако обращает на себя внимание сохранение

значимого количества пациентов с высокой БГР (25,5%), что позволяет сделать заключение о некотором отставании динамики функциональных показателей от клинических. В ходе последующих визитов отмечена тенденция к неуклонному снижению числа больных с высокой БГР, составившего к моменту окончания периода исследования 15,8%.

**Заключение.** На основании полученных нами результатов можно сделать вывод о возможности достижения полного контроля БА в реальной клинической практике на фоне постоянной базисной терапии. В обследованной группе полностью контролируемое течение достигнуто у каждого третьего пациента, при этом количество больных с недостаточным контролем уменьшилось более чем в два раза. При этом обращает на себя внимание, что на фоне терапии в течение одного месяца достоверных улучшений в уровне контроля БА и степени выраженности БГР не получено, что подтверждает необходимость длительного лечения ИГКС и комбинированными препаратами и невысокую эффективность коротких курсов терапии, в первую очередь ввиду недостаточного противовоспалительного эффекта, что подтверждается отсутствием достоверных изменений в уровне БГР.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2011 года). – М.: Российское респираторное общество, 2012. – 108 с.
2. Klein G., Koehler D., Bauer C. P. et al. Standardization of inhalation challenges for measuring the unspecific bronchial inhalation challenges by a reservoir method. Practical guidelines-result of a working session on "Unspecific inhalation challenges" // *Pneumologie*. – 1991. – № 45. – P. 647-653.
3. Nathan R. A., Sorkness C. A., Kosinski M. et al. Development of the Asthma Control Test: A survey for assessing asthma control // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2004. – № 113. – P. 59-65.

#### EFFICIENCY OF CONTROLLER MEDICATIONS IN YOUNG PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA IN CLINICAL PRACTICE

Ivanov A. F., Chernyak B. A.

*Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk, Russia*

The aim of the study was to investigate the possibility of achieving full control of asthma in young patients in clinical practice. The study group included 23 outpatients persons aged 16-27 years. Assessing the level of asthma control is carried out using a questionnaire "Asthma Control Test". Also, the level of bronchial hyperresponsiveness was evaluated in methacholine challenge test. During the 12-month follow-up full control of the disease was achieved in 30.4% of patients, which confirms the high efficiency of the regular treatment.

## РЕСПИРАТОРНЫЕ ВИРУСЫ И ЦИТОКИНЫ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Исаева Е. И., Морозова О. В., Ветрова Е. Н.,  
Вартанян Р. В.

ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского Федерального  
Научно-Исследовательского Центра им. почётного академика Н. Ф. Гамалеи  
Минздрава РФ, Москва, Россия

В лимфоцитах крови детей, больных бронхиальной астмой, выявлены риновирусы ( $36,4 \pm 10,5\%$ ), респираторно-синцитиальный вирус ( $18,2 \pm 8,4\%$ ) и смешанные респираторные вирусные инфекции. Концентрации интерферонов  $\alpha$  и  $\gamma$ , интерлейкина 4 в  $81,8 \pm 8,4\%$  образцов достоверно превышали показатели для здоровых людей. При этом при вирусных инфекциях вне зависимости от вида возбудителя содержание цитокинов было в несколько раз больше, чем у неинфицированных детей с бронхиальной астмой. Таким образом, вирусные инфекции риновирусами и респираторно-синцитиальным вирусом индуцируют синтез интерферонов I и II типов, интерлейкина 4, что вызывает опосредованные IgE аллергические обострения бронхиальной астмы.

*Ключевые слова:* бронхиальная астма, риновирусы, респираторно-синцитиальный вирус, интерфероны, обратная транскрипция с ПЦР в реальном времени, иммуноферментный анализ

Респираторные вирусные инфекции вызывают воспаление и дисбаланс цитокинов, что может приводить к аллергии и бронхиальной астме (БА) [1]. У 70-85% детей осложнения БА связаны с острыми респираторными вирусными инфекциями, чаще с риновирусами и респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ) человека [2].

**Цель:** анализ респираторных вирусов и цитокинов в мононуклеарных клетках крови детей с обострениями БА.

Проведено обследование 22 образцов крови детей 4-6 лет с обострениями БА. Из мононуклеарных клеток крови выделяли РНК. После обратной транскрипции проводили ПЦР в реальном времени с использованием набора «ОРВИ-АмплиСенс» («АмплиСенс», Москва) для определения РНК риновирусов, РСВ, метапневмовируса, вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, коронавирусов видов OC43, E229, NL63, HKU1, ДНК аденовирусов групп В, С и Е и бокавируса. Количественное определение цитокинов проводили методом ИФА с использованием наборов «Альфа-интерферон-ИФА-Бест» и «Интерлейкин-4-ИФА-Бест» производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск)

и «Human Interferon gamma» производства DuoSet ELISA Development System. Статистический анализ проводили с использованием критерия Стьюдента.

В лимфоцитах крови детей с БА наиболее часто детектировали риновирусы (8 больных,  $36,4 \pm 10,5\%$ ), которые могут приводить к осложнениям БА [1-3]. РСВ выявлен у 4 детей ( $18,2 \pm 8,4\%$ ). В 2 образцах обнаружены смешанные инфекции, включающие метапневмовирус, РСВ и вирус парагриппа. Полученные данные о частотах распределения респираторных вирусов у детей с БА соответствуют нашим ранее опубликованным результатам о наиболее высокой встречаемости риновирусов у взрослых больных БА ( $28,6 \pm 8,7\%$  образцов мокрот) и единичных случаях инфекции РСВ ( $3,6 \pm 3,6\%$ ) при отсутствии других респираторных вирусов [3]. У больных БА выявлена повышенная экспрессия генов, кодирующих рецепторы для риновирусов ICAM-1 (intercellular adhesion molecule), что может обуславливать ассоциацию риновирусной инфекции с БА [4]. Помимо этого, респираторные инфекции могут быть вызваны дисбалансом врождённой резистентности.

Интерфероны (IFN)  $\alpha$  и  $\gamma$ , а также интерлейкин (IL) 4 выявлены в крови 18 детей (81,8±8,4%). Высокие частоты детекции цитокинов Th1 и Th2 типа могут свидетельствовать о сенсibilизации [5]. Среднее количество IL-4 у детей с БА составляло 20,4±8,5 пг/мл (для сравнения у взрослых больных БА 64,8±11,4 пг/мл [3], в норме у взрослых от 0 до 4 пг/мл). Повышенные уровни IL-4, который усиливает эозинофилию, накопление тучных клеток, индуцирует переключение синтеза с IgG1 на IgG4 и IgE, способствует выбросу гистамина и подавляет Th1 иммунный ответ, могут свидетельствовать об аллергических реакциях у больных БА.

Среднее количество IFN- $\alpha$  в крови детей с БА было 15,5±4,3 пг/мл (для сравнения у взрослых больных БА 77,7±15,3 пг/мл [3], в норме у взрослых диапазон от 0 до 5 пг/мл). Среднее количество IFN- $\gamma$  в крови детей с БА было 27,4±12,3 пг/мл (для сравнения у взрослых больных БА 125±63,3 пг/мл [3], в норме у взрослых средняя концентрация 2 пг/мл). Наряду с противовирусными свойствами IFN- $\gamma$  индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов и синтез IgE, поэтому его повышенная продукция также обеспечивает как элиминацию вирусов, так и алергизацию с обострениями БА.

Необходимо отметить, что уровни продукции IL4, IFN  $\alpha$  и  $\gamma$  у детей с БА, инфицированных как риновирусами (27,13±4,36 пг/мл), так и респираторно-синцитиальным виру-

сом (23,25±4,99) почти вдвое превышали содержание в крови пациентов без респираторных вирусных инфекций (10,83±2,48). Отличия для IFN- $\alpha$  были приблизительно в 1,5 раза (16,00±2,45; 19,50±1,29 и 11,00±3,03, соответственно), а для IFN- $\gamma$  – почти в 3 раза (32,75±6,63; 36,00±7,79; и 13,33±3,56, соответственно). При этом концентрации IFN и IL-4 в крови детей при разных респираторных вирусных инфекциях достоверно не отличались.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mallia P., Footitt J., Sotero R. et al. Rhinovirus infection induces degradation of antimicrobial peptides and secondary bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 186 (11): 1117-24.
2. Jackson D.J., Gangnon R.E., Evans M.D. et al. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Oct 1;178 (7):667-72.
3. Оспельникова Т. П., Морозова О. В., Исаева Е. И. и др. Респираторные вирусы и бактерии, антитела и цитокины у больных с фенотипом «бронхиальная астма и хроническая обструктивная болезнь легких». *Пульмонология*. 2014; 5, стр. 46-51.
4. Iikura K., Katsunuma T., Saika S. et al. Peripheral blood mononuclear cells from patients with bronchial asthma show impaired innate immune responses to rhinovirus in vitro. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155 Suppl 1: 27-33.
5. Message S.D. and Johnston S.L. Viruses in asthma. *Br Medical Bulletin* 2002; 61: 29-43.

### RESPIRATORY VIRUSES AND CYTOKINES AMONG CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

Isaeva E. I., Morozova O. V., Vetrova E. N., Vartanyan R. V.

*D. I. Ivanovsky Institute of Virology of Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology of the Russian Ministry of Health, Moscow*

In lymphocytes of children with bronchial asthma the human rhinovirus was revealed in 36.4±10.5% samples, respiratory syncytial virus – in 18.2±8.4% and mixed respiratory viral infections. Concentrations of interferons  $\alpha$  и  $\gamma$ , interleukin 4 in 81.8±8.4% samples from patients with bronchial asthma significantly exceeded those of healthy donors. Quantities of cytokines in blood of children with viral infections were higher in several times compared to uninfected children with bronchial asthma. Their amounts did not depend on the virus species. Thus, the viral infections with rhinoviruses and respiratory syncytial virus induce synthesis of the interferons I and II types, interleukin 4 and cause IgE-mediated allergic exacerbations of the bronchial asthma.

*Key words:* bronchial asthma, rhinoviruses, respiratory syncytial virus, interferons, reverse transcription with real-time PCR, ELISA

## ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ БОЛЬНЫХ ЮВЕНИЛЬНЫМ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ НА САНАТОРНО-КУРОРТНОМ ЭТАПЕ РЕАБИЛИТАЦИИ

Каладзе Н. Н., Соболева Е. М., Кабатова И. Н.

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Медицинская академия имени С. И. Георгиевского, Симферополь, Россия

На санаторно-курортном этапе реабилитации обследовано 30 детей с ЮРА в возрасте от 7 до 16 лет. Установлено достоверное увеличение содержания в сыворотке крови как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов. Выявлена зависимость между состоянием противовоспалительного потенциала, с одной стороны, и активностью и степенью функциональной недостаточности, с другой. Подтвержден факт последовательной активации и взаимосвязи в системе провоспалительных цитокинов.

Проблема ювенильного ревматоидного артрита (ЮРА) остается одной из наиболее актуальных в детской ревматологии. Это обусловлено тем, что до настоящего времени не до конца расшифрованы этиологические механизмы формирования данной патологии, что делает невозможным проведение этиотропной терапии. Учитывая хронический характер заболевания и высокий процент инвалидизации, снижающих качество жизни пациентов данной группы, дальнейшее изучение механизмов формирования и прогрессирования ЮРА является актуальным и перспективным.

Опередленные успехи достигнуты в расшифровке иммунологических механизмов патогенеза заболевания [1]. Согласно современным представлениям ведущая роль отводится дисбалансу содержания провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Существует несколько основных цитокинов, вовлеченных в воспалительный процесс, среди них фактор некроза опухоли (ФНО) альфа, интерлейкин-1 (ИЛ-1) и интерлейкин-6 (ИЛ-6). Ключевым провоспалительным цитокином является ФНО- $\alpha$ , вызывающий как развитие хронического воспаления, так и индукцию экспрессии других провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 и ИЛ-6. Этот факт подтверждается высокой эффективностью применяемых для терапии данного заболевания генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), направленных на нейтрализацию основных эффектов провоспалительных цитокинов [2, 4, 5].

**Цель исследования** – изучить состояние цитокинового статуса больных ювенильным ревматоидным артритом на санаторно-курортном этапе реабилитации.

**Материалы и методы.** Исследования проводились на базе ГУДССКС «Здравница» (г. Евпатория). Было обследовано 30 больных ЮРА, в возрасте от 7 до 16 лет (средний возраст  $12,30 \pm 0,22$ ). Суставно-висцеральную форму заболевания диагностировали у 6 детей, преимущественно суставную – у 24 больных. На период обследования у 6 пациентов преобладала умеренная степень активности процесса, у 16 – минимальная и 8 детей находились в стадии ремиссии. По длительности заболевания больные распределились следующим образом: у 12 детей стаж болезни составил от 1 до 3 лет, у 8 – от 3 до 6 лет и у 10 – более 6 лет. Контрольную группу (КГ) составили 10 практически здоровых сверстников.

Определение количественной концентрации показателей цитокинового статуса (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10) в сыворотке крови проводили методом «двухступенчатого» иммуноферментного анализа (ELISA) (производитель «Вектор-Бест», Россия).

Полученные данные обрабатывались методом математической статистики с использованием сертифицированного компьютерного пакета обработки данных «STATISTICA-6». Проверка гипотез о равенстве двух средних производилась с использованием непараметрических методов статистики. Для оценки степени взаимосвязей проводился корреляци-

онный анализ с вычислением парных коэффициентов корреляции ( $r$ ) Спирмена.

**Полученные результаты.** Проведенное нами исследование показало, что у пациентов с ЮРА значения как провоспалительных (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6), так и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов достоверно ( $p < 0,01$ ) превышают показатели группы контроля. Так уровень основного провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  составил  $74,73 \pm 3,7$  пг/мл (в группе контроля  $2,28 \pm 0,72$  пг/мл), уровень ИЛ-1 составил  $12,43 \pm 1,81$  пг/мл (в группе контроля  $4,26 \pm 1,02$  пг/мл), а уровень ИЛ-6 –  $16,76 \pm 2,39$  пг/мл (в группе контроля  $5,45 \pm 1,36$  пг/мл). Содержание противовоспалительных цитокинов также было достоверно выше чем у здоровых сверстников. Так уровень ИЛ-10 составил  $20,87 \pm 6,71$  пг/мл (в группе контроля  $9,12 \pm 2,58$  пг/мл), а содержание ИЛ-4 составило  $50,1 \pm 4,8$  пг/мл (в группе контроля  $6,66 \pm 2,16$  пг/мл).

Внутрисистемный корреляционный анализ, выявил следующие корреляционные пары: ФНО- $\alpha$ -ИЛ-1 ( $r=0,43$ ;  $p < 0,05$ ); ИЛ-1-ИЛ-6 ( $r=0,61$ ;  $p < 0,05$ ). Согласно литературным данным [3], провоспалительные цитокины ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  тесно взаимосвязаны по своим функциям и эффектам. Известно, что ИЛ-1 активирует воспалительный процесс посредством различных механизмов, в том числе за счет повышения синтеза ИЛ-6. Интерлейкин-6 оказывает плейотропное действие и запускает системное воспаление (стимулирует в печени синтез белков острой фазы воспаления), влияя на гемопоэз (приводит к развитию тромбоцитоза и анемии) и многие типы клеток иммунной системы.

В отношении противовоспалительного потенциала была выявлена достоверная прямая корреляционная связь средней силы ( $r=0,59$ ;  $p < 0,05$ ) между уровнями ИЛ-4 и ИЛ-10. Так же были выявлены корреляции между степенью активности заболевания и содержанием ИЛ-4

( $r = -0,46$ ;  $p < 0,05$ ), уровнем ИЛ-10 и проявлениями функциональной недостаточности ( $r = -0,43$ ;  $p < 0,05$ ), что подтверждает факт снижения противовоспалительного потенциала, ассоциированного с увеличением степени активности заболевания и, как следствие, прогрессированием функциональной недостаточности у пациентов данной группы.

#### **Выводы.**

1. При ювенильном ревматоидном артрите имеет место повышение концентрации как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов.

2. Выявлена зависимость между состоянием противовоспалительного потенциала, с одной стороны, и активностью и степенью функциональной недостаточности, с другой.

3. Подтвержден факт последовательной активации и взаимосвязи в системе провоспалительных цитокинов.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Алексеева Е.И. Ювенильный ревматоидный артрит: этиология, патогенез, клиника, алгоритмы диагностики и лечения / Е.И. Алексеева, П.Ф. Литвицкий. – М.: ВЕДИ, 2007. – 368с.
2. Влияние терапии генно-инженерными биологическими препаратами на субпопуляции в-лимфоцитов при ревматических заболеваниях: новые данные / Е.В. Супоницкая [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2015. – № 1 (53). – С.78-83.
3. Макарова Т.П. Ювенильный ревматоидный артрит: современные аспекты: Обзор/ Т.П. Макарова, С.А. Сенек// Казанский медицинский журнал. – 2004. – № 4. – С.291-297
4. Перспективы анти-ФНО-терапии в ревматологической практике / Е.И. Алексеева [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2008. – Т. 7, № 1. – С. 56-67.
5. Применение химерных антител к CD20 на в лимфоцитах у больного тяжелым системным вариантом ювенильного ревматоидного артрита/ Е.И. Алексеева [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2008. – № 4. – С.136-142.

### **CYTOKINE PROFILE OF PATIENTS WITH JUVENILE RHEUMATOID ARTHRITIS ON SANATORIUM STAGE OF REHABILITATION**

**N. N. Kaladze, E. M. Soboleva, I. N. Kabatova**

At the sanatorium stage of rehabilitation examined 30 children with JRA aged 7 to 16 years. A significant increase in serum levels of both proinflammatory and anti-inflammatory cytokines. A relationship between the state of the anti-inflammatory potential, on the one hand, and the degree of activity and functional impairment, on the other. It confirmed the fact of sequential activation of the system and the relationship of proinflammatory cytokines.

## ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА СЛИЗИСТЫХ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ НА ПЕРВОМ ГОДУ ЖИЗНИ

Калимуллина А. Р., Амирова В. Р., Азнабаева Л. Ф.

*Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия*

Изучены показатели местного иммунитета слизистых носа и полости рта у 31 недоношенных и 30 доношенных детей первого года жизни. Показано, что становление механизмов местной защиты слизистых у недоношенных детей характеризуется активацией как гуморального, так и клеточного звена иммунитета. Рекомендуется использовать показатели местного иммунитета слизистых у доношенных детей в качестве нормативных.

Несмотря на все усилия ученых и практических врачей, инфекционно-воспалительные заболевания дыхательных путей продолжают занимать лидирующее место в структуре постнатальной патологии недоношенных детей. Незрелость иммунной системы недоношенного ребенка, своеобразие ее реагирования на антигенную стимуляцию обуславливают нарушение процессов физиологической адаптации и формирование стойких отклонений в состоянии здоровья [1, 2]. Показатели большинства факторов иммунологической защиты у недоношенных детей ниже, чем у доношенных сверстников, и находятся в обратной зависимости от гестационного возраста [3]. Повышенная восприимчивость преждевременно родившихся детей к инфекционным агентам во многом определяется недостаточностью местных иммунорегуляторных механизмов и защитных реакций, обеспечивающих формирование барьерной функции слизистых оболочек дыхательных путей [4]. Вместе с тем имеющиеся в литературе исследования, посвященные изучению процессов становления местного иммунитета слизистых оболочек дыхательных путей у недоношенных детей, единичны.

Целью настоящего исследования явилась оценка возрастной динамики показателей местного иммунитета слизистых оболочек верхних дыхательных путей у детей первого года жизни, родившихся недоношенными.

Иммунологическое исследование в динамике первого года жизни проводили у 31 недоношенного ребенка (основная группа) и 30

доношенных детей (контрольная группа) в возрасте 1, 6 и 12 месяцев жизни. Биологическим материалом для исследований являлись смывы со слизистой оболочки носа и смывы с лакун и небных миндалин. Проводилось количественное определение sIgA, IgG, IgE, ФНО $\alpha$ , ИФН $\gamma$  и ИЛ1 $\beta$  методом иммуноферментного анализа.

Статистический анализ полученных данных проводили на персональном компьютере в операционной среде Windows XP с использованием статистической программы «STATISTICA 6.0». Вычисляли медиану (Me) и интерквартильный размах (Q25-Q75). Для оценки значимости различий показателей использовали критерий Манна-Уитни (U).

Как показало проведенное исследование, на первом году жизни на слизистой носа у недоношенных новорожденных, также как и у доношенных детей, преобладающими антителами являлись IgG, на слизистой ротоглотки – sIgA и IgE.

При оценке возрастной динамики показателей антительного звена местного иммунитета у недоношенных детей в назальных смывах было выявлено достоверное нарастание к 6 месяцам жизни уровня IgE с 0,54 до 0,89 мкг/мл ( $p=0,029$ ). В смывах с ротоглотки отмечалось достоверное снижение уровня sIgA к 6 месяцам жизни с 0,90 до 0,29 мкг/мл ( $p=0,008$ ) и к 12 месяцам жизни – с 0,90 до 0,34 мкг/мл ( $p=0,044$ ).

Сопоставление данных антительной защиты на различных участках верхних дыхательных путей показало, что как у недоношенных,

так и у доношенных детей, показатели sIgA и IgG на слизистой носа были достоверно более высокими, чем на слизистой ротоглотки.

Сравнительный анализ параметров антигенового звена местного иммунитета не выявил достоверных различий между недоношенными и доношенными новорожденными первого года жизни по уровням sIgA и IgG в назальных смывах. В то же время в возрасте 12 месяцев жизни IgE на слизистой носа у недоношенных детей присутствовал в достоверно более низких концентрациях, чем у доношенных детей. Наиболее низкие показатели IgE в этом возрасте отмечались у глубоко недоношенных детей, родившихся на сроке гестации 28-32 недели, – 0,66 мкг/мл против 1,91 мкг/мл у доношенных детей ( $p=0,002$ ).

На слизистой ротоглотки в возрасте 1 месяца жизни у недоношенных детей регистрировались достоверно более высокие значения sIgA и IgE, чем у доношенных детей, – соответственно 0,90 мкг/мл против 0,28 мкг/мл ( $p=0,033$ ) и 0,88 мкг/мл против 0,40 мкг/мл ( $p=0,017$ ). В возрасте 6 месяцев жизни уровень IgE у недоношенных детей оставался достоверно более высоким, чем у доношенных сверстников, – 0,64 мкг/мл против 0,38 мкг/мл ( $p=0,013$ ). К 12-месячному возрасту показатели содержания антител в ротоглотке у недоношенных детей практически не отличались от таковых у доношенных детей.

При оценке показателей клеточного звена иммунитета было выявлено, что на протяжении первого года жизни на слизистой носа у недоношенных детей, так же, как и у доношенных младенцев, преобладали цитокины ИЛ1 $\beta$  и ИФН $\gamma$ , а на слизистой ротоглотки – только ИФН $\gamma$ .

Оценка возрастной динамики показателей цитокиновой регуляции показало, что содержание изучаемых цитокинов в назальных смывах и смывах с ротоглотки как у недоношенных, так и у доношенных детей, достоверно не изменялось.

Сопоставление уровня цитокинов на различных участках верхних дыхательных путей показало, что на первом году жизни у недоношенных детей показатели ФНО $\alpha$  и ИФН $\gamma$  на слизистой ротоглотки были достоверно более высокими, чем на слизистой носа. В то же время у доношенных детей показатели ФНО $\alpha$  на слизистой ротоглотки были достоверно более высокими, чем на слизистой

носа, а показатели ИЛ1 $\beta$  – достоверно более высокими на слизистой носа, чем на слизистой ротоглотки.

Сравнительный анализ параметров клеточного звена местного иммунитета выявил наличие достоверно более низких показателей ФНО $\alpha$  и ИФН $\gamma$  в назальных смывах у недоношенных детей в сравнении с доношенными сверстниками в возрасте 6 месяцев жизни – соответственно 1,86 пг/мл против 3,99 пг/мл ( $p<0,001$ ) и 7,51 пг/мл против 17,45 пг/мл ( $p<0,001$ ). Наиболее низкое содержание ФНО $\alpha$  в этом возрасте отмечалось у детей, родившихся на сроке гестации 28-32 недели – 1,86 пг/мл. В возрасте 12 месяцев жизни достоверно более низкими в назальных смывах недоношенных детей были только показатели ИФН $\gamma$  – 8,28 пг/мл против 14,49 пг/мл ( $p=0,012$ ). При этом содержание ИФН $\gamma$  у глубоко недоношенных детей было наиболее низким и составило 6,32 пг/мл.

На слизистой ротоглотки в возрасте 1 месяца жизни у недоношенных детей показатели ИЛ1 $\beta$  и ИФН $\gamma$  были достоверно более высокими, чем у доношенных детей, – соответственно 7,58 пг/мл против 3,32 пг/мл ( $p=0,007$ ) и 18,51 пг/мл против 11,9 пг/мл ( $p=0,017$ ). В возрасте 6 и 12 месяцев жизни содержание ИЛ1 $\beta$  в ротоглотке у недоношенных детей оставался достоверно более высоким, чем у доношенных сверстников, – соответственно 8,08 пг/мл против 3,76 пг/мл ( $p=0,039$ ) и 5,52 пг/мл против 3,36 пг/мл ( $p=0,015$ ).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McGreal EP, Hearne K, Spiller OB. Off to a slow start: under-development of the complement system in term newborns is more substantial following premature birth. *Immunobiology*. 2012; 217, 176-186.
2. Currie AJ, Curtis S, Strunk T, et al. Preterm infants have deficient monocyte and lymphocyte cytokine responses to group B streptococcus. *Infect. Immun*. 2011; 79, 1588-1596.
3. Tissieres P, Ochoda A, Dunn-Siegrist I, et al. Innate immune deficiency of extremely premature neonates can be reversed by interferon- $\gamma$ . *Plos One*. 2012; 73, 68-72.
4. Ветрова Е. В., Кушнарева М. В., Дементьева Г. М., и др. Местный иммунитет дыхательных путей и коррекция его нарушений иммуноглобулинами для внутривенного введения у недоношенных новорожденных детей с ИВЛ-ассоциированной пневмонией. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2007. – № 6. – с.13-20.

## PECULIARITIES OF LOCAL IMMUNITY IN CHILDREN IN THE FIRST YEAR OF LIFE WAS BORN PREMATURELY

A. R. Kalimullina, V. R. Amirova, L. F. Aznabayeva

The state of local immunity of the nasal and oral mucosa from 31 premature infants and 30 full-term infants in the first year of life was study. Demonstrated formation of mechanisms of local protection of mucous coats in premature infants characterize humoral and cellular immunity activation. It is recommended to use The state of local immunity of full-term infants in the capacity of standard.

---

---

## РАЗЛИЧИЯ В АКТИВИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ МУТАНТНЫХ ФОРМ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ НА НК-КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА

Каневский А. М.<sup>1</sup>, Ерохина С. А.<sup>1,2</sup>, Стрельцова М. А.<sup>1</sup>,  
Коваленко Е. И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина  
и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук; <sup>2</sup>Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Статья посвящена исследованию участия О-антигена в процессе непосредственной активации НК-клеток человека бактериальными липополисахаридами (LPS). Было обнаружено, что мутантные формы LPS, в которых отсутствуют поли- и олигосахаридные фрагменты, оказывают менее выраженный стимулирующий эффект на продукцию интерферона-гамма высокоочищенными НК-клетками, чем LPS дикого типа. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что как О-антиген, так и олигосахаридная сердцевина LPS, играют важную роль во взаимодействии липополисахаридов с НК-клетками. Этот результат указывает на возможность существования TLR4-независимого механизма распознавания LPS НК-клетками человека.

За последние годы накопилось множество данных об участии НК-клеток в патогенезе сепсиса – системной воспалительной реакции, индуцируемой бактериальными липополисахаридами (LPS) [1]. На ранней стадии развития болезни НК-клетки служат «умножителями воспаления» – взаимно активируют макрофаги и дендритные клетки, главные сенсоры патоген-ассоциированных молекул (т.н. PAMPs). На последующих этапах функция натуральных киллеров заключается в элиминировании активированных макрофагов и производстве IL-10. Таким образом, эти клетки являются важными участниками септического процесса.

Было обнаружено, что LPS способны активировать НК-клетки непрямым путём, при участии моноцитов и дендритных клеток, несущих на своей поверхности рецепторы

к LPS [2]. Кроме того, было показано, что LPS, добавленные к высокоочищенной фракции НК-клеток, вызывают значительное повышение продукции интерферона-гамма (IFN- $\gamma$ ) и модулируют цитотоксичность, что свидетельствует о том, что возможен и прямой путь активации НК-клеток [3]. Однако механизм прямой активации остаётся неизвестным, так как на поверхности НК-клеток человека отсутствуют рецепторы LPS – TLR4 и CD14 [4,5]. Для объяснения этого феномена была предложена рабочая гипотеза, согласно которой LPS взаимодействуют с клеткой не через липидную часть молекулы (как это происходит при связывании с TLR4), а посредством полисахаридной части, О-антигена.

Данная работа посвящена исследованию роли О-антигена в прямой активации НК-

клеток липополисахаридами. Для этого было проанализировано действие LPS *E.coli* дикого типа и мутантных форм LPS, в составе которых отсутствуют различные поли- и олигосахаридные фрагменты, на активацию NK-клеток человека, которую оценивали по увеличению уровня продукции ими IFN- $\gamma$ . Были исследованы следующие вещества: LPS дикого типа, штамм O55:B6 (Sigma Aldrich, США), представляющий из себя смесь липополисахаридов с O-антигенами различной длины; Ra- и Rd-LPS, выделенные из мутантных штаммов *E.coli*, в их составе отсутствуют, соответственно, O-антиген и O-антиген с внешней сердцевинной ("outer core") молекулы LPS (Sigma Aldrich, США); а также Re-LPS (Kdo2-lipid A, Enzo Life Sciences, США), состоящий из липида A и двух остатков 2-кето-3-дезоксиктоновой кислоты.

Образцы крови были получены от здоровых добровольцев, давших информированное согласие на использование их крови. NK-клетки получали путём центрифугирования крови на градиенте фиколла с последующей магнитной сепарацией с помощью коммерческого набора для выделения NK-клеток человека (Miltenyi Biotec, Германия). Доля клеток CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> в полученной фракции составляла не менее 97%. NK-клетки инкубировали в среде RPMI-1640 (ПанЭко, РФ) с 10% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США) в концентрации  $1,5 \times 10^6$  кл./мл в течение 18 ч в присутствии 500 ед./мл rhIL-2 (Hoffmann-La Roche, Германия). В опытные образцы были добавлены LPS дикого типа, Ra-, Rd- и Re-LPS в концентрации 5 мкг/мл. По окончании инкубации содержание IFN- $\gamma$  в супернатанты было проанализировано методом ИФА (Вектор-Бест, РФ). Эксперименты были выполнены в триплетах. Данные анализировали с помощью оснащённой статистическим пакетом программы SigmaPlot, версия 11.0 (Systat Software Inc., США). Статистически значимы признавали различия при  $P \leq 0.05$ .

Было проведено пять экспериментов на NK-клетках, полученных от различных доноров. Базовый уровень продукции IFN- $\gamma$  стимулированными IL-2 NK-клетками значительно различался по величине у разных доноров: различия составляли от десятков пг/мл до десятков нг/мл. В четырёх экспериментах из пяти наблюдались стимулирующие эффекты LPS. Величины этих эффектов в разных опытах составляли

от 10 до 1000% от базового уровня. В одном эксперименте уровень продукции IFN- $\gamma$  в опытных образцах достоверно не отличался от контрольного. Эти различия, видимо, связаны с индивидуальными особенностями доноров.

Во всех экспериментах стимулирующий эффект LPS дикого типа был выше эффекта остальных веществ. Активирующее действие Ra- и Rd-мутантов на продукцию IFN- $\gamma$  составляло обычно около 50% от LPS дикого типа. Re-LPS оказался наименее активным из исследуемых веществ: в двух экспериментах из пяти его эффект достоверно не отличался от контрольного, в остальных опытах он оказывал положительное влияние на продукцию IFN- $\gamma$ , однако величина эффекта была ниже, чем у Ra- и Rd-мутантов.

Полученные данные позволяют заключить, что в нашей модели LPS дикого типа оказался самым активным из исследуемых веществ. Важно отметить, что одинаковые массы исследуемых веществ содержат различные количества липида A, фрагмента, опосредующего связывание LPS с рецептором TLR4: в LPS дикого типа оно минимальное (основную часть массы молекулы составляют олигосахаридная сердцевина и O-антиген), а в Re-LPS – максимальное. Однако в наших опытах наибольший эффект был обнаружен под действием LPS дикого типа, в то время как в отсутствие O-антигена и, тем более, олигосахаридов сердцевины стимулирующее действие LPS было менее выраженным. Данный результат свидетельствует в пользу гипотезы о том, что активирующее действие LPS на NK-клетки может быть связано с присутствием в их составе полисахаридных цепей. В связи с этим можно предположить, что в распознавании NK-клетками липополисахаридов могут участвовать те или иные лектины, экспрессированные на поверхности натуральных киллеров.

Работа поддержана грантами РФФИ № 13-04-02041 и № 14-04-01842.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chiche, L., Forel, J. M., Thomas, G., Farnarier, C., Vely, F., Bléry, M., Papazian, L., and Vivier, E. (2011) The role of natural killer cells in sepsis. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 986491.
2. Gerosa, F., Baldani-Guerra, B., Nisii, C., Marchesini, V., Carra, G., and Trinchieri, G. (2002). Reciprocal activating interaction between natural killer cells and dendritic cells. *J. Exp. Med.* 195, 327-333.

3. Souza-Fonseca-Guimaraes F., Parlato M., Philippart F., Misset B., Cavaillon J.M. and Adib-Conquy M. (2012) Toll-like receptors expression and interferon- $\gamma$  production by NK cells in human sepsis. *Crit Care*. 2012 Oct 25; 16 (5): R206.
4. Kanevskiy L.M., Telford W.G., Sapozhnikov A.M. and Kovalenko E.I. (2013) Lipopolysaccharide induces IFN- $\gamma$  production in human NK cells. *Front Immunol*. 2013, 4:11.
5. Каневский Л.М., Ерохина С.А., Стрельцова М.А., Телфорд У. Дж., Сапожников А.М., Коваленко Е.И. (2014) Бактериальный липополисахарид активирует CD57-негативные НК-клетки человека. *Биохимия*, 2014, том 79, вып. 12, с. 1636-1647

## DIFFERENCES IN HUMAN NK-CELLS INDUCTION BY MUTANT FORMS OF LPS

Kanevsky L.M., Erokhina S.A., Streltsova M.A.,  
Kovalenko E.I.

The article concerns with the investigation of the role of O-antigen in the process of direct activation on human NK cells by bacterial lipopolysaccharides (LPS). We have shown that mutant forms of LPS lacking poly- and oligosaccharide fragments demonstrated lower effects on the induction of interferon-gamma production by highly purified NK cells than wild-type LPS. Our data evidence for the important role of O-antigen as well as LPS core in the interaction of lipopolysaccharides with NK cells. These results show the possibility of existence of a TLR4-independent mechanism of recognition of LPS by human NK cells.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ У ВЗРОСЛЫХ

Каракина М.А.<sup>1,2</sup>, Семенов А.В.<sup>3,4</sup>, Останкова Ю.В.<sup>3</sup>,  
Казанова Ж.-Л.<sup>5,6,7,8,9</sup>, Тузанкина И.А.<sup>1,10</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; <sup>2</sup>ГБУЗ СО Свердловская областная клиническая больница № 1, Екатеринбург, Россия; <sup>3</sup>ФГБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия; <sup>4</sup>ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия; <sup>5</sup>Rockefeller Branch, St. Giles Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, The Rockefeller University, New York, NY, USA; <sup>6</sup>Necker Branch, Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, INSERM U1163, Paris, France; <sup>7</sup>Imagine Institute, University Paris Descartes, Paris, France; <sup>8</sup>Howard Hughes Medical Institute, New York, NY, USA; <sup>9</sup>Pediatric Hematology-Immunology Unit, Necker Hospital for Sick Children, Paris, France; <sup>10</sup>ФГАОУ ВПО «УрФУ имени первого президента России Б. Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

Первичные иммунодефициты (ПИД) – это врожденные дефекты иммунной системы, приводящие к нарушению развития и/или функционирования одной или нескольких субпопуляций лимфоцитов. За последние годы в регистрах ПИД многих стран наряду с детьми появились взрослые пациенты с данным диагнозом. ПИД у взрослых имеют особенности клинических проявлений, «генеалогических маркеров» в родословных, тяжести заболевания, что связано, прежде всего, с генетическими факторами. В статье проводится обзор наиболее распространенных генетических факторов, приводящих к развитию ПИД у взрослых.

Первичные иммунодефициты (ПИД) – это врожденные дефекты иммунной системы, приводящие к нарушению развития и/или функционирования одной или нескольких субпопуляций лимфоцитов [1]. Несколько десятилетий назад считалось, что ПИД прояв-

ляются множественными, повторяющимися, оппортунистическими инфекциями, встречаются только у детей и всегда являются причиной летальных исходов. Однако за последние годы представления о ПИД изменились, во многих регистрах наряду с детьми появились взрослые пациенты с ПИД. В частности, в региональном регистре Свердловской области в настоящее время – 105 взрослых пациентов с ПИД [2]. Диагноз ПИД у данных пациентов устанавливался согласно критериям European Society for Immunodeficiencies (последняя версия 11.05.2015) [3].

ПИД у взрослых имеют следующие особенности, по сравнению с ПИД у детей:

1. Клинически ПИД у взрослых имеет не только инфекционные, но и другие иммунопатологические проявления: аллергические, аутоиммунные и онкологические, а также некоторые специфические проявления, например, болезнь Крона (БК) (Blau syndrome).

2. В генеалогическом анамнезе взрослых пациентов с ПИД представлены родственники с иммунопатологией, наиболее значимыми из которых являются тяжелые инфекционные и аутоиммунные заболевания [2]. У детей с ПИД в родословных могут быть значимы другие «генеалогические маркеры», в том числе случаи детских смертей от инфекционных и/или онкологических заболеваний.

3. Дебют ПИД у взрослого может быть в любом возрасте, например, некоторые формы общей вариабельной иммунной недостаточности (ОВИН) могут проявиться на втором, третьем десятке жизни и позже. Кроме того, во взрослых регистрах ПИД могут быть пациенты, «доросшие» без трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток до взрослого состояния, а также пациенты с не диагностированными в детстве ПИД в связи со особенностями диагностики некоторых форм. Примером может служить случай установления диагноза пациентке «Синдром делеции 22 хромосомы» после установления данного диагноза ее детям [4].

4. Клинические проявления ПИД у взрослых значительно варьируют по степени тяжести течения. Современные противоинфекционные лекарственные препараты, а также средства заместительной терапии позволяют пациентам с ПИД вести полноценный образ жизни, социализироваться, создавать семью. Это также связано с особенностями ПИД у взрослых,

поскольку возможные генетические дефекты, послужившие причиной формирования ПИД, становятся не «жизнеугрожающими» и не приводят к фатальным последствиям еще в детском возрасте. Кроме того, у таких пациентов вероятно развитие так называемых «иммунологических шунтов» или компенсаторных механизмов, формируемых со временем и смягчающих последствия неблагоприятной мутации.

5. Возможность прогноза клинических проявлений генетических дефектов, послуживших причиной ПИД у взрослых, в настоящее время остается спорной. В то время как у детей показана прогностическая значимость известных генетических дефектов у пациента, так называемый «генетический прогноз ПИД», даже если речь идет о мутациях в разных локусах одного гена. Например, разные мутации в гене WAS могут приводить к разным нозологиям: синдромом Вискотта-Олдрича, X-сцепленная нейтропения, X-сцепленная тромбоцитопения.

Вышеперечисленные особенности важно учитывать при изучении генетических основ ПИД как детей, так и взрослых.

**Цель данной работы:** обзор наиболее распространенных генетических факторов, приводящих к развитию ПИД у взрослых.

Развитие ПИД у взрослых обусловлено многими причинами. Очевидно, что в основе первичного иммунодефицитного состояния лежит та или иная мутация генов, играющих значимую роль в формировании и функционировании иммунной системы. Однако, особенностью ПИД у взрослого пациента является вовлечение в патогенез дополнительного комплекса факторов, основные из которых будут рассмотрены ниже:

1. Фактор моногенного заболевания. Заболевание, причиной которых являются модификации в одном конкретном гене, приводящие к нарушению или отсутствию экспрессии целевого продукта. Примерами у взрослых пациентов могут быть такие ПИД как гипер-IgE синдром (AD-HIES, Job's syndrome), некоторые формы хронического кожно-слизистого кандидоза (СМС).

2. Фактор генетически множественного (мультифакторного) ПИД. Клинические проявления ПИД у взрослых могут быть представлены синдромами мультифакторных заболеваний, таких как астма, диабет, различные онкологические и тяжелые инфекционные заболевания. Разнообразие и различие соче-

танных генетических модификаций в разных (по полу, возрасту манифестации, тяжести течения) группах одних и тех же мультифакторных болезней говорит о существовании разных заболеваний со схожим синдромом для таких нозологий, а также позволяет разделить заболевания с преимущественно генетической природой патогенеза (такие варианты характерны для детей, а также для взрослых со сходным генетическим профилем целевых генетических сетей) от заболеваний, для которых генетическая составляющая является малозначимым фактором и/или представлена мутациями предположительных геномодификаторов. Примером являются различия в генетической основе патогенеза среднего и тяжелого течения бронхиальной астмы, что позволяет задуматься о природе более редкого тяжелого варианта БА, которую сейчас, в связи с дефицитом некоторых подклассов IgG, начинают рассматривать как один из вариантов позднего развития ПИД [5].

3. Факторы, обусловленные мутациями генов «внешней среды». Исследования последних десятилетий показали, что некоторые изменения функций системы детоксикации ксенобиотиков приводят к повышенной восприимчивости организма к вредным воздействиям и, как следствие, к увеличению риска развития иммунопатологии. Это дает основание предполагать наличие возможной связи между некоторыми вариантами ПИД у взрослых и состоянием системы биотрансформации. Полиморфные варианты генов, кодирующих ферменты системы детоксикации, и их сочетания у пациентов с ПИД в настоящее время мало изучены.

4. Эпигенетические факторы. В раздел включены заболевания, формирующиеся под влиянием эпигенетических факторов, действующих на экспрессию и инактивацию генов без изменения их структуры. Такие ПИД могут быть обусловлены процессами метилирования или ацетилирования ДНК, фосфорилирования/ ацетилирования/ деацетилирования/ метилирования репрессорным комплексом поликомб гистонов и иными постгеномными модификациями. Возможно, что некоторые формы ОВИН и БК связаны с влиянием эпигенетических факторов.

5. Факторы соматического мутагенеза. Мутации в соматических клетках возникают в ходе онтогенеза и не передаются потомству.

Большинство соматических мутаций не имеют клинически значимых проявлений. Но в редких случаях может возникать мутация, затрагивающая ключевые гены и проявляющаяся клинически. Примером может служить дефект гена MyD88 (адаптерной молекулы, участвующей в передаче сигнала пути Toll-подобных рецепторов к фактору активации транскрипции NF-κB). В зависимости от характера «генетической поломки», такая мутация может проявляться разными заболеваниями, в том числе макроглобулинемией Вальденстрема или лимфомой Ходжкина.

6. Факторы фенокопирования. Фенокопии – приобретенные заболевания с симптомами идентичными наследственному заболеванию. Например, образование антител к C1-ингибитору комплемента, проявляющиеся клинически ангиоотеками, может выглядеть клинически как ПИД, являясь, по сути, аутоиммунным заболеванием. В настоящее время этот феномен подтвержден для некоторых ПИД, в том числе для патологий, связанных с образованием антител к различным факторам иммунной системы.

Перечень вышеупомянутых факторов не является исчерпывающим в патогенезе ПИД у взрослых, поскольку каждый год появляются свидетельства в пользу влияния на развитие ПИД иных, еще не идентифицированных механизмов. Тем не менее, значимость определения генетических маркеров (мутаций), лежащих в основе процесса формирования ПИД у взрослых сложно переоценить. Рассмотренные генетические варианты затрудняют диагностику ПИД, вместе с тем, они открывают путь в фундаментальную генетику иммунопатологических процессов.

Генетическая идентификация ПИД у взрослых является сложным, наукоемким процессом, требующим больших интеллектуальных и финансовых вложений. Результаты генетических исследований не всегда отражаются на тактике ведения конкретного пациента. Поэтому данный метод недостаточно применяется в клинической практике. Однако стремительное развитие генетики и персонализированной медицины, основанной на генетических данных, удешевление методов высокопроизводительного секвенирования (NGS-sequencing) приведет в ближайшее десятилетие к более широкому распространению генетических исследований в клинике.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Casanova J.L. Primary immunodeficiencies: a field in its infancy / J.L. Casanova, L. Abel // Science.– 2007.– Vol. 317.– P. 617–619. DOI: 10.1126/science.1142963
2. Karakina M. Analysis of adult patients with primary immunodeficiencies pedigrees with using genealogical markers // M. Karakina, V. Shershnev, I. Tuzankina // J. Clin. Immunol.– 2014.– Vol. 34 (Suppl 2).– S354. DOI 10.1007/s10875-014-0101-9
3. Электронный ресурс: <http://esid.org/Working-Parties/Registry/Diagnosis-criteria>
4. Дерябина С. С. Метод МЛРА в выявлении семейного случая синдрома делеции 22 хромосомы / С. С. Дерябина, М. Л. Каракина, И. А. Тузанкина // Вестник уральской медицинской академической науки.– 2014.– № 3 (49).– С. 206-208.
5. Останкова Ю. В., Иващенко Т. Э., Келембет Н. А., Лаврова О. В., Гембицкая Т. Е., Баранов В. С. Комплексный анализ полиморфизма генов Nos 1, Nos 3, TNF A у больных бронхиальной астмой // Молекулярная медицина.– 2008.– N 5.– С. 24-29.

## GENETIC FACTORS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCIES IN ADULTS

Karakina M. L.<sup>1,2</sup>, Semenov A. V.<sup>3,4</sup>, Ostankova J. V.<sup>3</sup>, Casanova J.-L.<sup>5,6,7,8,9</sup>, Tuzankina I. A.<sup>1,10</sup>

<sup>1</sup>Institute of Immunology and Physiology, Ekaterinburg, Russia; <sup>2</sup>Region Clinical Hospital № 1, Ekaterinburg, Russia; <sup>3</sup>Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named L. Paster, Saint-Petersburg, Russia; <sup>4</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia; <sup>5</sup>Rockefeller Branch, St. Giles Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, The Rockefeller University, New York, NY, USA; <sup>6</sup>Necker Branch, Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, INSERM U1163, Paris, France; <sup>7</sup>Imagine Institute, University Paris Descartes, Paris, France; <sup>8</sup>Howard Hughes Medical Institute, New York, NY, USA; <sup>9</sup>Pediatric Hematology-Immunology Unit, Necker Hospital for Sick Children, Paris, France; <sup>10</sup>Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin Ekaterinburg, Russia;

Primary immunodeficiencies (PIDs) – congenital defects of the immune system, leading to disruption of development and/or function of one or several leukocyte subsets. There are adult patients with PIDs together children in the PID-registers in many countries. Adult-PIDs have features of clinical manifestations, “genealogical markers” in the pedigrees, disease severity due to genetic factors. The article provides an overview of the most common genetic factors that lead to the development of PIDs in adults.

## HLA ФЕНОТИП У СУПРУЖЕСКИХ ПАР С НАРУШЕНИЕМ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

Киселева А. Н., Зайцева Г. А., Исаева Н. В., Бутина Е. В.

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России», Киров, Россия

Изучали особенности распределения фенотипов по антигенам системы HLA классов I и II у женщин и мужчин, состоящих в бесплодном браке. Исследования проводили с использованием лимфоцитотоксического теста и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Обнаружили достоверное повышение частоты выявления антигенов HLA класса I A11 – у женщин, B13 и B15 – у мужчин из исследуемой группы. Авторами высказано предположение о возможности влияния этих специфичностей на нарушение процессов имплантации и отторжение эмбриона, ведущих к бесплодию.

Проблема невынашивания беременности и ее потеря вплоть до настоящего времени остается малоизученной и весьма актуальной.

Многие исследователи отводят ведущую роль в этом процессе антигенам (АГ) системы HLA, которые осуществляют контроль иммунного

ответа, а значит, принимают активное участие в нормальном течении беременности. Риск ранних гестационных потерь и бесплодие чаще всего связывают с совместимостью супругов по 3 и более АГ главного комплекса гистосовместимости, а также с наличием определенных генов у супругов, которые могут вызывать нарушение процессов имплантации и отторжение эмбриона [1,2].

**Целью** настоящего исследования являлось изучение особенностей фенотипов по антигенам системы HLA классов I и II у женщин и мужчин, состоящих в бесплодном браке.

**Материалы и методы исследования.** HLA-фенотип оценивали у 41 супружеской пары с диагнозом «бесплодие» в анамнезе. В группу контроля вошли 795 доноров крови и ее компонентов. Иммунологическое типирование HLA-антигенов класса I выполняли в стандартном лимфоцитотоксическом тесте с использованием сывороток фирмы «Гисанс» (СПб, Россия). Определение специфичностей HLA класса II осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени наборами реагентов НПФ «ДНК-Технология» (Россия). Обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 2007 и статистического метода – критерий  $\chi^2$ .

**Основные результаты.** В фенотипах исследуемой группы были выявлены следующие совпадения: 1 общий АГ у 33,8% супругов, 2 АГ – у 13,0%, 3 АГ – у 19,5%, 4 АГ – у 7,8%, 5 АГ – 2,6%.

Проанализировав частоту распределения специфичностей в локусах DRB1\*, DQA1\* и DQB1\* у женщин и мужчин, состоящих в бесплодном браке, и в группе контроля,

не отметили статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ).

Напротив, при анализе полиморфизма HLA класса I установлено достоверное увеличение частоты встречаемости антигена A11 (29,7%) у женщин исследуемой группы по сравнению с группой контроля (13,6%) ( $p < 0,05$ ). У мужчин данных различий не установлено.

Оценка антигенов локуса В у мужчин позволила определить достоверное повышение частоты выявления специфичностей В13 (24,3%) и В15 (24,3%) в супружеских парах с бесплодием, в контрольной группе – 10,3% и 11,5% соответственно ( $p < 0,05$ ). У женщин статистически значимых различий не наблюдалось ( $p > 0,05$ ).

**Выводы.** Сравнительный анализ распределения антигенов главного комплекса гистосовместимости свидетельствует о достоверном повышении частоты выявления специфичностей HLA класса I A11 у женщин, состоящих в бесплодном браке – в 2,2 раза, В13 и В15 – в 2,4 и 2,1 раза у мужчин соответственно. Наличие вышеуказанных специфичностей может приводить к нарушению процессов имплантации и отторжению эмбриона, ведущих к бесплодию.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутина Е.В. Диагностика иммунологического конфликта при беременности [Текст] / Е.В. Бутина, Г.А. Зайцева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2014. – № 3. С. 16-19.
2. Узлова Т.В. Иммунологическое бесплодие: проблемы и возможности [Текст] / Т.В. Узлова, Е.К. Лейхнер, О.В. Маркина // Вестник ЮУрГУ. – 2011. – № 2. – С. 100-103.

## HLA-PHENOTYPE IN COUPLE WITH REPRODUCTIVE INTERRUPTION

A. N. Kiseleva, G. A. Zatseva, N. V. Isaeva, E. V. Butina

The peculiarities of phenotypical distribution in antigens of the HLA system of the Class I and Class II for women and men being in a infertile wedlock were studied. The research was implemented with the use of lymphocytotoxic test and real-time polymerase chain reaction. In the examined group a reliable increase in the detection frequency of HLA Class I A11 for women, B13 and B15 for men was observed. The authors assumed that there was a possibility of influence of these specificities on the implantation processes and embryo rejection which both led to infertility.

## КИСЛОРОДЗАВИСИМАЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ИСХОДАМИ ОСТРОГО ИКСОДОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА

Колчина А. С., Кологривова Е. Н.

ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия

Формирование эритемы при иксодовом клещевом боррелиозе связывают с активацией фагоцитарного звена иммунитета. Безэритемная форма острого иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ) часто приводит к хронизации данного заболевания. Целью настоящего исследования была сравнительная оценка кислородзависимой цитотоксичности в острый период заболевания у пациентов с последующим выздоровлением или хронизацией ИКБ. У больных с последующей хронизацией ИКБ выявлено преобладание в острую стадию заболевания нейтрофилов с высокой степенью активности кислородного метаболизма на фоне количественного дефицита функционально активных клеток.

Иксодовый клещевой боррелиоз относится к группе трансмиссивных инфекционных заболеваний, которое нередко приобретает хроническое течение с поражением суставов, головного мозга, сердечно-сосудистой системы и др. [1]. При попадании боррелий в кожу человека, они подвергаются воздействию многочисленных факторов защиты макроорганизма. Боррелии способны индуцировать активацию нейтрофилов и стимуляцию «респираторного взрыва», что ведет к выбросу активных форм кислорода, развитию воспалительной реакции, которая способствует, в том числе, формированию мигрирующей эритемы [1, 4].

Отсутствие мигрирующей эритемы зачастую бывает обусловлено недостаточностью факторов неспецифической резистентности, а также незавершённой фагоцитоза, что может способствовать задержке элиминации возбудителя и повышению риска хронизации ИКБ [4].

Целью данного исследования явилась оценка фагоцитарной активности нейтрофилов у пациентов с различными вариантами течения ИКБ.

**Материалы и методы.** Обследованы 25 пациентов с острым течением ИКБ в возрасте от 18 до 50 лет. У всех пациентов с острым ИКБ была зарегистрирована безэритемная форма заболевания. Обследование прово-

дилось однократно на первой неделе госпитализации до начала этиопатогенетической и иммуотропной терапии. Через 6 месяцев пациенты с острым ИКБ были разделены на 2 подгруппы: с выздоровлением после курса проведенной терапии (13 человек) и хронизацией острого ИКБ (12 человек). В качестве контрольной группы были обследованы 25 условно здоровых добровольцев с соответствующими характеристиками по полу и возрасту, отрицавшие факт присасывания клеща в течение жизни.

В качестве материала исследования использовалась периферическая кровь. Оценка активности нейтрофилов проводилась в тесте с нитросиним тетразолием (НСТ-тест), основанном на восстановлении желтой растворимой формы НСТ до нерастворимого темно-синего диформаза в присутствии активных метаболитов кислорода. Постановка НСТ-теста осуществлялась в двух вариантах: без стимуляции (спонтанный НСТ-тест) и стимулированном (стимулированный НСТ-тест). Для стимуляции нейтрофилов использовали ультразвуковой лизат боррелий (*Borrelia garinii*) в дозе  $1,25 \times 10^6$  микробных клеток/мл (ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ НПО «Вирион», Россия) Учитывали процент активных нейтрофилов в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте, и оценивали степень активности нейтрофилов по наличию или отсутствию

гранул диформаза: 0 степень активности – отсутствие гранул в цитоплазме; 1 степень – наличие в цитоплазме единичных гранул; 2 степень – половина цитоплазмы заполнена гранулами; 3 степень – 2/3 цитоплазмы содержит гранулы; 4 степень – более 2/3 цитоплазмы заполнено гранулами [3].

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета статистических программ «Statistica 6.0».

**Результаты и обсуждение.** В группе здоровых на фоне стимуляции нейтрофилов *in vitro* боррелиозным антигеном количество активных в НСТ-тесте клеток [(10,25; 7,00-11,00)%] в среднем на 1/3 превышало показатели спонтанного НСТ-теста [(6,25; 4,00-10,00)%]. Нейтрофильные лейкоциты с умеренной (1-2 степень) и высокой (3-4 степень) активностью у здоровых доноров выявлялись в равных долях, и их соотношение не изменялось на фоне стимуляции антигеном боррелий.

При оценке результатов спонтанного НСТ-теста у больных с последующим выздоровлением относительное содержание формазан-положительных нейтрофилов не отличалось от группы здоровых [(7,25,00; 5,00–7,50)%]. При этом выявлено повышенное содержание клеток с умеренной степенью активности по сравнению с аналогичным значением в контроле ( $p < 0,05$ ). Подобное соотношение сохранялось и в НСТ-тесте, стимулированном боррелиозным антигеном.

У пациентов с последующей хронизацией ИКБ было выявлено достоверное снижение процента активных нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте по сравнению с показателем здоровых [(4,30; 2,40-10,00)%;  $p = 0,006$ ]. Количество нейтрофилов с высокой степенью активности в спонтанном НСТ-тесте у пациентов данной группы достоверно превышало аналогичные показатели у пациентов с последующим выздоровлением и в группе контроля ( $p < 0,05$ ). На фоне стимуляции боррелиозным антигеном отмечено смещение соотношения активных нейтрофилов в сторону преобладания клеток с 1-2 степенями активности, достоверно отличающееся от показателей спонтанной активации нейтрофилов у данных пациентов ( $p < 0,05$ ).

НСТ-тест отражает активность кислород-зависимых механизмов микробицидности нейтрофилов, а также степень готовности к завершению фагоцитозу [2]. Известно, что

усиление кислородного метаболизма до 1-2 степени активности является адекватным ответом на антигенный раздражитель, который ведёт к элиминации патогена [3]. При высокой активности (3-4 степень) происходит гиперпродукция кислородных радикалов, что ведёт к гибели нейтрофила. Преобладание нейтрофилов с высокой степенью активности в условиях антигенной нагрузки является неблагоприятным признаком, так как эффективной элиминации патогена в этом случае не наблюдается, в то время как воспалительный процесс в тканях усиливается [3].

Полученные нами данные продемонстрировали преобладание нейтрофилов с умеренной активацией кислородзависимых систем микробицидности у пациентов с последующим выздоровлением, как в отсутствие экзогенной стимуляции, так и на фоне стимуляции антигеном боррелий *in vitro*. Изменения со стороны фагоцитарного звена иммунитета, выявленные у пациентов с последующей хронизацией ИКБ, указывают на преобладание в острую стадию заболевания в крови нейтрофилов, находящихся в состоянии гиперпродукции активных форм кислорода при исходно низком количестве функционально активных клеток. Можно предположить, что подобная особенность функционирования нейтрофилов наблюдалась у данных пациентов до момента инфицирования, либо сформировалась на начальных этапах заболевания, но, несомненно, что она существенно повышает риск хронизации заболевания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ананьева Л. П. Иксодовые клещевые боррелиозы (Болезнь Лайма) в практике терапевта / Ананьева Л. П. / Российский медицинский журнал – 2007. – № 1. – С. 37-41.
2. Васильева Ю. П. Клинико-иммунологические критерии хронизации иксодового клещевого боррелиоза у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ю. П. Васильева. – Санкт-Петербург, 2003. – 16 с.
3. Основы клинической иммунологии и методологические подходы к оценке иммунного статуса: Практикум / Ред. М. Г. Романцов и др. – Калининград, 1997. – 73 с.
4. Пирогова Н. П. Механизмы нарушений клеточного звена резистентности при клещевых природно-очаговых инфекциях: Диссер. ... док. мед. наук / Н. П. Пирогова. – Томск, 2003. – 138 с.

**OXYGEN-DEPENDENT CYTOTOXICITY OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH DIFFERENT OUTCOMES OF ACUTE TICK-BORNE BORRELIOSIS**

A. S. Kolchina, E. N. Kologrivova

*Siberian State Medical University, Tomsk, Russia*

Development of erythema in tick-borne borreliosis is associated with activation of the phagocytic component of innate immunity. Non-erythematous form of acute tick-borne borreliosis (TBB) frequently leads to chronicity of this disease. Objective of the current study was the comparative evaluation of oxygen-dependent cytotoxicity in the acute period of disease with subsequent recovery or chronicity of TBB. Predominance of neutrophils with high degree of activity of oxygen metabolism and quantity deficiency of active cells at the acute stage of the disease has been revealed in patients with subsequent chronicity of TBB.

**ВЛИЯНИЕ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ РОДА *VACILLUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ПОРОД РАЗНОГО ГЕОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА, НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Колыванова С. С., Соловьев В. С., Каленова Л. Ф.

*Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия*

В эксперименте на лабораторных мышах исследовали влияние двух бактерий рода *Bacillus*: 1 – штамм 8/75 (*B. megaterium*) из проб многолетнемерзлых пород плейстоцен-голоценового периода (возраст пород 35-40 тыс. лет, район Тарко-Сале Западной Сибири); 2 – штамм М3 (*Bacillus sp.*) из проб многолетнемерзлых пород позднего неогена (опорный разрез Мамонтова гора в Центральной Якутии, возраст пород 3,5-2 млн. лет). На 14 сутки после введения микроорганизмов проводились иммуно-физиологические исследования. По результатам эксперимента сделано заключение, что различные штаммы бактерий рода *Bacillus*, выделенные из многолетнемерзлых пород, могут оказывать как умеренное (штамм М3 *Bacillus sp.*), так и выраженное (штамм 8/75 *Bacillus megaterium*) стимулирующее влияние на иммунную систему лабораторных животных.

Бактерии рода *Bacillus* широко распространены в биосфере, включая воздушный бассейн, почвенный покров, моря и океаны, внутренние водоемы материков и криогенные среды [1]. Они являются наиболее древними сапрофитными микроорганизмами, с которыми на протяжении всей истории своего существования сталкивался человек [2]. Неудивительно, что при таком широком распространении микроорганизмы рода *Bacillus* могут оказывать выраженное влияние на жизнедеятельность организмов [3, 4]. Современная наука активно изучает возможности их использования в медицине и ветеринарии в качестве пробиотиков. Возможными

кандидатами на эту роль могут стать микроорганизмы (МО) из многолетнемерзлых пород (ММП), у которых в процессе эволюции, полагаем, возникло множество адаптационных механизмов, позволивших сохранить жизнеспособность [5]. В связи с вышесказанным, представляется актуальным изучение влияния микроорганизмов рода *Bacillus*, выделенных из ММП, на иммунную систему современных млекопитающих.

**Цель работы** – изучить влияние бактерий рода *Bacillus*, выделенных из многолетнемерзлых пород разного геологического возраста, на иммунологические показатели лабораторных животных.

В качестве объекта исследования выбрали штаммы бактерий рода *Bacillus*: 1 – штамм 8/75 (*B. megaterium*) из проб ММП плейстоценового периода (возраст пород 35-40 тыс. лет район Тарко-Сале Западной Сибири); 2 – штамм М3 (*Bacillus sp.*) из проб ММП позднего неогена (опорный разрез Мамонтова гора в Центральной Якутии, возраст пород 3,5-2 млн. лет). В качестве тест-объектов использовали 48 мышей F1 СВА/Black-6, самцы, весом 20-22 г, разделенные на 3 равные группы. Бактерии вводили мышам внутрибрюшинно в дозе  $50 \cdot 10^3 \pm 2,3 \cdot 10^3$  микробных клеток (м.кл.) в 100 мкл физиологического раствора. Контрольным животным внутрибрюшинно вводили 100 мкл физиологического раствора. Иммунофизиологические исследования проводились на 14 сутки после введения МО. У животных определяли индексы тимуса, селезенки, печени и надпочечников. В периферической крови определяли содержание эритроцитов, лейкоцитов и их популяционный состав на гематологическом анализаторе PCE-90Vet (High Technology, USA). Оценивалась способность макрофагов селезенки к поглощению (ФП,%) инактивированных дрожжевых клеток и метаболизму радикалов кислорода в спонтанном варианте НСТ-теста (НСТ,%). Активность системного гуморального иммунитета оценивали методом Cunningham по числу антителообразующих клеток в  $1 \times 10^6$  лимфоцитов селезенки (АОК/1 млн. ЛФ) и во всей селезенке (АОК/сел.), клеточного иммунитета – в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ,%) *in vivo* по Crowle. Подсчет лимфоцитов в селезенке (ЛФ/сел.) проводили на гематологическом анализаторе PCE-90Vet. Исследования проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Пр. МЗ ССР от 12.08.1977 г. № 755) и «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных» от 18.03.1986. Достоверность различий между группами оценивали по *t* критерию Стьюдента в программе «SPSS 11,5 for Windows».

На популяционный состав лейкоцитов оказал влияние штамм 8/75 из пород плейстоценового периода. Под его воздействием произошло снижение количества нейтрофильных гранулоцитов ( $p < 0,01$ ) и моноцитов ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем. Штамм М3 из ММП позднего неогена в сравнении с контролем не оказал достоверно значимого

влияния на клеточный состав периферической крови.

Результаты определения индексов исследуемых органов показали, что ни один из исследуемых штаммов не вызвали достоверного изменения индекса печени, в то же время способствовали увеличению индекса надпочечников ( $p < 0,01$  в обоих случаях). Штамм М3 не оказал значимого влияния на индексы тимуса и селезенки, в отличие от штамма 8/75, под влиянием которого индекс селезенки уменьшился ( $p < 0,05$ ), а тимуса увеличился ( $p < 0,01$ ).

Для оценки влияния бактерий на функциональное состояние иммунной системы исследовались показатели фагоцитарной активности макрофагов селезенки, реакций клеточного и гуморального иммунитета.

В результате проведенного эксперимента установили, что иммунная система отреагировала на парентеральное введение всех штаммов МО в указанной дозе изменением функциональной активности различных своих звеньев. Штамм 8/75 оказал стимулирующее влияние на поглотительную ( $p < 0,05$ ) и метаболическую ( $p < 0,01$ ) активность макрофагов. Штамм М3 достоверно повысил только метаболическую активность макрофагов ( $p < 0,05$ ).

На функциональную активность Т-клеточных факторов иммунитета (по уровню реакции ГЗТ,%) ни один из исследуемых штаммов достоверного влияния не оказали.

На общую численность АОК в селезенке относительно контроля ( $6686 \pm 701$ ) оказали влияние оба штамма МО. Штамм М3 в меньшей степени повысил содержание АОК в селезенке ( $8759 \pm 1347$ ) ( $p < 0,01$ ), по сравнению со штаммом 8/75 ( $19048 \pm 1837$ ) ( $p < 0,001$ ). АОК является врожденным механизмом неспецифической резистентности. Полученные данные свидетельствуют о различной активности данной реакции у штаммов 8/75 и М3. Штаммы М3 и 8/75 оказали в разной степени достоверное стимулирующее влияние на функциональную активность В-лимфоцитов внутри гуморального звена иммунной системы (АОК в 1 млн. лимфоцитов селезенки,  $p < 0,05$  и  $p < 0,001$  соответственно). На количество же лимфоцитов в селезенке (ЛФ/сел) исследуемые штаммы оказали разное влияние. Штамм М3 проявил стимулирующее действие ( $p < 0,05$ ), а штамм 8/75 – подавляющее ( $p < 0,01$ ).

Спектр используемых в данном исследовании методов и полученные результаты свиде-

тельствуют о наличии различий в реакциях иммунной системы современных млекопитающих на микроорганизмы из многолетне-мерзлых пород позднего неогена (штамм М3 *Bacillus sp.*) и плейстоцен-голоценового периода (штамм 8/75 *Bacillus megaterium*). Под влиянием микроорганизмов из более «молодых» пород (плейстоцен-голоценовый период) уровень гуморального иммунитета (АОК в селезенке) повышается прогрессивно – в 3 раза, а под влиянием бактерий из более «древних» пород (поздний неоген) – только на 31%. То есть, штамм М3 «палеобактерий» в использованной дозе не вызывал избыточной активации эффекторных клеток «неоиммунитета» (Т- и В-лимфоцитов), а действовал в режиме, близком к физиологической норме.

На основании полученных данных можно сделать заключение, что различные штаммы бактерий рода *Bacillus*, выделенные из ММП, могут оказывать как умеренное (штамм М3 *Bacillus sp.*), так и выраженное (штамм 8/75 *Bacillus megaterium*) стимулирующее влияние на иммунную систему лабораторных животных. Оба исследованных штамма не оказывали достоверного влияния на параметры периферической красной крови. Общее количество лейкоцитов в крови экспериментальных животных существенно не изменялось, но содержание и активность различных форм

лейкоцитов подвергались достоверным изменениям. Учитывая, что под влиянием штамма *Bacillus sp.* из ММП позднего неогена повышение активности различных звеньев иммунной системы не превышало 40% от контрольного уровня, можно считать, что он действует как физиологический биорегулятор функциональной активности иммунной системы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Калёнова Л. Ф. Влияние малых доз микроорганизмов *Bacillus sp.* из вечной мерзлоты на дифференцировку клеток в костном мозге в эксперименте / Л. Ф. Калёнова, М. А. Новикова, Е. Г. Костоломова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 158, № 9. – С. 352-355
2. Зависимость биологической активности бактерий *Bacillus sp.* из многолетнемерзлых пород от температуры / Л. Ф. Калёнова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2014. – Т. 21, № 4. – С. 142-148.
3. Меленьтьев А. И. Аэробные спорообразующие бактерии в агроэкосистемах / А. И. Меленьтьев. – М.: Наука, 2007. – 145 с.
4. Похиленко В. Д. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность / В. Д. Похиленко, В. В. Перелыгин // Химическая и биологическая безопасность. – 2007. – № 2-3. – С. 20-41.
5. Биогеохимия мерзлых пород Центральной Якутии / А. В. Брушков [и др.] // Криосфера Земли. – 2011. – Т. XV, № 4. – С. 90-100.

#### EFFECT OF BACTERIA STRAINS OF THE GENUS *BACILLUS*, ISOLATED FROM THE PERMAFROST OF DIFFERENT GEOLOGICAL AGE, ON IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF LABORATORY ANIMALS

Kolyvanova S. S., Solovyov V. S., Kalenova L. F.

In an experiment on laboratory mice studied the effect of two bacteria of the genus *Bacillus*: 1 – strain 8/75 (*B. megaterium*) from permafrost samples of Pleistocene-Holocene period (rocks age 35-40 thousand years, district Tarko-Sale, Western Siberia); 2 – M3 strain (*Bacillus sp.*) from permafrost samples of late Neogene (reference section of Mamontova Mountain in Central Yakutia, the age of rocks 3.5–2 mln. years). At 14 days after the introduction of micro-organisms carried out immuno-physiological studies. The experiment results it is concluded that different strains of bacteria of the genus *Bacillus*, selected from the permafrost can have as moderate (M3 strain *Bacillus sp.*), as well as expressed (strain 8/75 *Bacillus megaterium*) stimulatory effect on the immune system of laboratory animals.

## КЛИНИКО-ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИЕ АЛГОРИТМЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНО- ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ В РАННЕМ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ КАТАРАКТАМИ

Комах Ю.А.<sup>1</sup>, Борзенко С.А.<sup>1</sup>, Петричук С.В.<sup>2</sup>,  
Качегура Л.В.<sup>1</sup>, Самохина И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Феодорова»;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научный центр здоровья детей», Москва, Россия

Представлены данные изучения структуры осложнений в раннем послеоперационном периоде после аспирации врожденной катаракты с имплантацией ИОЛ у детей в возрасте от 2 до 14 лет. Проведен анализ течения раннего послеоперационного периода у 106 детей (114 глаз) и результатов иммунологических исследований. Выявлены факторы риска развития послеоперационных осложнений. В результате проведенных исследований получены два алгоритма для детей в возрасте от 2 до 5 лет, и от 6 до 12 лет, включающие наиболее значимые анамнестические и иммунологические показатели, позволяющие прогнозировать развитие ПВР в раннем послеоперационном периоде у детей с врожденными катарактами.

**Актуальность.** К патологии органа зрения у детей разных возрастных групп, требующей хирургической и медико-социальной реабилитации, относят врожденные катаракты. Несмотря на использование в последние годы в детской офтальмологии новых малотравматичных микрохирургических технологий, катаракты среди причин слепоты и слабовидения в Российской Федерации занимают второе место и составляют по данным разных авторов 9,4-37,3% [1-4]. Воспалительные реакции у детей после факоаспирации с имплантацией интраокулярной линзы (ИОЛ) по данным разных авторов возникают в 5,5-48,1% [1-5]. Клинико-иммунологические исследования у детей с врожденными катарактами свидетельствуют о важной роли нарушения иммунитета в развитии послеоперационных осложнений воспалительного характера [4]. В связи с этим актуальным становится изучение показателей иммунитета для прогнозирования результатов хирургического лечения у детей с врожденными катарактами.

**Цель.** Разработать алгоритмы прогноза формирования послеоперационных воспалительных реакций (ПВР) у детей разного возраста с врожденными катарактами.

**Материалы и методы.** В исследование включены 106 пациентов (114 глаз) с врожденными катарактами, которым была проведена аспирация катаракты с имплантацией ИОЛ. Возраст пациентов варьировал от 2-х до 14-ти лет. Все пациенты были разделены на 2 группы, сформированные на основании течения раннего послеоперационного периода. Всем пациентам до операции проводились стандартное офтальмологическое обследование. Также, проводили анкетирование, включающее: расчет суммы баллов иммунопатологического синдрома (инфекционный и аллергический), представленную суммой частот возникновения каждого симптома, формирующего синдром: (0 – нет симптома на момент обследования и никогда не было; 1 – симптом отсутствует на момент обследования, но встречался ранее, или присутствует и слабо выражен; 2 – симптом присутствует в данный момент и средне выражен; 3 – симптом присутствует и сильно выражен). Инфекционный синдром включал отягощенность анамнеза следующими симптомами: наличие длительного субфебрилитета или лихорадки, хронических инфекций ЛОР-органов, бронхитов и пневмоний, частых ОРВИ (группа «ЧБД»), ОРВИ за 1 месяц и ме-

нее до операции, наличие в анамнезе кори, краснухи, ветряной оспы, эпидемического паротита, коклюша, патологических реакций на прививки; грибковых инфекций кожи, слизистых, ногтей; паразитарных инфекций, инфекций ротовой полости, герпеса различной локализации, лимфаденитов, урогенитальных инфекций, дисбиоза кишечника, оппортунистических инфекций, сепсиса. Аллергический синдром включал наличие аллергической патологии кожи, ЛОР-органов и бронхолегочной системы. Кроме того, был проведен анализ факторов, отягощающих анамнез жизни: патологическое течение беременности, наличие врожденных пороков развития. В ходе опроса проводили расчет суммы баллов факторов, отягощающих анамнез жизни (каждому отягощающему анамнез жизни фактору, при его наличии, присваивался 1 балл).

Кроме того, всем пациентам были проведены лабораторно-клинические исследования образцов венозной крови, взятой до операции. Образцы крови подвергали первичной обработке согласно разработанному протоколу на проточном цитометре (FC 500 BC, США) с оценкой следующих субпопуляций лимфоцитов: CD3<sup>+</sup>; CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>; CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>; CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>; CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup>; CD4/CD8; CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>; CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>; CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>; CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>; CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>hi</sup>; CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup> (Treg); CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup> (Th17) и определением активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в них. Воспалительная реакция оценивалась биомикроскопически в первые 7-10 дней послеоперационного периода и через 1 месяц после операции.

**Результаты и обсуждение.** В результате проведенных исследований получены два алгоритма для детей в возрасте от 2 до 5 лет, и от 6 до 12 лет, включающие наиболее значимые анамнестические и иммунологические показатели, позволяющие прогнозировать развитие ПВР в раннем послеоперационном периоде у детей с врожденными катарактами.

Оценка анамнестических данных, характеризующих инфекционный синдром, выявила, что у детей с наличием ПВР (Группа 2) чаще, чем у детей с ареактивным течением послеоперационного периода (Группа 1), встречаются: длительный субфебрилитет или лихорадка ( $p < 0,05$ ), увеличение частоты ОРВИ (дети из группы «ЧБД») ( $p < 0,05$ ), бактериальные инфекции кожи и подкожно-жировой клет-

чатки ( $p < 0,01$ ), корь ( $p < 0,05$ ), патологические реакции на прививки ( $p < 0,05$ ), лимфадениты ( $p < 0,01$ ), оппортунистические инфекции ( $p < 0,05$ ). При оценке симптомов, характеризующих аллергический синдром, чаще встречается отягощенность анамнеза по аллергической патологии кожи у детей с наличием ПВР ( $p < 0,01$ ). Информативным показателем также является токсикоз I-ой половины беременности, который чаще встречался у матерей детей с наличием ПВР в возрасте 6–14-ти лет ( $p < 0,05$ ).

ROC-анализ продемонстрировал, что сумма баллов инфекционного синдрома  $\geq 4$ -х у детей 2-5-ти лет (ДЧ=69,2%, ДС=50,0%,  $p < 0,05$ ), а также  $\geq 3$ -х у детей 6-14-ти лет (ДЧ=76,9%, ДС=46,7%,  $p < 0,05$ ) увеличивает риск развития ПВР. Кроме того, сумма баллов аллергического синдрома  $\geq 1$ -го и наличие токсикоза I-ой половины беременности, ассоциировано с развитием ПВР у детей 6-14-ти лет (ДЧ=76,9%, ДС=60,0%,  $p < 0,05$ ). Проведенный анализ подтвердил значимость анамнестических факторов в развитии ПВР, однако выявил недостаточную информативность для точности прогноза, что обосновывает необходимость проведения лабораторного иммунологического обследования.

Изучение показателей иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови у детей 2-5-ти лет до операции с наличием ПВР выявило достоверное снижение количества Т-лимфоцитов ( $p = 0,016$ ), которое происходит, в основном, за счет снижения цитотоксических Т-лимфоцитов ( $p = 0,0004$ ), приводящего к увеличению иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8) ( $p = 0,002$ ). Увеличение количества В-лимфоцитов ( $p = 0,0025$  и  $p = 0,0025$ ) происходило за счет популяции В2-лимфоцитов ( $p = 0,002$ ) у пациентов с наличием воспалительной реакции в раннем послеоперационном периоде. Также у детей с наличием ПВР выявлено увеличение абсолютного количества НК-клеток ( $p = 0,0048$ ). Проведенный ROC-анализ показал наибольшую значимость относительного количества цитотоксических Т-лимфоцитов и иммунорегуляторного индекса в прогнозе ПВР. Снижение относительного количества цитотоксических Т-лимфоцитов менее 26,4% (ДЧ=83,3%, ДС=80,0%,  $p < 0,05$ ) и увеличение иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8) более 1,24 (ДЧ=91,7%, ДС=50,0%,  $p < 0,05$ ) позволяет прогнозировать развитие

послеоперационной воспалительной реакции у детей 2-5-ти лет. Изучение показателей иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови у детей 6-14-ти лет выявило увеличение относительного и абсолютного количества Th17-лимфоцитов, увеличение относительного количества В2-лимфоцитов, снижение относительного и абсолютного количества NK-клеток при наличии ПВР. Проведение ROC-анализа выявило наиболее информативный показатель в прогнозе развития ПВР – увеличение абсолютного количества Th17-лимфоцитов более 190 клеток/мкл (ДЧ=85,7%, ДС=85,3%,  $p<0,05$ ).

**Заключение.** Для детей в возрасте 2-5-ти лет с врожденными катарактами разработан алгоритм, включающий оценку суммы баллов инфекционного синдрома, реакций на прививки, относительное количество цитотоксических Т-лимфоцитов, активность СДГ в общей популяции лимфоцитов и в популяции активированных Т-лимфоцитов, позволяющий с вероятностью 90% прогнозировать развитие послеоперационной воспалительной реакции (ДЧ=90,0%, ДС=87,5%,  $p<0,05$ ). Для детей в возрасте 6-14-ти лет с врожденными катарактами разработан алгоритм, включающий оценку наличия в анамнезе частых ОРВИ, бактериальных инфекций кожи и подкожно-жировой клетчатки, лимфаденитов, оппортунистических инфекций, суммы баллов аллер-

гического синдрома, токсикоза I-ой половины беременности, реакций на прививки, а также количество Th17-лимфоцитов, активность СДГ в общей популяции лимфоцитов и в популяции Т-лимфоцитов, позволяющий с вероятностью 97% прогнозировать развитие послеоперационной воспалительной реакции (ДЧ=96,7%, ДС=90,3%,  $p<0,05$ ).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сидоренко Е. И., Кудрявцева Е. А., Лобанова И. В. Отдаленные результаты хирургического лечения врожденных односторонних катаракт // Российская педиатрическая офтальмология. – 2007. – № 3. – С. 27-31.
2. Васильев А. В., Егоров В. В., Смолякова Г. П. Характеристика экссудативно-пролиферативных осложнений после аспирации врожденной катаракты с имплантацией ИОЛ у детей различного периода раннего детства // Офтальмохирургия. – 2010. – № 6. – С. 18-20.
3. Е. И. Ковалевский. Болезни глаз при общих заболеваниях у детей. – М.: Медицина, 2003. – 288 с.
4. Нероев В. В., Теплинская Л. Е., Судовская Т. В. Клинико-иммунологические исследования в прогнозировании послеоперационного периода у детей при экстракции врожденной катаракты // Российская педиатрическая офтальмология. – 2009. – № 1. – С. 13-15.
5. Ma F., Wang Q., Wang L. Advances in the management of the surgical complications for congenital cataract // Front. Med. – 2012. – Vol. 6, № 4. – P. 360-365.

### THE CLINICAL-IMMUNOCYTOCHEMICAL FORECASTING ALGORITHMS OF INFLAMMATIVE-PROLIFERATIVE RESPONSES IN CHILDREN WITH CONGENITAL CATARACTS IN THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD

Y. A. Komakh<sup>1</sup>, S. A. Borzenok<sup>1</sup>, S. U. Petrichuk<sup>2</sup>,  
L. V. Kachegura<sup>1</sup>, I. V. Samokhina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution;  
<sup>2</sup>FSBSI «Scientific Center of Children's Health» Moscow, Russia

The results of the study of structure of early postoperative complications after congenital cataract aspiration with IOL implantation in children are presented in the article. At the moment of operation minimal age of the children was 2 years and maximum age was 14 years. For 106 children (114 eyes) the comparison was made between the early postoperative period and the results of blood immunological tests. The risks factors of the early postoperative complications were researched. In the studies provided two algorithms for children aged 2 to 5 years, and from 6 to 12 years including the most significant anamnestic and immunological indicators to predict the development of PTS in the early postoperative period in children with congenital cataracts.

## ИММУННЫЙ СТАТУС ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ ФОРМ СЕБОРЕЙНОГО КЕРАТОЗА

Костенко Е. И., Писклакова Т. П.

ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия

Методом полимеразной цепной реакции установлена высокая частота инфицирования клеток биоптатов себорейных кератом вирусом папилломы человека, с преобладанием микстинфицирования ВПЧ рода beta 1, 2, 3. Исследование иммунного статуса пациентов с ВПЧ-ассоциированными формами СК показало двукратный рост в крови количества лимфоцитов с маркерами ранней позитивной активации (CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>), прямо коррелирующий с показателем вирусной нагрузки, что свидетельствует о непосредственном стимулирующем влиянии ВПЧ на рост пролиферативной активности лимфоцитов.

Себорейный кератоз (СК) относится к доброкачественным эпителиальным опухолям кожи, имеющим характерные разрастания акантотических тяжей эпидермиса с наличием роговых кист [1]. Согласно международной гистологической классификации опухолей кожи «Патология и генетика опухолей кожи» (Pathology and Genetics of Skin Tumors, 2008) себорейный кератоз относится к доброкачественным эпителиальным опухолям, разновидности акантом. Чаще себорейный кератоз поражает лиц пожилого и старческого возраста, гендерных различий не наблюдается. Малоизученными остаются вопросы иммунного реагирования на формирование различных форм себорейного кератоза. Одним из ключевых факторов, способствующих активации пролиферативных процессов в коже с развитием новообразований различной природы является инфицирование клеток кожи ВПЧ [2]. Показано, что определенные характерные фрагменты ВПЧ подавляют активность гена p53 кератиноцитов, что приводит к неконтролируемой пролиферации кератиноцитов. Одной из важных функций кератиноцитов является участие в иммунных реакциях, синтезе IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-3, IL-8, IL-15, IL-19, способности к антигенной презентации, запуску сигнальных путей иммунной реакции и продукции провоспалительных медиаторов [2].

Целью исследования явилось изучение иммунного статуса пациентов с ВПЧ-ассоциированным себорейным кератозом.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на базе ГБУЗ Областной кожно-венерологической диспансер № 3, НИИ иммунологии ГБОУ ВПО Южно-Уральского государственного медицинского университета. Основную группу исследования составили 27 пациентов с себорейным кератозом. Возраст больных с СК на момент проведения исследования составил от 40 лет до 75 лет (средний 59,2  $\pm$  6,4). Верификацию СК проводили с использованием дерматоскопа HEINE 20 (Германия). Детекция вируса папилломы человека рода beta, относящегося согласно таксономической классификации ВПЧ к видовой группе *Human papillomavirus*, в клетках биоптата кожи пациентов с себорейным кератозом (n=27) и контрольной (n=7) осуществлялась с помощью молекулярно-генетического исследования (ПЦР).

Определение ВПЧ в биоптатах СК проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (Real-Time). Для выявления ДНК ВПЧ рода beta были использованы три системы олигонуклеотидов (группоспецифических праймеров и зондов), предоставленных ФГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора (г. Москва). В работе использована модифицированная методика нормирования вирусной нагрузки, предложенная Кладовой А. Ю. (2007) [3]. Расчет нормализованной вирусной нагрузки (ВН) производился согласно следующей формуле:

$VH = Ig ((\text{кол-во ДНК ВПЧ} / \text{кол-во ДНК чел.}) \times 10^5)$ .

Определение популяционного и субпопуляционного спектра лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной цитометрии, на лазерном проточном цитометре Epics™XL™ Beckman Coulter, США. Для окрашивания использованы двухпараметрические реагенты линии IQTest: CD3-FITC/CD19-PE, CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD(16+56)-PE, CD3-FITC/CD25-PE, CD3-FITC/HLA-DR-PE (Beckman Coulter, США). Материалом для иммунофенотипирования служила венозная кровь, собранная натощак.

Достоверность различий оценивали в рамках программы Statistica StatSoft 6.0, согласно критериям непараметрической статистики (U-test Mann-Whitney). Корреляционный анализ проводили по Спирмену с определением направления и знака связи.

**Результаты и обсуждение.** Более чем у 88,8% пациентов с себорейным кератозом в очаге обнаружен вирус папилломы человека, при этом в здоровом участке кожи у этих же пациентов ВПЧ выявлен в 66,6%, что имеет достаточно высокий уровень достоверности различия. Напротив, лица контрольной группы в 71,4% были ВПЧ-негативными. Зафиксированы достоверные различия ( $p=0,001$ ) в частоте обнаружения моно- и микст распределения ВПЧ среди пациентов с себорейным кератозом. При этом, нами не обнаружено статистически достоверных различий по частоте инфицирования ВПЧ моно- и миксткомбинацией ВПЧ рода beta пациентов с СК и здоровыми лицами. Распределение вируса папилломы человека рода beta в биопсийном материале пораженной кожи пациентов с СК: вирус папилломы человека рода beta 1 – выявлен у 22 человек (81,4%), ВПЧ рода beta 2 – выявлен у 21 пациента (77,7%), ВПЧ рода beta 3 – выявлен у 22 пациентов (81,4%). Сочетанное поражение ВПЧ beta 1,2,3 установлено у 21 пациента с себорейным кератозом; ассоциация ВПЧ beta 1,3 обнаружена у 22 человек (81,4%), что указывает на высокую инвазию ВПЧ в пораженные СК участки кожи.

При изучении распределения вируса папилломы человека рода beta у больных с СК в здоровой коже была установлена моноинвазия клеток кожи ВПЧ рода beta 1 у 2 пациентов (7,4%), рода beta 2 – у 4 пациентов (14,8%),

рода beta 3 – у 1 человек (3,7%). Ассоциация ВПЧ рода beta 1,2 имела место у 11 пациентов (40,7%), рода beta 2,3 – у 1 пациента (3,7%), рода beta 1,2,3 – у 10 пациентов (37,03%), ассоциация ВПЧ рода beta 1,3 – не обнаружена. Среди биопсийного материала пациентов с СК ВПЧ негативные образцы зафиксированы у 9 человек (33,3%), причем, у 2 пациентов ВПЧ не обнаружен как в пораженной, так и в здоровой коже.

Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови пациентов с ВПЧ-ассоциированным себорейным кератозом в сравнении с параметрами иммунного статуса контрольной группы, показали отсутствие достоверных различий в количественных показателях красной и белой крови, по численности основных популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов, за исключением почти двукратного повышения в крови количества лимфоцитов с маркерами ранней позитивной активации лимфоцитов ( $CD3^+CD25^+$ ) в группе пациентов с ВПЧ-ассоциированным СК, что отражает готовность лимфоцитов к пролиферации. Анализ взаимосвязей в группе ВПЧ-позитивных пациентов с себорейным кератозом показал, что уровень вирусной нагрузки тесно коррелировал с параметрами адаптивного ( $CD3^+CD25^+$ ), обнаруживая при этом прямые положительные взаимосвязи, что отражает непосредственное стимулирующее влияние ВПЧ на усиление пролиферативной активности лимфоцитов, посредством экспрессии на мембране лимфоцитов рецепторов к интерлейкину-2, который является фактором роста и дифференцировки Т-лимфоцитов.

Таким образом, нами установлена высокая частота инфицирования клеток биоптатов себорейных кератом вирусом папилломы человека, с преобладанием микстинфицирования ВПЧ рода beta 1,2,3. Исследование иммунного статуса пациентов с ВПЧ-ассоциированными формами СК показало двукратный рост в крови количества лимфоцитов с маркерами ранней позитивной активации ( $CD3^+CD25^+$ ), отражающий готовность к росту и дифференцировке Т-лимфоцитов, при этом прямые позитивные связи между данным показателем и стандартизованным количественным показателем вирусной нагрузки свидетельствуют о непосредственном стимулирующем влиянии ВПЧ на рост пролиферативной активности лимфоцитов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ламоткин И. А. О клинике и лечении себорейного кератоза / И. А. Ламоткин, Н. А. Малиновский // Военно-медицинский журнал. – 2010. – Т. 331, № 2. – С.72.
2. Белоусова Т. А. Папилломавирусная инфекция кожи и слизистых оболочек / Белоусова Т. А., Горячкина М. В. // Фарматека. – 2010. – № 1. – С. 32-36.
3. Кладова А. Ю. Разработка и апробация количественного метода определения концентрации бета-папилломавирусов в коже / А. Ю. Кладова, Д. А. Куевда, О. Ю. Шипулина и др. // Молекулярная медицина. – 2007. – № 4. – С.33-40.

## IMMUNE STATUS OF HPV-ASSOCIATED FORMS OF SEBORRHEIC KERATOSES

Kostenko E. I., Pisklakova T. P.

*Medical University South Ural State University, Chelyabinsk, Russia*

Polymerase chain reaction is set high incidence of infection of cells biopsies seborrheic keratitis human papilloma virus, a prevalence of HPV mikstinfitsirovaniya kind of beta 1, 2, 3. The study of the immune status of patients with HPV-associated form SC showed a twofold increase in the number of blood lymphocytes with markers of early positive activation (CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>), directly correlated to viral load, indicating a direct stimulating effect on the growth of HPV-proliferative activity of lymphocytes.

ИФН- $\gamma$  и ММП-9 ПРИ ПСОРИАЗЕ У ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-СТАТУСОМ

Коротаева И. А., Скляр Л. Ф.

*Тихоокеанский государственный медицинский университет,  
Владивосток, Россия*

Псориаз у больных с ВИЧ-инфекцией протекает тяжело, часто являясь инкурабельным, что делает проблему исследования иммунологических особенностей течения псориаза у таких пациентов актуальной. Целью работы явилось изучение уровня ИФН- $\gamma$  и ММП-9 в крови у пациентов с распространенным псориазом в стадии обострения с учётом ВИЧ-инфекции. В результате проведенного исследования выявлено снижение уровня ИФН- $\gamma$  у ВИЧ-позитивных пациентов, и увеличение этого показателя у ВИЧ-негативных больных с псориазом в 3 раза. Уровень ММП-9, в свою очередь, был выше показателей по сравнению с нормой, однако максимальные значения зафиксированы в группе пациентов с ВИЧ-инфекцией и псориазом.

У пациентов с ВИЧ-инфекцией отмечается высокая частота кожных поражений [2]. Они регистрируются у 90% больных в разные сроки болезни и склонны к обширному распространению и тяжелому рецидивирующему течению, что требует правильной, своевременной диагностики и корректного лечения. В частности, согласно результатам исследований, проведенных зарубежными авторами, псориаз встречается у ВИЧ-позитивных больных в 2,5-5% чаще, чем в общей популяции [1]. Псориаз является распространенным, хроническим, рецидивирующим кожным заболеванием, ко-

торое характеризуется пролиферацией кератиноцитов, активацией Т-клеток и патологическим ангиогенезом. Результаты различных клинических и экспериментальных исследований показывают, что псориаз является комплексным, мультифакториальным заболеванием с генетической предрасположенностью [3]. При псориазе отмечены кожные и системные повышенные экспрессии различных провоспалительных цитокинов. Несколько недавних исследований было посвящено отношению между сывороточными уровнями воспалительных цитокинов у больных псориазом и клиниче-

скими параметрами, такими как тяжесть заболевания и ответ на лечение, то есть оценки их роли в качестве биомаркеров [4]. Изменение экспрессии ИНФ- $\gamma$  ассоциируется с рядом воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Исследования сывороточных уровней ИНФ- $\gamma$  при псориазе противоречивы. Кроме того, ИНФ- $\gamma$  положительно коррелирует с тяжестью клинических проявлений псориаза, выражаемой как Индекс площади и тяжести псориазных поражений (Psoriasis Area and Severity Index), что сокращено PASI, и делает проблему изучения этого цитокина актуальной, в частности у пациентов с ВИЧ-инфекцией [3]. Еще одним немаловажным показателем при псориазе являются матриксные металлопротеиназы (ММП). Известно, что при ангиогенезе после расширения сосудов и повышения их проницаемости происходит констрикция эндотелиальных клеток и уменьшение плотности межклеточных контактов [5]. При патологических процессах, таких, как псориаз, ангиогенез усиливается. Под действием определенных факторов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1) усиливается продукция ММП-1, ММП-3, ММП-9, способствующих миграции эндотелиальных клеток, являющихся стимуляторами ангиогенеза [5]. Ангиогенез может быть индуцирован процессами повышения концентрации стимуляторов и снижением содержания ингибиторов или комбинацией того и другого процессов. Это свойственно для псориазного процесса, когда повышен уровень стимуляторов ангиогенеза, тогда как уровень эндогенных ингибиторов снижен. Кроме того, металлопротеиназы участвуют в развитии и регуляции воспалительной реакции, активируя антимикробные белки – продефензины, регулируя миграцию макрофагов и лимфоцитов, проницаемость сосудов, а также регулируя активность воспалительных медиаторов – цитокинов и хемокинов. Таким образом, изучение уровня ММП при псориазе имеет важную диагностическую ценность.

**Целью** нашей работы явилось изучение уровня ИНФ- $\gamma$  и ММП-9 в крови у пациентов с распространенным псориазом в стадии обострения с учётом ВИЧ-инфекции.

**Материалы и методы.** Обследовано 100 пациентов с распространенным вульгарным псориазом у мужчин в возрасте от 25 до 50 лет. Половина из них (50 чел., 50%) имели ВИЧ-инфекцию и, соответственно, другая половина пациентов была по ВИЧ-статусу нега-

тивна. Индекс тяжести и распространенности псориаза (PASI) у исследованных больных варьировал от 20 до 50 баллов (среднее значение индекса составило  $30,4 \pm 0,5$  баллов), что соответствовало умеренной и тяжелой степеням тяжести течения заболевания. Контрольную группу составили 30 здоровых лиц в возрасте от 25 до 50 лет, не имевших на момент обследования клинических и лабораторных признаков заболеваний. Определение уровня ИНФ- $\gamma$  и ММП-9 в сыворотке крови проводили с помощью реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc» (США) методом сэндвич-варианта твердофазного ИФА в соответствии с инструкцией по применению. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием методов описательной статистики с вычислением средней арифметической ( $M$ ), ошибки средней арифметической ( $m$ ), определением минимального и максимального значения показателя ( $\min$ ,  $\max$ ).

**Полученные результаты.** Результаты проведенного исследования показали, что уровень ИНФ- $\gamma$  у ВИЧ-положительных пациентов с распространенным псориазом был почти в два раза ниже, чем в группе контроля и составил  $7,3 \pm 0,65$  пг/мл против  $12,6 \pm 0,8$  пг/мл, соответственно, ( $p < 0,001$ ). В группе ВИЧ-негативных пациентов этот показатель превышал норму в 3 раза и составил  $31,2 \pm 0,58$  пг/мл ( $p < 0,001$ ).

Изучая уровень ММП-9, было выявлено его повышение как у ВИЧ-положительных, так у ВИЧ-негативных пациентов с распространенной формой псориаза. Данный показатель составил  $615,6 \pm 62,3$  нг/мл и  $486,3 \pm 70,7$  нг/мл в указанных группах пациентов, соответственно. При этом, в обеих группах полученные результаты были достоверно отличны от изучаемого показателя в группе контроля, где он составил  $324,5 \pm 40,3$  нг/мл, ( $p < 0,001$ ).

**Выводы.** Известно, что в кератиноцитах ИНФ- $\gamma$  инициирует молекулярную программу, повышающую антивирусную защиту хозяина, затрудняя проникновение вирусов, подавляя пролиферацию клеток и препятствуя их дифференцировке. Таким образом, снижение уровня ИНФ- $\gamma$  у ВИЧ-положительных пациентов, вероятно, является одной из причин более манифестных форм заболевания, а также увеличивает риски присоединения вторичной инфекции.

Еще одной, немаловажной причиной активности псориаза у ВИЧ-положительных пациентов является повышение уровня ММП-9,

что является причиной гиперактивности пролиферации, изменения дифференцировки кератиноцитов, ускорения ангиогенеза в псориазных бляшках, в большей мере, чем у ВИЧ-негативных пациентов, что позволяет рассматривать ММП-9 как маркер активности псориаза при ВИЧ-инфекции.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бартлетт Дж., Галлант Дж., Фарм П. Клинические аспекты ВИЧ-инфекции. 2010.– М.: Р. Валент, 2010.– 490 с.
2. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение /В.В. Покровский, Т.Н. Ермак, В.В. Беляева, О.Г. Юрин; Под общ. ред. В.В. Покровского.– 2-е изд. испр. и доп.– М.: ГЭОТАР-МЕД, 2013.– 488 с.
3. Рубинс Агдрис. Дерматовенерология/ Под ред. А.А. Кубановой.– М.: Издательство Панфилова, 2011.– 368 с.: ил.
4. Хотко А.А. Роль матриксных металлопротеиназ в развитии псориаза и ассоциированной с ним коморбидности (обзор) //Саратовский научно-медицинский журнал.–2013.– № 3.– С.582-584.
5. Ritchlin C. T., Qureshi A. A. Biomarkers in psoriasis and psoriatic arthritis//The journal of Rheumatology.– 2010.– № 1.– P. 21-30.

### IFN- $\gamma$ AND MMP-9 IN PSORIASIS IN PATIENTS WITH HIV-POSITIVE STATUS

I. A. Korotaeva, L. F. Sklyar

*Pacific state medical university, Vladivostok, Russia*

Psoriasis of patients with HIV infection runs hard, often being incurable, which makes the problem of immunological studies peculiarities of psoriasis in these patients relevant. The aim was to study the level of IFN- $\gamma$  and MMP-9 in patients with advanced psoriasis in exacerbation, considering HIV. The study showed a reduction in the level of IFN- $\gamma$  in HIV-positive patients and increasing of this indicator in HIV-negative patients with psoriasis in 3 times. The level of MMP-9, in its turn, was higher than compared to the norm, however, the maximum values were recorded in the group of patients with HIV infection and psoriasis.

---

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПОДРОСТКОВ С РАЗНОЙ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИЕЙ НА ФОРМАЛЬДЕГИД

Кудаева И. В., Маснавиева Л. Б.

*ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»,  
Ангарск, Россия*

Установлено, что в качестве дополнительных диагностических критериев сенсibilизации к формальдегиду в случае проживания в условиях высокой степени загрязнения могут рассматриваться уровень ИЛ-10 в крови и смывах из ротовой полости, средняя иммунореактивность и относительное содержание аутоантител к антигенам Kim и LuM. У подростков, проживающих в условиях средних уровней загрязнения, таковыми являются уровень секреторного иммуноглобулина А в ротовой полости и относительное содержание аутоантител к  $\beta$ 2-глобулину и антигену LuM.

В России около четверти населения страдает той или иной формой аллергии, а в промышленных городах и экологически неблагоприятных регионах данный показатель выше более чем в два раза [3]. Ранее было установлено, что частота таких заболеваний как

аллергический ринит и бронхиальная астма среди детей, проживающих в промышленных городах Восточной Сибири, составляет 28-36% [1]. Одним из химических веществ, относящимся к экополлютантам, обладающих общетоксическим, сенсibilизирующим

и аллергическим действием на организм, является формальдегид.

**Цель** настоящего исследования – сравнить иммунологические показатели у подростков, проживающих в промышленном городе и имеющих различную ответную реакцию на формальдегид.

**Используемые методы.** Обследованы две группы школьников (13-17 лет), постоянно проживающих и посещающих общеобразовательные учебные заведения в районах с различными уровнями загрязнения воздуха. Основную группу обследуемых составили старшеклассники, проживающие и обучающиеся вблизи (1 км) предприятия нефтеперерабатывающей промышленности (76 человек). В группу сравнения вошли 111 подростков того же возраста из района, удаленного от вышеуказанного источника загрязнения, и, как следствие, экологически более чистого. Обследование подростков проводили в начале весны (до наступления периода цветения) после подписания их родителями информированных согласий.

У детей натошак производился забор крови из локтевой вены с помощью вакуумных систем, сбор смывных вод из ротовой полости – в объёме 10 мл физиологического раствора. В сыворотке крови и в смывных водах из ротовой полости методом ИФА был изучен уровень интерлейкина 10 (ИЛ-10), секреторного иммуноглобулина А (sIgA) с использованием тест-систем («Вектор-Бест», Россия) в расчёте на концентрацию белка в пробах, определённую биуретовым методом тест-наборами («Human», Германия); относительное содержание аутоантител (ауто-АТ) класса IgG к 16 различным антигенам, при помощи тест-набора «ЭЛИ-Висцеро-Тест-16» (МИЦ «Иммункулус», Россия). Измерение оптической плотности конечных продуктов иммуноферментных реакций осуществляли при помощи ридера BioTek (США). Среднюю индивидуальную иммунореактивность (СИР) рассчитывали по содержанию всех 16 специфических ауто-АТ. Реакцию торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) проводили с добавлением формальдегида в качестве хематтрактанта, митоген фитогемагглютинин – как положительный контроль. Учет результатов осуществляли визуально на бинокулярной лупе, определяя размер колонии по шкале внутреннего окуляра. Далее вычисляли индекс миграции

по соотношению тестируемых образцов к положительному контролю. Индексы миграции, лежащие за пределами 0,80-1,20, считали положительными.

Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи пакета прикладных программ «Statistica 6.0». После анализа соответствия изучаемых показателей закону о нормальном распределении (тест Шапиро-Уилка) был использован непараметрический критерий Манна-Уитни. Результаты исследований представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей (Me (LQ-UQ)). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Проведенными ранее исследованиями было установлено, что для «грязного» района риск развития иммунологических нарушений составлял 3,68 для «чистого» – 0,40, риск развития аллергопатологии – 1,53 и 1,70 соответственно [2]. По ответной реакции лейкоцитов на формальдегид все обследуемые были разделены на две группы: первую группу составили подростки, имеющие сенсibilизацию на данный экополлютант, вторую – не проявившие подобной реакции.

У подростков, проживающих в районе с высоким уровнем загрязнения, установлено наличие статистически значимых различий между группами в содержании следующих показателей: ИЛ-10 в крови и смывах из ротовой полости. Концентрация данного интерлейкина в крови составил 3,56 пг/мл (2,03; 4,41) у подростков с положительной реакцией на формальдегид и 5,66 пг/мл (3,51; 7,50) – без реакции ( $p=0,003$ ). Содержание ИЛ-10 в смывах из ротовой полости в сравниваемых группах было противоположным: 152,6 пг/мг белка (44,6; 401,4) – в 1 и 53,3 пг/мг белка (21,1; 93,7) – во 2 группе ( $p=0,048$ ). СИР в 1 группе составляла -16,6 (-21,8; -7,6) во 2 группе – -21,8 (-30,2; -17,4) ( $p=0,004$ ). Содержание ат Kim у сенсibilизированных к формальдегиду было ниже, чем у группы сравнения и составило 1,18% (-12,55; 9,98) и 9,04% (0,08; 18,35) соответственно,  $p=0,015$ . Уровень ауто-АТ LuM в 1 группе -3,54% (-24,68; 54,10) был выше, чем во второй – без реакции к формальдегиду -26,55% (-41,36; -11,51)  $p=0,002$ .

У подростков, проживающих в районе со средним уровнем загрязнения, различия между группами в содержании ауто-АТ к LuM имели характер, аналогичный таковому у об-

следуемых из «грязного» района: 13,79% (4,55; 96,84) и -7,09% (-16,14; 1,84) соответственно,  $p=0,001$ . По остальным показателям, имеющим статистически значимую разницу в основной группе обследуемых, различий в зависимости от наличия/отсутствия сенсибилизации к формальдегиду не установлено. В то же время, уровень sIg A в ротовой полости у подростков, проявивших сенсибилизацию к формальдегиду, был выше - 214,3 мкг/мг белка (103,4; 327,9) по сравнению с показателями второй группы - 79,8 мкг/мг белка (40,9; 159,3)  $p=0,01$ . Содержание ауто-АТ к  $\beta$ 2-глобулину в первой группе составило 13,79% (4,55; 96,84); во второй - 8,89% (-25,39; -3,46)  $p=0,03$ ;

В общей группе обследованных подростков были установлены статистически значимые межгрупповые различия по тем же показателями, что и в группе подростков, проживающих в условиях высокого загрязнения. При этом уровень ИЛ-10 в крови у обследованных, обнаруживших сенсибилизацию к формальдегиду, был ниже по сравнению с лицами без реакции к данному аллергену и составил 3,82 пг/мл (2,20; 6,18) и 5,27 пг/мл (3,24; 6,95) соответственно  $p=0,002$ , а в смывах из ротовой полости - выше: 107,78 пг/мг белка (29,1; 406,1) и 67,0 пг/мг белка (22,1; 316,6) соответственно  $p=0,01$ . Что касается относительного содержания ауто-АТ к антигенам почек и легких,

установлено, что уровень ат Kim у сенсибилизированных подростков был ниже и составил -2,67% (-11,40; 9,06), а в группе сравнения - 4,77% (-8,02; 13,59)  $p=0,004$ . В отношении уровня ауто антител к легким установлена противоположная реакция: содержание АТ LuM у сенсибилизированных лиц было выше: 3,32% (-13,77; 33,45) против -11,39% (-26,75; 6,44) в группе сравнения,  $p=0,000005$ . Средний уровень иммунореактивности в обеих группах находился в области отрицательных значений: -21,4 (-34,0; -8,4) и -23,9 (-35,0; -16,0) в первой и второй группах соответственно,  $p=0,02$ .

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абраматец Е. А., Ефимова Н. В. Некоторые эпидемиологические аспекты аллергопатологии у подростков промышленных центров. Сиб. мед. журнал (г. Иркутск), 2011, № 6, Т. 105, с. 216-218.
2. Маснавијева Л. Б., Кудеева И. В., Бударина Л. А., Ефимова Н. В. Некоторые аспекты механизма адаптации подростков, проживающих в районах с различными уровнями загрязнителей промышленного центра // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2011. № 3-2. С. 29-33.
3. Хаитов Р. М., Ильина Н. И. Аллергические болезни в России на рубеже веков. Оценка ситуации в XXI веке: Обзор. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова: Научно-практический журнал, 2005, № 1, с. 170-176.

### THE COMPARATIVE ANALYSIS OF IMMUNOLOGICAL INDICATORS IN TEENAGERS WITH DIFFERENT RESPONSE TO FORMALDEHYDE

I. V. Kudaeva, L. B. Masnavieva

It is established that the IL-10 level in blood and washouts from a mouth, the average immunoreactivity and the auto antibodies abundance to Kim and LuM antigens can be considered as additional diagnostic criteria of a sensitization to formaldehyde in case of accommodation in the conditions of high extent of pollution. At the teenagers living in conditions of the average levels of pollution those are the secretory immunoglobulin A level in a mouth and the auto antibodies abundance to  $\beta$ 2-globulin and to LuM antigens.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ЖЕНЩИН, СТРАДАЮЩИХ БЕСПЛОДИЕМ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ГЕНЕЗА

Курбанов Д. Д., Маликова Д. Б.

*Ташкентская медицинская академия, Андижанский Государственный  
медицинский институт, Ташкент, Андижан, Узбекистан*

Обследованы 84 женщины, страдающие бесплодием воспалительного генеза. Проведенные иммунологические исследования выявили нарушения в содержании популяционного состава лимфоцитов, причем глубина нарушений зависела от клинического состояния. У женщин с сопутствующими гинекологическими заболеваниями наблюдались более глубокие изменения.

*Ключевые слова:* бесплодие, хронические воспалительные заболевания органов гениталий, иммунитет

Хронический воспалительный процесс органов гениталий является одной из важных причин бесплодия. Длительная и часто бессимптомная персистенция инфекционных агентов в организме приводит к выраженным изменениям в структуре органов гениталий [1, 2]. В условиях постоянного присутствия повреждающего агента не происходит завершения заключительной фазы воспаления – регенерации, нарушается тканевой гомеостаз и формируется целый каскад вторичных повреждений. Вызванные нарушения приводят к ишемии и гипоксии ткани [3,4]. Выявлены существенные изменения параметров иммунитета у больных с хроническим сальпингитом в виде активации клеточных и гуморальных провоспалительных реакций, изменения количества Т-лимфоцитов, НК-клеток, макрофагов, титров IgM, IgA, IgG [3,5]. Наряду с морфологическими изменениями нарушение иммунных реакций на локальном уровне могут явиться пусковыми механизмами развития бесплодия [2, 5].

В связи с вышесказанным целью работы явилась оценка параметров иммунитета у женщин с хроническими заболеваниями органов гениталий в зависимости от наличия инфекционных факторов.

**Материал и методы исследования.** Обследованы 84 женщины с бесплодием в возрасте от 18 до 35 лет, обратившиеся в женскую кон-

сультативную поликлинику № 3 г. Андижана. Диагноз хронического воспаления органов гениталий у всех больных был поставлен на основании клинико-инструментального обследования. Обследованные женщины были разделены на 2 группы: I группа – 48 женщин, у которых диагностировали сальпингоофарит. У 36 пациенток, составивших II-ю группу, сальпингоофарит сочетался с другими гинекологическими заболеваниями: хроническим эндометритом, эндоцервицитом и неспецифическим кольпитом. Контрольную группу составили 30 соматически здоровых женщин репродуктивного возраста, в анамнезе которых отсутствовали гинекологические заболевания и в последние 6 мес. до обследований не наблюдались каких-либо воспалительных процессов.

Изучали количественное содержание лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD95 с помощью моноклональных антител серии LT (Институт иммунологии, ТОО «Сорбент», Москва, Россия) в периферической крови. Для определения уровня ЦИК использовали тест-набор Ташкентского малого предприятия «Нихол». Фагоцитарная активность нейтрофилов оценивалась по поглощению лейкоцитами латексных частиц.

Статистическая обработка полученных данных включала вычисление среднего арифметического значения показателя и стандартных ошибок по методу Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** Изучение соматического анамнеза показало, что наиболее распространенной патологией оказалась анемия различной степени тяжести, которой страдали 59% женщин I группы и 64,3% – II группы.

По данным анамнеза болевой синдром наблюдался несколько чаще у пациенток II-ой группы, так же как и дисменорея, имевшая место у каждой 4-й больной этой же группы.

Болевой синдром имел различную интенсивность с локализацией в нижних отделах живота и иррадиацией у части больных в пояснично-крестцовую область. Предменструальные кровянистые выделения оказались более характерными для женщин с сопутствующей патологией гениталий (42,9%), а постменструальные – для больных с изолированной патологией (31,2%).

Анализ результатов иммунологического исследования показал, что у женщин с I-й группы наблюдалось некоторое угнетение активности иммунитета. Уровень CD3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов был достоверно снижен, как в I группе, так и у пациенток II группы (P<0,01). Однако у пациенток с сопутствующими гинекологическими заболеваниями наблюдался более глубокий дефицит – уровень Т-лимфоцитов составил в среднем 43,4 ± 1,1% (P<0,01), а в I группе – 47,8 ± 1,2% против 55,2 ± 1,3% в контроле (P<0,05). Уровень CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов был сниженным в 1,3 раза у женщин с хроническим сальпингоофаритом (P<0,05), а у женщин II группы наблюдалось достоверное снижение в 1,67 раза (13,9 ± 0,8%) по сравнению с данными контрольной группы (24,3 ± 1,0%) (P<0,01).

Одним из важнейших механизмов, вовлеченных в защиту от повреждающего действия антигенов различных микроорганизмов, является определенная субпопуляция Т-клеток – Т-супрессоров/цитотоксических лимфоцитов, а именно, увеличение их количества и активности. У женщин I группы количество CD8<sup>+</sup>-клеток было на уровне контрольных значений, в то время как у женщин II группы уровень CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов достоверно сниженным – 13,9 ± 0,8% по сравнению с показателями контрольной группой 27,6 ± 1,09%, (P<0,05).

Хронический сальпингоофарит характеризовался повышенным содержанием лимфоцитов с молекулой апоптоза – CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов. Максимальное содержание наблюдалось у женщин с хроническим сальпингоофаритом

и с сопутствующими гинекологическими заболеваниями – 31,8 ± 1,3% против 19,8 ± 1,1% в контрольной группе (P<0,01), которое косвенно может свидетельствовать об изменениях процессов апоптоза при данной форме заболевания.

В настоящее время доказано, что на протяжении менструального цикла гибель клеток путем апоптоза и их регенерация происходит в строго регулируемой последовательности и зависит от стадии цикла. Хронические воспалительные процессы в малом тазу при длительном течении и частом рецидивировании могут подвергаться пролиферативным процессам и тем самым, стать фоном, при котором возможно развитие различного рода гиперпластических процессов [1, 2, 4].

Молекула CD16<sup>+</sup> в лимфоцитарном гейте экспрессируется, в основном на НК-клетках, а содержание клеток у женщин, составляющих контрольную группу в среднем было 11,3 ± 0,5%, а в группе женщин с хроническими заболеваниями этот показатель характеризовался достоверно сниженным содержанием (P<0,05), в то время как у женщин 2-й группы число CD16<sup>+</sup>-клеток было сниженным почти в два раза (P<0,01).

Одной из наиболее важных функциональных характеристик нейтрофилов является их фагоцитарная активность. У женщин с сальпингоофаритом наблюдался сниженный уровень фагоцитарной активности, как в первой так и во второй группе (P<0,01). Образование циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в организме является одним из компонентов нормального иммунного ответа, а также играет важную роль в санации организма от возбудителей заболевания [3]. Уровень ЦИК в сыворотке крови был повышенным в 2 раза у женщин I группы (P<0,001) и в 2,6 раза у женщин II группы (P<0,001) в сравнении с уровнем ЦИК у практически здоровых женщин. Увеличение концентрации ЦИК, по-видимому, отражает, с одной стороны, рост антигенной нагрузки, а с другой – эффективность работы систем комплемента и мононуклеарных фагоцитов, контролирующих содержание ЦИК.

Таким образом, у женщин с воспалительными заболеваниями органов гениталий наблюдаются существенные изменения многих параметров иммунной системы, причем более выраженные при сопутствующих гинекологических заболеваниях. Снижение числа CD16<sup>+</sup>-

клеток в основной группе по сравнению с их содержанием у здоровых женщин объясняется следующим – воздействие бактериальных антигенов ведет к синтезу провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8), которые активируют НК [5]. Выраженное снижение НК-клеток не соответствует этим данным. В то же время в исследованиях [5] показано, что при воспалительных процессах через усиление синтеза ИЛ-1 индуцируется активация обмена арахидоновой кислоты с накоплением ее метаболитов, которые оказывают ингибирующее действие на генерацию НК-клеток, что может объяснить полученные данные.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бодыков Г.Ж. Современные проблемы воспалительных заболеваний женских половых органов //Вестник врача общей практики.–2003.–№ 3.– с. 249-250.
2. Гадиева Ф.Г. Взаимосвязь иммунной и эндокринной систем у женщин репродуктивного возраста //Акуш. и гин.–2001.–№ 1.– С. 11-13.
3. Григорьева Т.Ю. Неравномерное вовлечение в активационный апоптоз Т-лимфоцитов субклассов CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> и высокая чувствительность к нему CD30<sup>+</sup> клеток крови здоровых лиц и больных с иммунопатологией //Иммунология.–2002.–№ 5.– С. 262-267.
4. Инфекционная патология нижнего отдела половых путей женщины и бесплодие. Обзор литературы /Е.Б. Рудакова, С.И. Семенченко, О.Ю. Панова //Гинекология.–2004.– Т. 6, № 3.– С. 132-136.
5. Каграманова Ж. А., Сускова В. С., Емец В. И. Состояние иммунной и интерфероновой системы у больных воспалительными заболеваниями придатков матки //Мед. иммунология.–2002.– Т. 4, № 2.– С. 276.

## THE IMMUNOLOGICAL PROFILE OF WOMEN SUFFERING FROM INFERTILITY OF INFLAMMATORY GENESIS

Kurbanov D. D., Malikova D. B.

*Tashkent Medical Academy, Andijan State Medical Institute, Tashkent, Andijan, Uzbekistan*

There were examined 84 women suffering from infertility of inflammatory genesis. Past studies have shown immunological disorders in the population composition of the content of lymphocytes, and the depth of disorders depend on the clinical condition. In women with concomitant gynecological diseases were observed more profound changes.

*Key words:* infertility, chronic inflammatory diseases of the genital immunity

## ЭКСПРЕССИЯ CD25 И CD95 В ПОПУЛЯЦИЯХ Т-ХЕЛПЕРОВ И Т-КИЛЛЕРОВ У БОЛЬНЫХ ПРЕИНВАЗИВНЫМ И МИКРОИНВАЗИВНЫМ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

Курмышкина О. В., Белова Л. Л., Ковчур П. И., Волкова Т. О.

*Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия*

В статье рассматривается дифференциальный профиль изменений численности CD3(+), CD4(+) Т-хелперов и CD3(+) CD8(+) цитотоксических Т-клеток, экспрессирующих маркеры CD25 и CD95, в крови больных с наиболее ранними формами рака шейки матки – интраэпителиальным и микроинвазивным раком. Полученные результаты выявляют возможные механизмы нарушения иммунной регуляции, способствующие развитию данной онкопатологии.

**Актуальность и цель.** Взаимодействие вируса папилломы человека (ВПЧ) и иммунной системы организма опосредовано большим разнообразием тонких механизмов, которые

совместно определяют вероятность развития рака шейки матки (РШМ) и поэтому представляют одну из наиболее актуальных проблем онкоиммунологии. Несмотря на латентный характер жизненного цикла, ВПЧ может эффективно распознаваться иммунной системой и вызывать активацию реакций, приводящих к естественной элиминации вируса и спонтанной регрессии дисплазий цервикального эпителия, наблюдаемой в большинстве случаев инфицирования. Преобладание иммуносупрессорных влияний со стороны различных факторов позволяет ВПЧ ускользать от иммунологического надзора и существенно повышает риск прогрессии новообразования. Появляется все больше свидетельств того, что маркеры активации и подавления клеточных реакций иммунитета могут быть зафиксированы в периферическом кровообращении больных на самых ранних (доинвазивных) этапах развития РШМ и могут предоставлять ценную информацию как о механизмах его патогенеза, так и о возможностях разработки новых подходов к диагностике и лечению. CD25 ( $\alpha$ -цепь низкоаффинного рецептора IL-2) и CD95 (Fas-рецептор клеточной смерти TNFR-семейства) являются маркерами Т-лимфоцитов с двойственной функцией: являясь маркерами активации, CD25 характеризует популяцию иммуносупрессорных регуляторных Т-клеток (Tregs), а CD95/Fas определяет восприимчивость лимфоцитов к апоптогенным стимулам. По результатам ряда исследований, CD4(+) CD25(+) Tregs отводится важная роль в обеспечении прогрессии РШМ, однако, информация о численности данных клеток на этапе пре-/микроинвазивного рака требует уточнений. Также неизвестно, сопровождается ли развитие РШМ изменением доли CD25-экспрессирующих лимфоцитов в популяции CD8(+) Т-клеток. Увеличение содержания CD95(+) циркулирующих Т-лимфоцитов было показано для некоторых солидных опухолей, однако, дифференциальный анализ уровня CD95 в популяциях CD4(+) и CD8(+) Т-клеток при развитии РШМ не проводился. Важно отметить, что фенотипические изменения лимфоцитов периферической крови на этапе пре- и микроинвазивного РШМ представляют особый интерес, так как, с одной стороны, эти нарушения являются узлокальными, с другой стороны, они представляют завершенный результат онкотрансформации.

Цель настоящей работы состояла в исследовании изменений уровня экспрессии CD25

и CD95 в популяциях циркулирующих CD4(+) и CD8(+) лимфоцитов у больных с наиболее ранними формами РШМ.

**Методы.** Образцы крови были получены от 35 пациенток с диагнозом пре- и микроинвазивный плоскоклеточный РШМ, проходивших лечение в ГБУЗ Республиканский онкологический диспансер. Позитивный ВПЧ-статус был подтвержден с помощью ПЦР-диагностики. В каждом случае, первоначальный диагноз был верифицирован методом гистологического анализа. Контрольную группу составили 30 здоровых женщин без ВПЧ-инфекции и патологий шейки матки. Иммунофенотипирование лимфоцитов крови проводилось методом проточной цитофлуориметрии на приборе MACSQuant («Miltenyi Biotech», Германия) с использованием флуорофор-меченных моноклональных антител против CD-антигенов человека: CD3-APC, CD25-APC, CD4-FITC, CD8-FITC, CD95-RPE, CD127-RPE, а также анти-FoxP3-RPE («Dako», Дания; «Miltenyi Biotech», Германия). В каждой пробе анализировали 100 тыс. клеток. Статистическая достоверность оценивалась согласно критерию Уилкоксона-Манна-Уитни (при  $p < 0.05$  различия полагали достоверными).

**Результаты и обсуждение.** 1. Выявлено увеличение численности CD95(+) клеток в суммарной фракции лимфоцитов крови больных РШМ, по сравнению с группой контроля. Анализ уровня экспрессии CD95 в популяции Т-лимфоцитов также показал повышение количества циркулирующих CD3(+) CD95(+) клеток и в особенности субпопуляции CD3(+) CD95(high) в группе больных. Данное наблюдение соответствует представлениям о том, что при хронической антигенной стимуляции (например, вирус-специфичными или опухоль-ассоциированными антигенами) экспрессия CD95 на CD3(+) клетках может увеличиваться. При сравнении численности CD3(+) CD4(+) и CD3(+) CD8(+) лимфоцитов, обнаружена тенденция к повышению количества CD4(+) Т-клеток и, наоборот, достоверное снижение количества CD8(+) Т-клеток в группе больных в сравнении с контролем (при сопоставимом общем содержании Т-лимфоцитов). Процент CD3(+) CD4(+) CD95(+) Т-клеток от общего числа лимфоцитов был повышен в группе больных, также показано значимое увеличение соотношения CD95(+) /CD95(-) Т-хелперов. Особый интерес вызывает выраженное увеличение численности субпопуляции с фенотипом

CD3(+) CD4(+) CD95(high) в крови пациентов с РШМ. Мы также наблюдали снижение доли CD8(+) CD95(+) клеток в популяции CD3(+) Т-лимфоцитов в крови больных относительно контроля, однако, еще более заметным было уменьшение численности CD3(+) CD8(+) CD95(-) лимфоцитов, что может говорить о недостаточном уровне активации цитотоксических Т-клеток и общем угнетении цитотоксической функции иммунной системы. Индивидуальные соотношения CD95(+)/CD95(-) клеток в CD3(+) CD8(+) популяции варьировали сильнее, чем в популяции CD3(+) CD4(+), однако, медианные значения были выше в группе больных, в сравнении с группой контроля. Также наблюдалось незначительное снижение численности клеток, определяемых фенотипом CD3(+) CD8(+) CD95(high), но данное наблюдение нуждается в дополнительном подтверждении. Таким образом, более выраженное увеличение экспрессии CD95 в популяции Т-хелперов указывает на то, что, по-видимому, хелперное звено иммунитета преимущественно отвечает активацией на очаг инфекции и прогрессирующей неоплазии и одновременно может становиться наиболее уязвимым к апоптогенным стимулам, например, со стороны Tregs или опухолевых клеток.

2. Уровень экспрессии CD25 маркера в общей популяции лимфоцитов был существенно повышен в группе больных РШМ. При отдельном анализе CD4(+) и CD8(+) клеток обнаружено увеличение численности CD4(+) CD25(+) лимфоцитов, что согласуется с данными, полученными ранее другими группами исследователей, причем наиболее заметное увеличение выявлено для клеток с фенотипом CD4(+) CD25(high) (фракции Tregs, обладающей наибольшей супрессорной активностью). Для субпопуляции циркулирующих CD8(+) CD25(+) клеток достоверных различий в их численности между группами контроля и больных выявлено

не было, тем не менее, можно отметить тенденцию к увеличению их содержания в крови больных РШМ. При включении в анализ третьего маркера, более точно дифференцирующего популяцию Tregs – FoxP3 или CD127 – наблюдаемые закономерности сохраняются, в частности зарегистрировано достоверное увеличение численности CD4(+) CD25(+) CD127(dim/neg) FoxP3(+). Повышается также представленность клеток с фенотипом CD25(+) CD127(dim/neg) FoxP3(+) в популяции CD8(+) лимфоцитов, хотя общая численность CD8(+) клеток, как было сказано выше, показывает тенденцию к снижению при патологии. Так как достоверных различий в отношении CD4(+) FoxP3(+) и CD8(+) FoxP3(+) между испытуемыми группами обнаружено не было, можно предполагать, что изменение экспрессии CD25 является наиболее специфичным и имеет первостепенное значение в распространении лимфоцитов с фенотипом Tregs на фоне прогрессии цервикальных неоплазий.

**Заключение.** Развитие злокачественной патологии шейки матки на самых ранних этапах сопровождается увеличением экспрессии активационных Т-маркеров CD25 и CD95, при этом обнаруживаются дифференциальные изменения данных параметров для CD4(+) и CD8(+) Т-клеток. Учитывая повышение численности Tregs и показанную нами ранее активацию апоптоз-ассоциированных каспаз в мононуклеарной фракции крови больных РШМ, можно сделать вывод о смещении баланса между процессами активации иммунного ответа и процессами его подавления в сторону последних. Функциональная взаимосвязь между CD95- и CD25-экспрессирующими CD4/8-лимфоцитами требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при поддержке грантов 11.G34.31.0052 (Постановление 220), НК-1404-32098 (РФФИ) и Программы стратегического развития ПетрГУ на 2012–2016 гг.

## EXPRESSION OF CD25 AND CD95 IN T-HELPER AND T-KILLER LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS IN PATIENTS WITH CERVICAL PREINVASIVE AND MICROINVASIVE CANCER

O. V. Kurmyshkina, L. L. Belova, P. I. Kovchur, T. O. Volkova

The article discusses differential pattern of changes of the numbers of CD3(+) CD4(+) T-helpers and CD3(+) CD8(+) cytotoxic T-cells expressing CD25 and CD95 activation markers, in peripheral blood of patients with the earliest forms of cervical cancer – intraepithelial and microinvasive. The results revealed possible mechanisms mediating impairment of immune regulation and thus contributing to disease development.

## ДИНАМИКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ОДОНТОГЕННЫМ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНЫМ СИНУСИТОМ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ДАВНОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Латюшина Л. С., Малышева Л. Ю., Долгушин И. И.

ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия

Проведено исследование 49 пациентов с хроническим одонтогенным верхнечелюстным синуситом с оро-антральным соустьем. Изучена микробная обсемененность верхнечелюстной пазухи в до- и послеоперационном периодах, проведен анализ цитокинового профиля в зависимости от длительности заболевания.

**Актуальность.** В последние годы сформировалась новая концепция патогенеза одонтогенного воспаления [2,5]. Если раньше тяжесть течения воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области связывали с этиологическим фактором заболевания – изменением спектра микрофлоры, вариабельностью ее патогенных свойств, появлением антибиотикорезистентных штаммов, то в настоящее время ведущая роль отводится патогенетическим механизмам, а именно состоянию врожденного и адаптивного иммунитета.

Исследованиями ряда авторов установлено, что у больных с хроническим одонтогенным верхнечелюстным синуситом наблюдается снижение содержания или ослабление активности некоторых местных факторов антимикробной защиты, в результате чего воспаление не реализует одну из главных функций – полную элиминацию патогенов [1,3]. По данным разных ученых при наличии оро-антрального соустья верхнечелюстной синус заселяет микрофлора полости рта. Известно, что при снижении иммунных свойств организма условно-патогенные и сапрофитирующие микроорганизмы могут проявлять свой патогенный потенциал, приобретая способность вызывать или поддерживать гнойно-воспалительный процесс.

**Цель.** Изучить микробный состав и цитокиновый профиль отделяемого верхнечелюстного синуса пациентов с хроническим одонтогенным верхнечелюстным синуситом с различной продолжительностью заболевания в процессе комплексного лечения.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находилось 49 человек в возрасте от 23 до 54 лет с установленным диагнозом хронический одонтогенный верхнечелюстной синусит, оро-антральное соустье. Больные находились на стационарном лечении в отделении челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Областная клиническая больница № 1» г. Челябинска. Средний возраст больных составил 34 (28; 52,75) года. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от продолжительности заболевания: с затяжным течением (до 2-х месяцев) (n = 26) и с континуальным течением (от 2-х месяцев и более) (n = 23). Всем больным проводилось оперативное лечение – гайморотомия с пластическим закрытием оро-антрального сообщения и комплекс медикаментозных мероприятий, включавший: предоперационную антибактериальную профилактику; терапию нестероидными противовоспалительными средствами; применение сосудосуживающих препаратов в полость носа; антисептическую обработку послеоперационной раны.

Для изучения микробиологического состава отделяемого верхнечелюстной пазухи забор материала осуществлялся в день оперативного вмешательства и на 10-12-е сутки послеоперационного периода. Забор содержимого верхнечелюстного синуса для изучения уровня цитокинов проводился в день оперативного вмешательства и на 6, 12 сутки послеоперационного лечения. Изучали концентрацию IL-1RA, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  с исполь-

зованием тест-систем ТОО «Цитокин» (СПб.). Группу контроля составили 14 клинически здоровых доноров без соматической и стоматологической патологии, давших согласие на забор биологического материала, сопоставимых с больными по гендерным и возрастным признакам.

Данные, обработанные методами вариационной статистики, выражали в виде медианы и процентилей ( $M [Q1; Q2]$ ),  $n$  – количество наблюдений в выборке. О достоверности различий судили при помощи непараметрических критериев Вилкоксона, Манна-Уитни. Данные считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ . Результаты исследования обрабатывались на ПЭВМ с использованием пакета прикладных программ «BioStat».

**Результаты.** При первичном микробиологическом исследовании общая обсемененность зоны верхнечелюстного синуса (логарифм числа микробов, КОЕ/мл) при длительности заболевания до 2-х месяцев составила – 4 (3; 5), более 2-х месяцев – 5,5 (4,5; 6). Так же обнаружены качественные различия в составе возбудителей – у пациентов с затяжным течением выявлен преимущественный рост условно-патогенной микрофлоры – у 61,5% больных высевался *St. epidermidis* и далее по убыванию были выделены *St. intermedius* (у 31,8% больных) и *St. aureus* – (в 7,7% случаев). В группе с континуальным течением заболевания был определен иной микробиологический спектр: в равной степени был определен рост патогенной и условно-патогенной микрофлоры – у 43,5% пациентов выделили *St. intermedius*; у 34,8% – *St. aureus*; *St. epidermidis* высевался в 21,7% случаев.

Анализ исходных показателей уровня цитокинов в локальном очаге хронического воспаления позволил определить статистически значимое превышение значений концентрации рецепторного антагониста ИЛ-1 (РАИЛ) (675,8 (567,23; 750), ИЛ-2 (0,56 (0,1125; 1,26) и ИЛ-8 (231,32 (217,6; 345,625) при снижении уровня ИФ- $\alpha$  (8,3 (6,52; 10,3) и ИФ- $\gamma$  (0,02 (0,003; 0,09) (уровень цитокинов в группе контроля – 481,045 (423,1; 631,4); 0 (0; 0,04); 188,55 (61,3; 192,11); 18,4 (15,9; 30,2); 0,2 (0,03; 0,29) соответственно). Указанные сдвиги в выработке цитокинов были наиболее выражены у пациентов с континуальным течением (912 (788,75; 970,5); 0,1 (0,08; 0,129); 273,23 (231,3; 456,32); 6,5 (4,3; 8,29); 0,019 (0,002; 0,05) соот-

ветственно), также у больных этой подгруппы отмечен низкий уровень основного медиатора воспалительных реакций – ИЛ-1 $\beta$  (35,6 (23,7; 54,6), контроль – 46,55 (35,35; 68,4).

К 10-м суткам послеоперационного лечения продолжалось выделение возбудителей в отделяемом верхнечелюстной пазухи и в процессе лечения в группе пациентов с затяжным течением общая обсемененность снижалась до 1,5 (1; 2,5), а в группе с континуальным течением до 2 (1,5; 2). У пациентов первой группы: продолжался рост коагулазо-негативного *St. epidermidis* (выделялся у 77% больных), при уменьшении частоты в посевах *St. intermedius* (в 19,2% случаев) и *St. aureus* (обнаружен у 3,8% пациентов). Аналогичные результаты были получены в группе с континуальным течением болезни при повторном микробиологическом исследовании: лидирующие позиции в посевах (60,8%) были у условно-патогенного возбудителя *St. epidermidis*, и далее по убыванию высевались *St. aureus* (у 21,7% больных) и *St. intermedius* (17,4%).

Иммунологическое исследование в послеоперационном периоде у пациентов с хроническим одонтогенным верхнечелюстным синуситом позволило отметить сохранение высоких концентраций РАИЛ, ИЛ-2, ИЛ-8 и углубление дефицита уровней интерферонов: ИФ- $\alpha$  и ИФ- $\gamma$ . Очевидно, что выявленные сдвиги демонстрируют сохранение напряженной и при этом недостаточно эффективной воспалительной реакции в локальном очаге воспаления. В частности, высокие значения рецепторного антагониста ИЛ-1 могут быть предиктором слабого острого воспалительного ответа, и как следствие, хронизации последнего, с развитием длительного течения локального воспалительно-репаративного процесса с сохранением в очаге патогенной микрофлоры [1, 3, 4].

В динамике лечения уровень ИЛ-1 $\beta$  превысил контрольные значения, что, вероятно, связано с процессами регенерации в области пазухи, но у больных с континуальным течением его значения были ниже (50,8 (44,225; 68,675), чем в группе с затяжным течением (57,6 (45,6; 78,6). [3, 4].

**Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о нарушении микробиоциноза верхнечелюстной пазухи, которое сохраняется и после лечения, в сторону активации условно-патогенных микроорганизмов, протекая на фоне дисбаланса цитокинового профиля.

Более выраженные изменения характерны для пациентов со сроком заболевания более двух месяцев. У данных пациентов продолжается рост условно-патогенной флоры на фоне углубления уровня цитокинов, что может негативно сказаться на послеоперационном течении заболевания.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Демьянов А. В., Котов А. Ю., Симбирцев А. С. Диагностическая ценность исследования уровня цитокинов в клинической практике. Цитокины и воспаление. 2003; 2 (3): 20-35.
2. Иванов Ю. В. Патогенетический подход к профилактике и лечению одонтогенных верхнечелюстных синуситов: Ав-тореф. дис. канд. мед. наук. СПб.; 2009.
3. Останин А. А., Леплина О. Ю., Тихонова М. А. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией. Цитокины и воспаление. 2002; 1 (1): 38-45.
4. Симбирцев А. С. Интерлейкин-1. Физиология, патология, клиника. – СПб.: «Фолиант», 2011. – 480 с.
5. Худайбергенов Г. Г., Гунько В. И. Опыт диагностики и лечения больных с одонтогенным верхнечелюстным синуситом. Стоматология. 2011; 3: 59-61.

#### DYNAMICS OF MICROBIOLOGICAL INDICATORS AND THE LEVEL OF CYTOKINES IN PATIENTS OF CHRONIC ODONTOGENIC MAXILLARY SINUSITIS WITH DIFFERENT DISEAS DURATION

Latyushina L. S., Malysheva L. U., Dolgushin I. I.

South Ural State Medical University (SUSMU), Chelybinsk, Russia

The study involved 49 patients with an established diagnosis of chronic odontogenic maxillary sinusitis, oro-antral fistula: an assessment of microbiological indicators and cytokine profile depending on the duration of the disease.

#### РОЛЬ ПРО-И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ПОЛИМОРФИЗМА ИХ ГЕНОВ ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ РАННЕГО СРОКА

Левкович М. А., Линде В. А., Нефедова Д. Д.

ФГБУ "Ростовский НИИ акушерства и педиатрии" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия

Установлено, что невынашивание беременности при урогенитальной инфекции ассоциировано с дисбалансом иммунорегуляторных цитокинов, наличием полиморфизма А-308 гена TNF- $\alpha$ .

К числу наиболее приоритетных направлений современной медицины относятся вопросы охраны репродуктивного здоровья женщины. Особое место при этом занимает важнейшая проблема практического акушерства – предупреждение преждевременного прерывания беременности. Невынашиванием завершаются не менее 15%, а по некоторым данным – 25-30% беременностей. Исследования

последних лет показали, что формирование патологического течения беременности начинается на ранних сроках развития фетоплацентарной системы [1]. На сегодняшний день, очевидно, что в исходе беременности важную роль играют иммунные взаимоотношения между материнским организмом и плодом, однако, причины нарушения механизмов, обеспечивающих физиологическое течение

беременности и приводящих к акушерской патологии, до настоящего времени остаются недостаточно изученными. Недавний прогресс в изучении иммунологических аспектов беременности привел к пониманию того, что успешная беременность зависит от способности иммунной системы матери сохранять толерантность к отцовским антигенам, а также от наличия иммунного ответа в случае патогенной инфекции [2, 3]. Материнская иммунная реакция определяется сложным комплексом цитокинов, регулирующих рост и развитие плаценты и плода. При физиологической беременности превалируют цитокины Т-хелперов 2 типа (Th2), а цитокины Th1 оказывают пагубное влияние на плод. В ранние сроки беременности отмечается снижение Th1 цитокинов и повышение Th2 цитокинов. Бактериальная и вирусная инфекция индуцирует иммунный ответ Th1 типа, что может влиять на развитие и функцию плаценты и, соответственно, выживаемость плода [4]. Преждевременные роды связаны с повышением синтеза провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые индуцируют синтез простагландинов в плацентарных тканях, приводя к прерыванию беременности.

Целью исследования явилось изучение иммунологических механизмов невынашивания беременности при урогенитальной инфекции.

Было проведено обследование 88 беременных женщин. Из них 62 женщины с невынашиванием беременности и верифицированной урогенитальной инфекцией (I группа) и 26 пациенток с физиологическим течением беременности (контрольная группа).

Определение в сыворотке периферической крови беременных уровня TNF- $\alpha$ , IL-10 проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Bender Medsystems» (Австрия). Определение аллельных вариантов генов TNF- $\alpha$  и IL-10 проводили методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом тест-системами ГосНИИГенетика (Москва). Для оценки состояния фетоплацентарного комплекса проводилось ультразвуковое и доплерометрическое исследование. При определении статистической обоснованности различия исследуемых групп применялся критерий Манна-Уитни и Вилкоксона при максимально допустимом уровне ошибки первого рода  $p=0,05$ .

Известно, что синтезируемый активированными макрофагами децидуальных и трофобластных клеток, TNF- $\alpha$  играет регуляторную роль в процессах инвазии клеток трофобласта и мезинхимальном ангиогенезе, контролируя рост плаценты соответственно нормальному развитию плода. С другой стороны, TNF- $\alpha$  приводит к возникновению локальных микротромбозов в области плацентации с последующей отслойкой плаценты, стимулируют высвобождение арахидоновой кислоты и усиливает выработку простагландинов миометрием, повышая синтез матриксной металлопротеиназы. В нашем исследовании при невынашивании беременности и урогенитальной инфекции по сравнению с группой с физиологическим течением беременности установлено достоверное повышение TNF- $\alpha$  в сыворотке крови ( $55,2 \pm 10,2$  пг/мл против  $10,3 \pm 2,2$  пг/мл). Можно предположить, что негативное влияние повышенного уровня TNF- $\alpha$  у беременных при урогенитальной инфекции может быть связано как с эмбриотоксическим эффектом, так и с активацией протромбиназы, что обуславливает угрозу прерывания беременности и развитие плацентарной недостаточности. Вероятно, компоненты урогенитальных патогенов являются индуцирующими продуктами синтеза TNF- $\alpha$  в сыворотке крови при невынашивании беременности. Учитывая, что IL-10, как противовоспалительный цитокин, обладая способностью угнетать клеточно-опосредованные иммунные реакции, оказывает протективное действие на нормальное течение беременности нами было обнаружено, что его содержание в сыворотке крови в группе I было достоверно ниже, чем в группе с физиологическим течением беременности, ( $0,6 \pm 0,01$  пг/мл против  $1,9 \pm 0,2$  пг/мл). Возможно, что недостаточная продукция IL-10 при урогенитальной инфекции приводит к усилению клеточно-опосредованных иммунных реакций, снижению протективного действия на нормальное течение беременности.

Уровни иммунологической реактивности закреплены генетически, а полиморфизм генов, кодирующих экспрессию TNF- $\alpha$  и IL-10 может приводить к альтерации продукции про- и противовоспалительных цитокинов, дифференцировке в направлении Th1, неблагоприятной для течения беременности. Проведенные исследования частоты генотипов и аллелей IL-10 не выявили статистически значимых различий в распределении частоты полиморфизмов G1082A

гена IL-10 между пациентками I и контрольной группы. При анализе частоты полиморфизма генов TNF- $\alpha$  установлено что у беременных с невынашиванием беременности и урогенитальной инфекцией по сравнению с контрольной группой частота генотипа GA гена TNF- $\alpha$  встречалась достоверно чаще (26,3% и 14,4% соответственно,  $p < 0,05$ ), а генотипа GG гена TNF- $\alpha$  достоверно реже (53,2% и 78,9%), соответственно,  $p < 0,05$ ).

Следовательно, у носителей аллеля A гена TNF- $\alpha$  риск развития невынашивания беременности выше, а генотип GG является протективным, что способствует более благоприятному течению беременности. Таким образом, дисбаланс продукции TNF- $\alpha$  и IL-10, аллельный полиморфизм гена TNF- $\alpha$  в точке A-308 могут являться маркерами риска невынашивания беременности при урогенитальной инфекции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сухих Г. Т., Сидельникова В. М., Тетруашвили Н. К. Ведение первого триместра к женщин с привычными ранними гестационными потерями, обусловленными иммунологическими нарушениями // Вестник Российского университета дружбы народов, 2009. – N 6. – С. 125-130.
2. Газиева И. А. Чистякова Г. Н. Ремизова И. И. Тарасова М. Н. Нарушение иммунной регуляции на этапе плацентации как причина репродуктивных потерь // Проблемы репродукции. – 2011. – N 4. – С. 102-107.
3. Сотникова Н. Ю., ред. Иммунологическая загадка беременности. Иваново: Изд-во МИК; 2005. 275 с.
4. Левкович М. А. Современные представления о роли цитокинов в генезе физиологического и патологического течения беременности // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – № 3. – С. 37-40.

## THE ROLE OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES AND POLYMORPHISMS OF THEIR GENES WITH MISCARRIAGE PREGNANCY EARLY PERIOD

Levkovich M. A., Linde V. A., Nefedova, D. D.

*Rostov research Institute of obstetrics and Pediatrics of the Ministry of health of the Russian Federation, Rostov-on-don, Russia*

It is established that a miscarriage when urogenital infections associated with an imbalance of immunoregulatory cytokines, the presence of the polymorphism A-308 gene TNF- $\alpha$ .

## СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ЦНС У НОВОРОЖДЕННЫХ

Левкович М. А., Линде В. А., Плахотя Т. Г., Левкович А. Ю.

*ФГБУ "Ростовский НИИ акушерства и педиатрии" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия*

Установлено, что смещение цитокинового баланса в околоплодных водах беременных с хронической плацентарной недостаточностью сторону продукции провоспалительных цитокинов ассоциировано с повышением нейроспецифических белков S-100 $\beta$  и ОБМ. Выявленные иммунные сдвиги могут быть использованы для диагностики и прогноза церебральных нарушений у их новорожденных.

Проблема гипоксии плода и новорожденно-го является актуальной, что обусловлено высокой частотой данной патологии, на долю кото-

рой приходится до 80% всех неврологических заболеваний детского возраста, характеризующихся инвалидизацией и социальной дезадап-

тацией детей [1,2]. Наиболее частой причиной данной патологии является гипоксически-ишемическое поражение ЦНС, приводящее к развитию в последующем кровоизлияний, атрофических изменений головного мозга. В этом аспекте особенно важное значение имеет плацентарная недостаточность, которая будучи частым осложнением беременности (от 14 до 22%), сопровождается комплексом нарушений транспортной, трофической и метаболической функций плаценты и связанной с этим хронической гипоксией плода [3,4]. Гипоксически-ишемические поражения ЦНС новорожденного, как следствие дисфункции фетоплацентарного комплекса, осложняются не только нарушениями центральной регуляции, но и особенностями перестройки основных гомеостатических систем, обеспечивающих адаптацию ребёнка [5]. Иммунные медиаторы играют особую роль в запуске реакций воспаления и нарушений микроциркуляции, повышении проницаемости ГЭБ. Нарушение проницаемости ГЭБ обуславливает возможность выхода нейроспецифических белков (НСБ), обладающих высокой антигенностью, в интерстициальное пространство. При этом возникшие морфологические изменения ведут к высвобождению первичных медиаторов воспаления, что сопровождается рядом клинических симптомов.

**Целью** исследования явилось изучение иммунологических механизмов формирования церебральных нарушений у новорожденных от матерей с наличием хронической плацентарной недостаточностью.

В исследование были включены 70 беременных женщин в сроке 38-39 недель гестации, разделенные на клинические группы в зависимости от диагноза невропатолога у их новорожденных в первые сутки после рождения. I группа практически здоров (n=25), II группа – церебральная ишемия (n=45). Определение в периферической крови и околоплодных водах беременных уровня IL-4, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием диагностических наборов “Цитокин”, Санкт-Петербург, ОБМ и S-100 с использованием диагностических наборов “Sigma”, США. Для оценки состояния фетоплацентарного комплекса проводилось ультразвуковое и доплерометрическое исследование. При определении статистической обоснованности различия исследуемых групп

применялся критерий Манна-Уитни и Вилкоксона при максимально допустимом уровне ошибки первого рода  $p=0,05$ .

Иммунологические процессы в организме беременной определяют физиологическое течение беременности, а нарушение регуляции иммуногенеза в перинатальном периоде, может стать ведущей причиной необратимых структурных повреждений мозга. Согласно современным исследованиям, TNF- $\alpha$  усиливает постишемическое повреждение мозга, оказывая провоспалительное и прокоагулянтное действие на эндотелий, что ведет к нарушению микроциркуляции. Во II группе по сравнению с I группой обнаружены статистически значимые различия содержания TNF- $\alpha$  как в периферической крови ( $64,2 \pm 10,9$  пг/мл против  $17,2 \pm 6,9$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), так и в околоплодных водах ( $89,2 \pm 6,7$  пг/мл против  $37,1 \pm 9,0$  пг/мл ( $p < 0,01$ ), соответственно. Биологический эффект данного цитокина выражается в прогрессировании гипоксии, стимулировании синтеза других цитокинов и проникновении лейкоцитов в очаг ишемии.

IFN- $\gamma$  – основной цитокин, связанный с развитием демиелинизирующих процессов. Оверэкспрессия IFN- $\gamma$  в белом веществе мозга ведет к полному отсутствию миелина, кроме того усиливает процессы апоптоза и некроза. Исследование содержания IFN- $\gamma$  выявило достоверные однонаправленные отличия его содержания, как в сыворотке крови, так и в околоплодных водах во II группе по сравнению с I группой ( $70,9 \pm 15,6$  пг/мл против  $26 \pm 2,9$  пг/мл и  $90,4 \pm 13,8$  пг/мл против  $17,8 \pm 5,9$  пг/мл).

Содержание IL-4 было снижено в сыворотке крови и в околоплодных водах в группе беременных с хронической плацентарной недостаточностью, родивших детей с манифестацией перинатального поражения ЦНС (II) по сравнению с I группой в 2 раза и 1,5 раза, соответственно ( $22,9 \pm 9,5$  против  $46 \pm 8,2$  пг/мл, ( $p < 0,05$ ) и ( $13,3 \pm 1,3$  пг/мл против  $20,2 \pm 2,1$  пг/мл, ( $p < 0,05$ ), при этом не происходит регуляции провоспалительной функции моноцитов и макрофагов. Известно, патологический процесс в мозге приводит к нарушению структурно-функциональной целостности ГЭБ. Уровень нейроспецифического белка S-100 $\beta$  в околоплодных водах во II группе достоверно превышал показатели контрольной группы ( $3021,6 \pm 788,2$  нг/л против  $660,45 \pm 247$  нг/л), аналогичные сдвиги выявлены и для

ОБМ ( $5,61 \pm 0,7$  нг/мл и  $2,1 \pm 0,1$  нг/мл, соответственно).

По нашему мнению, дисбаланс уровня про и противовоспалительных цитокинов, обусловленный их участием в иммунной реакции организма под воздействием гипоксии, приводит к развитию воспалительных реакций в ЦНС, что проявляется нарушением ликвородинамики. инициирует процессы, приводящие к гибели нейронов и глиальных клеток и способствует попаданию в системный кровоток мозговых антигенов. С другой стороны, антигенная стимуляция приводит к усилению выброса цитокинов.

Таким образом, изучение иммунологических механизмов развития перинатального поражения ЦНС, выявление характера иммунного ответа на системном и локальном уровне позволит разработать прогностические критерии данной патологии, что будет способствовать снижению детской инвалидизации путем раннего назначения патогенетической терапии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Петрухин А. С. Детская неврология: в 2-х т. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 845 с.
2. Барашнев Ю. И., Розанов А. В., Панов В. О., Волобуев А. И. Роль гипоксически – травматических повреждений головного мозга в формировании инвалидности с детства // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2006. – № 4. – С. 41-46.
3. Манухин И. Б., Маркова Е. В., Стрюк Р. И. Оптимизация комплексного лечения беременных с гестозом и фетоплацентарной недостаточностью // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – № 2. – С. 26-29.
4. Chou A. K., Hsieh S. C., Su Y. N. et al. Neonatal and pregnancy outcome in primary antiphospholipid syndrome: a 10-year experience in one medical center // *Pediatr. Neonatol.* – 2009. – Vol. 50, N 4. – P. 143-146.
5. Липатов И. С., Тезиков Ю. В. Прогнозирование и диагностика плацентарной недостаточности на основе маркеров эндотелиальной дисфункции, децидуализации, апоптоза и клеточной пролиферации // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2011. – т. 7. – № 1. – С. 52-59.

## MODERN ASPECTS OF THE FORMATION OF PERINATAL LESIONS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN NEWBORNS

Levkovich M. A., Linde V. A., Plahotya T. G., Levkovich A. Y.

*Rostov research Institute of obstetrics and Pediatrics of the Ministry of health of the Russian Federation, Rostov-on-don, Russia*

It is established, that the shift of cytokine balance of amniotic fluid in the production of proinflammatory cytokines associated with an increase protein S-100 $\beta$  and myelin basic protein. Identified immune shifts can be used for diagnosis and prognosis of cerebral disorders in their newborns with the purpose of early appointment of adequate treatment, which will reduce the frequency of the disabilities in this category of children.

## ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА 1 НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ В КУЛЬТУРАХ ТИМОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Логина Н. П.<sup>1</sup>, Шилов Ю. И.<sup>1,2</sup>, Шилов Д. Ю.<sup>1,2</sup>,  
Годвалов А. П.<sup>1</sup>, Четвертных В. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО "Пермский государственный медицинский университет  
им. академика Е. А. Вагнера" Минздрава России; <sup>2</sup>ФГБУН Институт  
экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

Установлено, что при врожденных пороках сердца с выраженной недостаточностью кровообращения и клиническими проявлениями циркуляторной гипоксии (синие пороки) отменяется стимулирующее действие инсулиноподобного фактора роста 1 на продукцию в культурах тимоцитов интерферона- $\gamma$  и интерлейкина-4.

*Ключевые слова:* тимоциты, цитокины, IGF-1, врожденный порок сердца, дети

**Введение.** Инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) играет ключевую роль в регуляции внутритимической дифференцировки Т-лимфоцитов и их пролиферации, обеспечивая ауто- и паракринный контроль развития Т-клеток, а также взаимосвязь с нейроэндокринной системой [4, 5]. Ранее нами было показано, что у детей с врожденными пороками сердца характерно снижение пролиферации тимоцитов в сочетании с нестабильной и дистрофически измененной структурой ретикулярных эпителиоцитов при исследовании *in vivo*. В условиях *in vitro* в группе детей с врожденными пороками сердца усиливается ответность лимфоцитов на конканавалин А, что, возможно, связано с костимулирующим эффектом клеточного стресса в ответ на повреждение клеток гипоксией [1]. Установлено, что при культивировании CD4<sup>+</sup> тимоцитов детей с синими пороками наблюдается повышение экспрессии как FOXP3, так и IL-17A в сравнении с белыми пороками [2]. Однако возможное участие IGF-1 в регуляции дифференцировки тимоцитов и продукции ими цитокинов в условиях циркуляторной гипоксии при врожденных пороках сердца ранее не исследовалось.

**Цель работы** – исследование влияния IGF-1 на продукцию цитокинов тимоцитами детей с врожденными пороками сердца.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили тимоциты, выделенные

из фрагментов тимуса детей первого года жизни. Тимус получали во время операций по поводу коррекции врожденных пороков сердца в соответствии с существующей хирургической практикой Федерального краевого центра сердечно-сосудистой хирургии г. Перми. В зависимости от сложности порока сердца, определяющего степень гипоксии, были выделены две группы детей: 1-я – с синим (тяжелым) пороком, сопровождающегося право-левым сбросом крови и смешиванием артериальной и венозной крови (тетрада Фалло; аномалия Эбштейна; транспозиция магистральных сосудов); 2-я – с белым или бледным пороком, имеющим лево-правый сброс крови, без смешивания артериальной и венозной крови (дефект межжелудочковой перегородки; дефект межпредсердной перегородки).

В работе использовали забуференную культуральную среду, которую готовили *ex tempore* на основе среды 199 (ПанЭко, Россия) с добавлением 2 mM L-глутамин (Reanal, Венгрия), 10 mM HEPES (Sigma, США). Клетки отмывали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 15 мин, а затем ресуспензировали в 1 мл забуференной культуральной среды без сыворотки и подсчитывали число выделенных клеток в камере Горяева. Культивирование тимоцитов осуществляли в пластиковых круглодонных 96-луночных планшетах («Медполимер», Санкт-Петербург). Каждая культура

содержала  $2 \times 10^5$  клеток в 0,2 мл полной культуральной среды, которую готовили *ex tempore* на основе среды 199 с добавлением 2 mM L-глутамин (Reanal, Венгрия), 10 mM HEPES (Sigma, США), 100 мкг/мл гентамицина сульфата и 10% сыворотки крови плодов коровы (Биолот, Россия). В качестве Т-клеточного митогена использовали конканавалин А (Con A, Sigma-Aldrich, США, C0412) в концентрациях 5 мкг/мл. Все пробы ставили в повторах. Культивирование осуществляли во влажной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> при 37°C в течение 72 ч. IGF-1 (Sigma-Aldrich, США, I3769) вносили в культуры в момент их постановки в концентрациях  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  M. В качестве контролей во всех исследованиях использовали: 1) культуры без IGF-1 и митогенов; 2) культуры с внесением только митогенов.

Определение концентрации интерферона- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-10 (IL-10) и интерлейкина-17 (IL-17) в супернатантах культур проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем согласно инструкции производителя («Интерферон гамма», Вектор-Бест, Новосибирск; «Интерлейкин 4», Вектор-Бест, Новосибирск; «Интерлейкин 10», Вектор-Бест, Новосибирск; «Интерлейкин 17», Вектор-Бест, Новосибирск).

Статистический анализ результатов проводили с учетом log-нормального распределения показателей концентрации цитокинов в культурах с помощью *t*-критерия Стьюдента для парных данных. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что при внесении IGF-1 в концентрациях  $10^{-7}$  и  $10^{-9}$  M в культуры тимоцитов пациентов с белыми пороками наблюдается стимуляция продукции IFN- $\gamma$  ( $p < 0,05$  при сравнении с аналогичными культурами без внесения гормона). В культурах тимоцитов, полученных от больных с синими пороками, статистически значимое влияние IGF-1 на продукцию IFN- $\gamma$  отсутствует.

В культурах тимоцитов, полученных от пациентов с белыми пороками, IGF-1 в концентрациях  $10^{-7}$  и  $10^{-8}$  M стимулирует продукцию IL-4 ( $p < 0,05$  по отношению к культурам без внесения гормона), но не влияет на нее при синих пороках. Концентрация IL-10 в культурах тимоцитов с внесением IGF-1 во всех концентрациях статистически значимо не из-

меняется у детей как с белыми, так и с синими пороками. IGF-1 в концентрации  $10^{-7}$  и  $10^{-9}$  M стимулирует продукцию IL-17 в культурах тимоцитов, полученных от пациентов как с белыми, так и с синими пороками ( $p < 0,05$  по отношению к культурам без внесения гормона).

При анализе полученных результатов обращает на себя внимание, что у детей с менее выраженными нарушениями гемодинамики (белые пороки) IGF-1 стимулирует продукцию IFN- $\gamma$ , IL-4 и IL-17, при этом, несмотря на повышение уровня IL-4, концентрация IL-10 не изменяется. У детей с более выраженными нарушениями кровообращения (синие пороки) вследствие развития циркуляторной гипоксии выключается стимулирующее действие IGF-1 на продукцию IFN- $\gamma$  и IL-4, но сохраняется активирующий эффект на продукцию IL-17. Снижение дифференцировки тимоцитов у детей с синими пороками, на наш взгляд, может быть связано с вызванным циркуляторной гипоксией нарушением в митохондриях окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты, реакций цикла Кребса и тканевого дыхания. Эти изменения могут опосредоваться через увеличение продукции интенсивно исследуемого в последние годы гипоксией-индуцибельного фактора- $\alpha$  (англ. hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  или HIF-1 $\alpha$ ) [3]. В свою очередь, изменения уровня HIF-1 $\alpha$ , могут определять направление дифференцировки макрофагов и дендритных клеток [3]. Следует, тем не менее, подчеркнуть, что конкретные механизмы участия HIF-1 $\alpha$  и гипоксии в регуляции дифференцировки тимоцитов изучены недостаточно и поэтому этот аспект представляется важным для дальнейших исследований.

Таким образом, при врожденных пороках сердца с выраженной недостаточностью кровообращения и клиническими проявлениями циркуляторной гипоксии (синие пороки) отменяется стимулирующее действие инсулиноподобного фактора роста 1 на продукцию в культурах тимоцитов интерферона- $\gamma$  и интерлейкина-4.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Логинова Н. П., Шилов Д. Ю., Годвалов А. П., Шилов Ю. И., Лебединская О. В., Четвертных В. А. Российский иммунологический журнал 2014, 8 (17), № 3, 340-342.
2. Логинова Н. П., Заморина С. А., Орлова Е. Г., Ширшев С. В. Рецепторы и внутриклеточная

- сигнализация. Сб. ст. Т. 1. Пушино: цифровая типография Fix-Print, 2015, 39-44.
3. Kelly B., O'Neill L. A. Cell Research 2015, Jun 5. doi: 10.1038/cr.2015.68.
4. Savino W., Dardenne M. Curr. Opin. Pharmacol. 2010, 10 (4), 434-442.
5. Weigent D. A. Cellular Immunology 2013, 285 (1-2), 118-132.

## EFFECTS OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR 1 ON THE CYTOKINE PRODUCTION IN THYMOCYTE CULTURES OF CHILDREN WITH CONGENITAL HEART DISEASE

N.P. Loginova<sup>1</sup>, Ju.I. Shilov<sup>1,2</sup>, D. Ju. Shilov<sup>1,2</sup>,  
A.P. Godovalov<sup>1</sup>, V.A. Chetvertnykh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>E. A. Wagner Perm State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia;

<sup>2</sup>Institute of Ecology and Genetics of microorganisms UB RAS, Perm, Russia

It was established that stimulatory effect of insulin-like growth factor 1 on the production of interferon- $\gamma$  and interleukin-4 in cultures of thymocytes of children with congenital heart disease was abolished under severe circulatory failure and clinical manifestations of circulatory hypoxia (blue vices).

*Key words:* thymocytes, cytokines, IGF-I, congenital heart disease, children

## ЧАСТО БОЛЕЮЩИЕ ДЕТИ: ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ПРОФИЛАКТИКИ

Лукашевич М. Г., Карпов В. В., Сафроненко Л. А.,  
Абаева Н. Г.

*ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» МЗ РФ,  
Ростов на Дону, Россия*

Частая заболеваемость детей острыми респираторными заболеваниями и сложности, возникающие при реабилитации таких детей, создают необходимость поиска новых диагностических подходов и оптимизации лечебной тактики. Выявление иммунодефицита делает необходимым проведения иммунокоррекции. Показана эффективность использования препарата Имунофан в реабилитации часто болеющих детей.

Повторные заболевания органов дыхания у детей раннего возраста представляют серьезную медико-социальную проблему, остающуюся одной из приоритетных в отечественной педиатрии. Именно в раннем детстве происходит становление регуляторных, в первую очередь и иммунной, систем, и именно на этот ответственный период приходится максимальный контакт с различными возбудителями и аллергенами. От формирования адекватной защитной реакции на них зависит состояние здоровья в последующие возрастные периоды и истоки хронических и рецидивирующих за-

болеваний органов дыхания. Невозможность или неполнота иммунного ответа способствуют проникновению вирусов в эпителиальные клетки дыхательных путей, развитию в них дистрофических изменений вплоть до некроза. Исходом такого процесса становится нарушение целостности респираторного эпителия, дезорганизация иммунологического реагирования, активация сапрофитной микрофлоры, формирование очагов дополнительной инфекции, и, как следствие, весь комплекс проблем, обусловленных повторными заболеваниями [1]. Следовательно, иммунокоррекция как

метод терапии у часто болеющих детей патогенетически обоснован, что и предопределило его широкое распространение в педиатрии [2]. Особую значимость изменения иммунного статуса имеют у детей с повторными обструкциями дыхательных путей [3]. Стрессорная реакция, связанная с повторными эпизодами остро возникшей гипоксии, приводит к истощению коры надпочечников, дезинтеграции гипофизарно-надпочечниковой системы, что, являясь одним из факторов дисрегуляции иммунных реакций и нейромедиаторного дисбаланса, способствует рецидивированию эпизодов обструкции дыхательных путей и создает основу формирования бронхиальной астмы в дальнейшем.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение иммунного статуса у часто болеющих респираторными заболеваниями детей первых трех лет жизни.

**Методы исследования.** Обследовано 230 часто болеющих (имеющих 6 и более эпизодов острых респираторных инфекций в год) детей в возрасте от 1,5 до 3 лет (средний возраст 2,6 года). Показатели контрольной группы представлены данными, полученными у условно здоровых детей в лаборатории научно-исследовательского института иммунологии РостГМУ. Оценку параметров иммунного статуса проводили согласно методике Л. В. Ковальчука (1999 г.). Определяли содержание  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD20^+$ , а также  $CD16^+$ , маркирующих популяцию натуральных киллеров, гранулоцитов, макрофагов. Сывороточные IgA, M, G определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле (Machine et al 1965). Концентрацию общего IgE в сыворотке определяли методом ИФА с использованием тест-систем «Ветор-Бест» (Новосибирск). Интегральная кислородзависимая микробицидность нейтрофилов оценивалась в спонтанном и стимулируемом НСТ-тесте (Мельников В. А., 1991 г.) Уровень ЦИК определяли методом их преципитации полиэтиленгликолем 6000 по В. Ю. Климову. Th1 и Th2 лф определяли по коэкспрессии IL-2 и IL-4 на  $CD4^+$  лимфоцитах. Также проводили оценку продукции таких провоспалительных цитокинов как ФНО-альфа и ИНФ-гамма, индуцированную и спонтанную продукцию (Гольдберг Е. Д. и соавт., 1992). Уровень цитокинов оценивали в супернатантах с помощью иммуноферментного метода с наборами фирмы «Протеиновый контур».

**Результаты.** В группе часто болеющих детей наблюдался ряд статистически достоверных отличий от показателей контрольной группы. Так, выявлено достоверное снижение количества зрелых Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ), преимущественно за счет клеток, относящихся к хелперно-индукторной субпопуляции ( $CD4^+$ ). Кроме того, наблюдалось уменьшение количества зрелых В-лимфоцитов ( $CD20^+$ ) на фоне повышения незрелых ( $CD72^+$ ), снижение иммунорегуляторного индекса. Угнетение фагоцитарного звена выражалось в уменьшении уровня моноцитов, экспрессирующих CD14, а также в снижении функциональной активности нейтрофилов, а именно, фагоцитарного числа. При оценке цитокинового статуса больных отмечается повышение спонтанной продукции IL-2, IL-4 и TNF- $\alpha$  на фоне снижения уровня IFN- $\gamma$ , что мы расцениваем как проявление нарушений противовирусного иммунитета, которое может являться инициальным фактором развития инфекции. При исследовании гуморального звена иммунного ответа выявлено некоторое повышение IgE (как результат повышенной продукции Th-2 типа) в ущерб реакциям клеточного иммунитета. Повышение уровня IgM в сыворотке в целом по группе можно охарактеризовать только в виде тенденции, так как оно регистрировалось не у всех больных и демонстрировало значительную вариабельность данных. Кроме того, выявлено достоверное снижение IgA и тенденция к снижению IgG.

Препаратом выбора стал иммуномодулятор Имунофан – регуляторный пептид четвертого поколения. При терапии имунофаном отмечается стабилизация уровня продукции свободных форм кислорода фагоцитами до значения физиологической нормы, что позволяет сохранить их резервные возможности. Имунофан действует на клеточном уровне: с одной стороны он стимулирует продукцию IL-2 иммунокомпетентными клетками, с другой – экспрессию CD25, обеспечивает восстановление пролиферативной активности лимфоцитов. Применение имунофана в комплексном лечении ЧБД способствовало положительным иммунологическим изменениям. Так, отмечено статистически значимое повышение содержания Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ) и моноцитов ( $CD14^+$ ) по сравнению с исходным на фоне снижения содержания незрелых В-лимфоцитов ( $CD72^+$ ). Уровни гуморальных факторов им-

мунитета у детей этой группы также претерпели выраженные позитивные изменения: обнаружено статистически достоверное снижение уровня IgM с  $1,43 \pm 0,12$  до  $(0,92 \pm 0,14)$  г/л, спонтанной продукции IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  в 1,5-2 раза при повышении уровня IFN- $\gamma$  и IgA. Установлено, что после проведения лечения с применением иммунофана статистически достоверно меняется 10 показателей иммунного статуса, причем изменения характеризуют направленность к его нормализации. Исходно у больных отличалось от нормы 8 показателей клеточного и гуморального иммунитета; после лечения – только 3, причем один из них, а именно, уровень естественных киллеров с маркером CD16 превышал показатели здоровых детей.

Давно известно, что при стрессе, в качестве которого в данном контексте можно рассматривать инфекцию в сочетании с острой гипоксией, происходит повышение уровня в крови не только глюкокортикоидов, в частности, кортизола, но и основного медиатора аллергических реакций гистамина. Поскольку у ЧБД установлено преобладание продукции IL-4 над IFN- $\gamma$ , можно предположить преобладание у них Th2 над Th1, а, следовательно, гуморальных реакций над клеточными. Уровень IgE с одной стороны, стимулируется продуктом и регулятором Th 2-го типа IL-4, а с другой контролируется кортизолом, про-

изводное которого способствует интенсивному синтезу IgE-супрессивного фактора. Более низкое содержание кортизола в группе ЧБД по-видимому способствует недостаточности продукции этого фактора, а более высокий уровень IL-4 обеспечивает через Th2 высокий синтез IgE на фоне подавления факторов врожденного и адаптивного клеточного иммунитета. Таким образом, можно полагать, что одним из патогенетических звеньев формирования повторных обструкций дыхательных путей у детей раннего возраста на фоне повторных ОРЗ, является неадекватное повышение уровня кортизола, сопряженное с доминированием гуморальных иммунных реакций и угнетением фагоцитарного и T-клеточного звеньев иммунной системы, не обеспечивающих оптимальную реакцию на патоген.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Романцов М. Г., Мельникова М. Ю. Часто болеющие дети: актуальная проблема педиатрии // Успехи современного естествознания. 2014. № 10. С. 16-18.
2. Учайкин В. Ф. Иммунокоррекция в педиатрии // Детские инфекции. 2008. № 2. С. 46-49.
3. Лукашевич М. Г., Сизякина Л. П., Сависько А. А. Клинико-иммунологические особенности повторных эпизодов обструктивного бронхита у детей // Российский аллергологический журнал. 2012. № 2. С. 23-27.

### FREQUENTLY ILL CHILDREN: PARTICULARITIES OF IMMUNE RESPONSE AND POSSIBLE METHODS OF IMMUNOPROPHYLAXIS

M. G. Lukashovich, V. V. Karpov, L. A. Saphronenko, N. G. Abaeva

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

High prevalence of acute respiratory infection in children and rehabilitation complexity establish the necessity of new diagnostic approaches searching and management optimization. Immune deviations were revealed in frequently ill children. Intensive treatment is required with the use of immunocorrection. The efficacy of immunofan use in the rehabilitation of frequently ill children was observed.

## ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ АЛЛОИММУННЫХ АНТИЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИТЕЛ СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ РОССИЙСКОЙ ДЕТСКОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЫ

Мазова А. В., Грачева Л. А.

ФГБУ Российская детская клиническая больница Минздрава России,  
Москва, Россия

Представлена встречаемость аллоиммунных антиэритроцитарных антител среди пациентов Российской детской клинической больницы в зависимости от профиля отделения: гематологические отделения – 1,65%, хирургические отделения – 0,47%, терапевтические отделения – 0,45%. Отмечено снижение аллоиммунизации антигенами эритроцитов систем Rhesus и Kell в связи с подбором пары донор-реципиент по 10-ти трансфузионно опасным антигенам.

*Ключевые слова:* антиэритроцитарные антитела, гемотрансфузия

Актуальной задачей медицинской трансфузиологии и лабораторной медицинской службы является обеспечение безопасности гемотрансфузионной терапии. Наиболее частой причиной посттрансфузионных осложнений является присутствие алло- или ауто- антител классов IgM и IgG (подклассов IgG1 и IgG3) в крови реципиента к эритроцитарным антигенам несовместимой крови донора по антигенам системы ABO и антигенам системы Rhesus: Rh (D), rh'(C), rh"(E), hr'(c), hr"(e); и реже по антигенам систем Kell, Lewis, Duffy, Kidd и другим [1, 2].

Целью работы было определить частоту встречаемости и специфичность аллоиммунных антиэритроцитарных антител среди пациентов клинических отделений ФГБУ Российской детской клинической больницы Минздрава России.

**Материал и методы исследования.** Были обследованы образцы крови 11743 пациентов клинических отделений Российской детской клинической больницы в возрасте от 0 до 17 лет за период 2012–2014 г.г. Среди них пациенты терапевтических отделений составили 2870 (24,4%), пациенты хирургических отделений – 6513 (54,5%) и пациенты гематологических отделений – 2360 (20,1%). Скрининг и идентификацию антиэритроцитарных антител выполняли гелевым методом на анализаторе Techno с применением ID-карт LISS/Coombs и панелей стандартных эритроцитов ID-DiaCell I–II–III, ID-DiaPanel 1–11 («Bio-Rad laboratories», США-Швейцария).

**Результаты и обсуждение.** Аллоиммунные антиэритроцитарные антитела выявлены в 83 образцах крови пациентов детской больницы вне зависимости от их групповой, резус и Kell- принадлежности. Индекс аллоиммунизации составил 0,71%. При этом наиболее часто антитела встречались в группе пациентов гематологических отделений – 39 случаев (1,65%), что значительно выше ( $p < 0,001$ ), чем среди пациентов хирургических отделений – 31 образец (0,47%) и среди пациентов терапевтических отделений – 13 образцов (0,45%). Высокий процент сенсibilизации эритроцитарными антигенами у пациентов гематологических отделений обусловлен трансфузионной активностью при лечении данных пациентов, что согласуется с данными литературы [3].

При идентификации выявлены антитела различной специфичности. Антирезусные антитела (Rh-hr) идентифицированы в 16 образцах (19,28%), среди них анти-D антитела в 6 случаях (7,23%), анти-C антитела – в 5 (6,02%), анти-C<sup>w</sup> – 3 случая (3,6%), анти-E – 1 (1,2%), анти-c – 1 (1,2%). Анти-K антитела идентифицированы в 2 (2,4%) образцах, анти-kKp<sup>b</sup> – в 2 (2,4%), анти-M антитела – в 5 (6,02%), анти-Le<sup>b</sup> – 1 (1,2%), анти-Le<sup>a</sup> – 1 (1,2%), анти-Lu<sup>a</sup> – 1 (1,2%), в 9 образцах выявлены аутоантитела. В 46 случаях установить специфичность антител не удалось.

Таким образом показано, что в последние годы в связи изменением тактики гемотранс-

фузионной терапии с учетом идентичности донора и реципиента по 10-ти трансфузионно опасным антигенам эритроцитов A, B, D, C, c, E, e, Cw, K, k изменился состав выявляемых антител по сравнению с результатами, полученными нами ранее [4]. Среди идентифицированных антител антиэритроцитарные антитела к антигенами системы Rhesus и Kell (K1) были выявлены суммарно в 21,6% образцах. Антитела к эритроцитарным антигенам систем MNS, Lewis, Lutheran и другим – в 78,4% случаях.

В то же время отмечено, что среди пациентов гематологических отделений, которым проводят многократные гемотрансфузии, риск аллоиммунизации эритроцитарными антигенами остается на высоком уровне – 1,65%.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афонин Н. И., Захаров В. В. Клинические и иммуносерологические аспекты профилактики гемотрансфузионных осложнений. Вестник Службы крови России 2006, 2, 11-14.
2. Донсков С. И., Гапонова Т. В. Иммунологическая безопасность переливания эритроцитов (развитие концепции). Вестник Службы крови России 2013, 2, 3–9.
3. Дашкова Н. Г., Гаджиев Д. Б., Рагимов А. А. Аллоиммунизация эритроцитарными и лейкоцитарными антигенами больных гомозиготной  $\beta$ -талассемией, получающих множественные гемотрансфузии. Вестник службы крови России 2005, 2, 52-56.
4. Мазова А. В. Иммуногематологические и инфекционные показатели крови доноров и пациентов при гемотрансфузионной терапии в педиатрической практике. Автореф. канд. дисс. 2008.

## THE FREQUENCY OF OCCURRENCE OF ANTIERYTHROCYTE ALLOIMMUNE ANTIBODIES AMONG PATIENTS OF THE RUSSIAN CHILDREN'S CLINICAL HOSPITAL

A. V. Mazova, L. A. Gracheva

*Russian Children's Clinical Hospital Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia*

Presented incidence of alloimmune anti erythrocyte antibodies among patients of the Russian Children's Clinical Hospital, depending on the profile hospital department: hematology department – 1.65%, surgical departments – 0.47%, therapeutic department – 0.45%. Decreased red blood cell antigens alloimmunization Rhesus and Kell systems in connection with the selection of donor-recipient pairs of 10- most dangerous antigens for blood transfusion.

*Key words:* antierythrocytic antibodies, blood transfusion

# КРУГЛЫЙ ГОД, В СЕЗОН ЛЮБОЙ – ЦЕТРИН СО МНОЙ!



- Снимает различные симптомы аллергии
- Действует уже через 20 минут
- Всего одна таблетка в сутки



# Супрастин®

# НА АЛЛЕРГИЮ НЕТ ВРЕМЕНИ



Супрастин начинает  
действовать уже  
в течение 15-30 минут<sup>1</sup>

1. Супрастин. Инструкция по медицинскому применению.



#### Краткая информация по медицинскому применению препарата Супрастин®

**Лекарственная форма:** таблетки. **Показания:** крапивница, ангионеврический отек (отек Квинке), сывороточная болезнь, сезонный и круглогодичный аллергический ринит, конъюнктивит, контактный дерматит, кожный зуд, острая и хроническая экзема, атопический дерматит, пищевая и лекарственная аллергия, аллергические реакции на укусы насекомых. **Противопоказания:** повышенная чувствительность к компонентам препарата, острый приступ бронхиальной астмы, новорожденные дети (доношенные и недоношенные), беременность, период лактации. **С осторожностью:** закрытоугольная глаукома, задержка мочи, гиперплазия предстательной железы, нарушение функции печени и/или почек, сердечно-сосудистые заболевания, пожилые больные. **Побочные эффекты:** побочные эффекты, как правило, возникают крайне редко и носят временный характер, проходят после отмены препарата. Со стороны ЦНС: сонливость, утомляемость, головокружение, нервное возбуждение, тремор, головная боль, эйфория. Со стороны ЖКТ: дискомфорт в животе, сухость во рту, тошнота, рвота, понос, запор, потеря или повышение аппетита, боль в верхней части живота. Со стороны ССС: снижение артериального давления, тахикардия, аритмия. Не всегда была установлена прямая связь этих побочных эффектов с приемом препарата. Со стороны системы кроветворения: очень редко: лейкопения, агранулоцитоз. Прочее: затрудненное мочеиспускание, мышечная слабость, повышение внутриглазного давления, фотосенсибилизация. При возникновении любого из перечисленных выше эффектов следует прекратить прием препарата и немедленно обратиться к врачу. **Способ применения и дозы.** Таблетки принимают внутрь во время еды, не разжевывая и запивая достаточным количеством воды. **Взрослым:** назначают по 1 таблетке 3-4 раза в день (75-100 мг в сутки). **Детям:** В возрасте от 1 до 12 месяцев: по 1/4 таблетки (6,5 мг) 2-3 раза в день (в растертом до порошка виде вместе с детским питанием); В возрасте от 1 до 6 лет: по 1/4 таблетки 3 раза в день или по 1/2 таблетки 2 раза в день; В возрасте от 6 до 14 лет: по 1/2 таблетки (12,5 мг) 2-3 раза в день. *Подробная информация содержится в инструкции по применению.*

РУ П № 012426/01

ЗАО «Фармацевтический завод «ЭГИС» (Венгрия). Представительство в России: г. Москва, 121108, ул. Ивана Франко, 8.

Тел: (495) 363-39-66, факс: (495) 789-66-31, e-mail: moscow@egis.ru, www.egis.ru



ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ, НЕОБХОДИМО ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ ИЛИ ПОЛУЧИТЬ КОНСУЛЬТАЦИЮ СПЕЦИАЛИСТА

# ВИФЕРОН®

Бережная защита от вирусов

реклама



Лечение и профилактика широкого спектра вирусных и вирусно-бактериальных инфекций (ОРИ, в том числе грипп, герпесвирусные и урогенитальные инфекции, вирусные гепатиты В, С и D).

- ✓ Разрешен детям с первых дней жизни и будущим мамам — с 14 недели беременности
- ✓ Сочетается с другими противовирусными и антибактериальными препаратами
- ✓ Оригинальная формула ВИФЕРОН, сочетающая интерферон  $\alpha$ -2b и антиоксиданты, обеспечивает высокую противовирусную активность препарата\*



P N000017/01\*\*

P N001142/02

P N001142/01



**Блокирует  
размножение  
вируса**



**Защищает  
здоровые клетки  
от заражения**



**Восстанавливает  
баланс иммунной  
системы**

\* «Современная интерферонотерапия гриппа и острых респираторных инфекций у детей», Чеботарева Т.А., Выжлова Е.Н. 2013 год, журнал "Лечащий врач", №4.

\*\* ВИФЕРОН® Мазь — детям с 1 года.

Виферон Суппозитории, Гель



**виферон**

(499) 193 30 60

viferon.su

ДАЖЕ КОГДА КОЖА КАЖЕТСЯ СПОКОЙНОЙ,  
**АТОПИЧЕСКИЙ ДЕРМАТИТ ВСЕГДА ГОТОВ К АТАКЕ**



 **Протопик®**  
(такролимус мазь 0,03%, 0,1%)



ЛСП-001885/10 от 12.03.2010

- Предупреждает развитие рецидивов атопического дерматита путем контроля субклинического воспаления<sup>1</sup>
- Увеличивает длительность ремиссии у детей\* в **6 раз**<sup>2</sup>, у взрослых\*\* в **9 раз**<sup>6</sup>
- Хорошо переносится при краткосрочном и долгосрочном применении<sup>3,4,5</sup>

1. Н.Г Кочергин и соавт. Врач № 13 2011: 74-76

2. Thaci D, et al. Br J Dermatol 2008; 159: 1348-1356

3. Инструкция по медицинскому применению препарата Протопик® ЛСП-001885/10 от 12.03.2010, с инструкцией можно ознакомиться на сайте ГРЛС: [http://grls.rosminzdrav.ru/Grls\\_View\\_v2.aspx?idReg=38101&t=](http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?idReg=38101&t=)

4. Reitamo S, Mandelin JM, Remitz A. J Clin Dermatol 2010; 1(2): 27-32

5. Kyllonen H, et al. Br J Dermatol 2004; 150: 1174-1181.

6. Wollenberg A, et al. Allergy 2008; 63: 742-750

\* При применении 0,03% мази такролимуса по схеме 2 раза в неделю

\*\* При применении 0,1% мази такролимуса по схеме 2 раза в неделю

Перед назначением ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению препарата.

Представительство частной компании с ограниченной ответственностью «Астеллас Фарма Юроп Б.В.» (Нидерланды), Москва.

Фактический адрес: 109147, Россия, Москва, ул. Марксистская, д. 16, бизнес-центр «Мосаларко Плаза-1», 3-й этаж.

Тел.: +7 495 737-07-55, факс: +7 495 737-07-53

Информация для специалистов здравоохранения

RUS/05.2015/1/PRT/Borges/588

 **astellas**  
Свет, ведущий к жизни

## ПЕРИОСТИН – НОВЫЙ МАРКЕР Th2 – ФЕНОТИПА БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Масальский С. С., Уханова О. П., Калмыкова А. С.,  
Маркарова И. В.

Ставропольский государственный медицинский университет,  
Ставрополь, Россия

Периостин является новым сывороточным маркером бронхиальной астмы. Он продуцируется фибробластами в мелких дыхательных путях в присутствии ИЛ-13. Периостин – лучший одиночный предиктор эозинофильного воспаления в легких, чем эозинофилия крови и сывороточный IgE. Уровень периостина увеличивается при ремоделировании мембраны эпителия бронхов. В пульмонологии, высокие уровни периостина наблюдаются у пациентов с астмой, более низкие – у пациентов с ринитом и атопическим дерматитом. Периостин используется в диагностике аллергических заболеваний. Его уровень коррелирует со скоростью уменьшения FEV1 и толщины базальной мембраны. У пациентов с легкой и тяжелой астмой периостин является предиктором повышенного риска ухудшения заболевания в будущем. У пациентов с высоким уровнем периостина в сыворотке крови до лечения наблюдается значительное улучшение функции легких при лечении лебрикизумабом и омализумабом, чем у пациентов с низким уровнем периостина.

*Ключевые слова: фенотип, астма, периостин, дети, маркеры воспаления*

Рост аллергических болезней, наблюдаемый по данным эпидемиологических исследований, во всем мире заставляет нас искать новые подходы к восприятию этой проблемы. Зная, что в основе астмы лежат различные механизмы хронического воспаления бронхов, врач может использовать дифференцированные подходы к терапии особенно в группах больных с трудно контролируемой астмой. Подбор дозы ГКС на основании уровня хронического воспаления, обеспечивает лучший контроль БА, чем на основании жалоб [1].

Ключевую роль при астме играют эозинофилы. Мы считаем, что признанные маркеры существующие маркеры эозинофильного воспаления имеют ряд недостатков, которые позволяют применять их только в специализированных центрах. Для определения маркеров напрямую применяют биопсию бронха и исследование смыва. Это труднодоступно, больные с БА часто не откашливают мокроту, для прямого подсчета эозинофилов, FeNO требует анализатор и весьма нестабилен и не специфичен, периферическая эозинофилия имеет узкие границы (0-3%). Оптимальным в практике был бы сывороточный маркер, который мог бы выпол-

няться широким кругом лабораторий, и коррелировал с типом и активностью воспаления.

В данном обзоре мы хотели бы акцентировать внимание на периостине – новом маркере астмы и его значении в клинической практике. Периостин открыт в 1993 как экстрацеллюлярный белок, найденный при инфаркте миокарда и остеоме у крыс, позже его уровни были измерены при некоторых опухолевых процессах, миеломной болезни, хроническом почечном повреждении, при беременности и операциях. Применительно к астме, периостин найден в утолщенной базальной мембране при развитии субэпителиального фиброза, ключевом событии при БА, в сочетании с коллагеном I, III, V. Это экстрацеллюлярный белок, продуцируемый фибробластами под действием плейотропного Th2 цитокина ИЛ-13, активирующего Т-клетки, натуральные киллеры, эозинофилы, базофилы, тучные клетки и активированные макрофаги. Повышение уровней ИЛ-13, ИЛ-5 (колонестимулирующий фактор эозинофилов) наблюдается у больных астмой и связано с 3 генами: POSTN (периостин), SERPINB2 и хлорид – канал дополнительный белок 1 (chloride-channel accessory

protein 1 – CLCA1). Считается, что фибробласты являются главными продуцентами периостина, хотя впервые ген, отвечающий за ИЛ-13 зависимую продукцию периостина, найден в эпителии бронхов. При контакте с ИЛ-13 эпителий бронхов экспрессирует mRNA, служащую переносчиком информации, и после этого фибробласты продуцируют периостин. Причем уровень периостина коррелирует с толщиной ретикулярной базальной мембраны у больных астмой. Существуют работы, показывающие, что периостин сам служит сигнальным протеином, существует рецептор  $\alpha_5$ -интегрин на поверхности клетки к периостину, участвуя в передаче информации и развитии фиброза.

Периостин, по данным Bousquet повышен при всех аллергических болезнях. Максимальное повышение отмечается при астме, менее при хроническом риносинусите, аллергическом рините, атопическом дерматите [2]. Уровни периостина специфически повышены именно при эозинофильном воспалении и гораздо меньше при других хронических болезнях легких. Это свойство позволяет разделить пациентов на группы с высоким и низким уровнем Th2 (ИЛ-5, ИЛ-13) воспалительного ответа [3].

Уровни периостина полученного при брашировании бронхиального и назального эпителия в группах здоровых детей, детей с атопией и астмой значимо отличались. Зависимость сохраняется и для функции легких: высокий уровень периостина соответствует группам детей с высокой вариабельностью ОФВ<sub>1</sub> и выраженным приростом ОФВ<sub>1</sub> в провокационных тестах с метахолином. Периостин четко коррелирует с толщиной базальной мембраны. В группах с высоким сывороточным периостинном инволюция функции легких идет быстрее: ОФВ<sub>1</sub> снижается на 30 мл/год или больше.

В перспективе это свойство позволяет дифференцировать аллергическую БА у пациентов, как минимум с школьного возраста без получения биопсии, эозинофилов мокроты, FeNO. Так у взрослых при выборе маркера системной эозинофилии среди сывороточного IgE, FeNO, эозинофилов периферической крови периостин был лучшим предиктором легочной эозинофилии.

Редкость патологических состояний, при которых возрастает уровень периостина, у детей (фиброз легких, рак, беременность, почечная недостаточность), делает возможным трактовать

значительное повышение периостина как эозинофилию бронхов. Вместе с тем ряд работ говорит от значительной вариабельности уровня периостина в популяции, дети имеют более легкие формы БА. Сроки наступления ремоделирования бронха у детей обсуждаются. В австралийском исследовании показано, что у детей за 10 лет течения БА с персистирующими хрипами, происходят изменения в виде стойкого снижения ОФВ<sub>1</sub>. Диагностическая значимость периостина у детей потенциально присутствует и требует эпидемиологических исследований [4].

В работах Kato высокий уровень периостина в группах пациентов с хорошим контролем БА, был предиктором нестабильного течения в дальнейшем [5], аналогичные результаты получены и для больных с трудноконтролируемой астмой.

Однако в нескольких исследованиях были получены результаты, показывающие отсутствие корреляции между 3 маркерами: FeNO, периостином, IgE и полом, возрастом у взрослых, индексом массы тела, ACQ5 и ОФВ<sub>1</sub>, в других периостин показал прямую зависимость от уровня эозинофилии крови и легких, наличия хронического риносинусита, уровня IgE, эозинофильного катионного белка, количества обострений за год, времени без базовой терапии и между ежедневными дозами ИГКС [3, 4].

Подобное различие может быть связано с тем, что понятие контроля подразумевает под собой отсутствие жалоб, а периостин показывает уровень ремоделирования/воспаления. Важность фенотипирования состоит в том, что от понятия контроля симптомов, клиническая аллергология должна перейти к контролю воспаления. Назначение пациентам моноклональных антител требует тщательного подбора пациентов для групп таргетной терапии, необходимо знать точку приложения препарата, иначе терапия будет не эффективна. Исходя из этого свойства Izuhara в 2014 году предлагает алгоритм выбора терапии БА. Первой линией терапии для больных являются ГКС, если получен адекватный ответ, то продолжается терапия традиционными препаратами, при отсутствии динамики определяется сывороточный периостин. Таким образом формируются группы пациентов с высоким и низким периостином. Пациенты с высоким Th2 ответом, включаются в таргетные группы для терапии

моноклональными препаратами к ИЛ-13 и IgE. В группах больных с высоким уровнем периостина сыворотки и плазмы терапия омализумабом (антиIgE) и лебрикумабом (антиИЛ-13) была эффективна. Причем прирост ОФВ<sub>1</sub> после 24 недельной терапии лебрикумабом была выше в группах с высоким периостинном.

**Выводы.** Периостин – новый маркер Th2 опосредованного воспаления, имеющий практическую значимость. Периостин может рассматриваться, как диагностический маркер состояний, протекающих с повышением эозинофилов и ИЛ-13. Значимое повышение уровня периостина обычно наблюдается в случае ремоделирования бронха, а значит при астме.

Высокие уровни периостина коррелируют с высоким уровнем легочной эозинофилии и являются предикторами быстрого снижения функции легких, высокого риска обострений, высокой вариабельности бронха.

Больные с высоким периостинном должны быть в группе внимания, т.к. доза ГКС, возможно, не уменьшает уровень воспаления и ремоделирование бронха продолжается. Такие больные составляют потенциальную группу для терапии моноклональными антителами, участвующими в патогенезе астмы: IgE, ИЛ-13, ИЛ-5. Разработанные антитела против собственно периостина,

показали свою эффективность на моделях мышей при идиопатическом легочном фиброзе и бронхиальной астме [5].

Очевидно, что в ближайшее десятилетие в терапии БА произойдет переворот, моноклональные препараты займут свою нишу, существенно повысив эффективность лечения, это требует персонализированного подхода к воспалению у каждого конкретного пациента.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cowan D. C. et al. Biomarker-based asthma phenotypes of corticosteroid response //Journal of Allergy and Clinical Immunology.– 2015.– Т. 135.– № . 4.– С. 877-883. e1.
2. Bousquet J. et al. Are allergic multimorbidities and IgE polysensitization associated with the persistence or reoccurrence of foetal Type 2 signalling? TheMeDALLhypothesis //Allergy.– 2015.
3. Izuhara K. et al. Periostin in allergic inflammation //Allergology International.– 2014.– Т. 63.– № . 2.– С. 143-151
4. Matsumoto H. Serum periostin: a novel biomarker for asthma management //Allergology International.– 2014.– Т. 63.– № . 2.– С. 153-160.
5. Kato G. et al. Markers that can reflect asthmatic activity before and after reduction of inhaled corticosteroids: A pilot study //Biomarker insights.– 2013.– Т. 8.– С. 97.

## PERIOSTIN AS A NOVEL BIOMARKER OF Th2 PHENOTYPE OF ASTHMA

Masalskiy S. S., Ukhanova O. P., Kalmikova A. S., Markarova I. V.

Periostin is the novel serum marker of bronchial asthma. Periostin is produced by fibroblast cells in the small airways in the presence of IL 13. It is the better single predictor of eosinophilic inflammation in the lung than blood eosinophilia and serum IgE. Level of periostin increased at remodelling of a membrane of a bronchial epithelium. In pulmonology, high levels of periostin are observed in asthma patients, lower levels - rhinitis and atopic dermatitis. Periostin is used in the diagnostic of allergy diseases. It correlates with the speed of FEV1 reduction and thickness of basic membrane. In the patients with mild and severe asthma periostin is a predictor of great risk of the deterioration of the disease in the future. Patients with high pre-treatment levels of serum periostin had greater improvement in lung function when treated with lebrizumab and omalizumab than did patients with low periostin levels.

*Key words:* periostin, asthma, children, markers of inflammation

## ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАПОРАХ У ДЕТЕЙ

Москалец О. В., Щербина В. И.

*Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва*

У 35 детей с хроническими запорами изучался ряд иммунологических показателей, включая некоторые аутоантитела. В большинстве случаев обнаружено повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов и спонтанного НСТ-теста. У 18 больных выявлены антинейтрофильные антитела (ANCA) (антитела к ВР1 – у 16, антитела к миелопероксидазе – у 1, антитела к катепсину G – у 1). Корреляции между видом запора (долихосигма, функциональные запоры), степенью и характером дисбактериоза и частотой выявления ANCA не выявлено. Таким образом, в большинстве случаев изменения иммунологических показателей могут указывать на хронический воспалительный процесс, сопровождающий хронические запоры. Возможно, дети с повышенным уровнем ANCA имеют более высокий риск развития аутоиммунной патологии в будущем.

Толстокишечный стаз представляет собой важную медико-социальную проблему и может быть обусловлен как функциональными, так и органическими причинами. Согласно данным литературы, хронические запоры составляют от 10 до 40% среди всех проктологических заболеваний у детей, причем распространенность этой патологии постоянно растет. Актуальность проблемы обусловлена еще и тем, что длительно существующие запоры способствуют развитию целого ряда патологических состояний, таких как дисбактериоз, колит, проктосигмоидит; очень часто сопровождаются энкопрезом и вызывают воспалительные изменения в матке и яичниках у девочек, простаты и мочевого пузыря у мальчиков.

До настоящего времени до конца не изучены вопросы этиологии, патогенеза, диагностики и не определены показания к хирургическому лечению хронических запоров, вызванных долихосигмой, а результаты консервативного лечения остаются неутешительными. Совершенно очевидно, что медленный транзит каловых масс по кишечнику, сопутствующий дисбактериоз и нарушение проницаемости кишечной стенки вследствие воспалительной реакции должны приводить к выраженной антигенемии, активации различных звеньев иммунного ответа с последующей дисфункцией и дезрегуляцией иммунных механизмов. В такой ситуации вполне закономерны и аутоиммунные реакции. Однако ранее этому аспекту не уде-

лялось достаточное внимание. В связи с этим, целью настоящего исследования было изучение особенностей иммунной реактивности у детей с хроническими запорами различного генеза для возможной разработки в дальнейшем рекомендаций по включению иммуномодулирующих препаратов в комплекс реабилитационных мероприятий, особенно в случае хирургического вмешательства.

**Материалы и методы.** Обследовано 28 пациентов в возрасте от 1 года до 14 лет, в том числе, 15 – с долихосигмой, 13 – с функциональными запорами. Иммунологическое обследование включало: определение содержания крупно- и мелкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G, оценку субпопуляционного состава (CD3, CD4, CD8, CD16/56, CD19), фагоцитоза (латекс-тест, спонтанный НСТ-тест), уровня антител к двуспиральной ДНК, антинейтрофильных антител (ANCA), суммарных антител к фосфолипидам, антиядерных антител (ANA) в сыворотке. В работе использовались наборы реактивов фирм “Orgentec”, “Bekton Diskenson”.

**Результаты.** Наиболее частыми изменениями в иммунном статусе были повышение уровня ЦИК (у 100% больных), повышение уровня метаболической активности нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте – у 71%. Гораздо реже встречалось снижение поглотительной способности нейтрофилов (в 16,6%

случаев) и снижение уровня сывороточного IgG (в 12,2% случаев, причем у большинства эти изменения были незначительными).

Оценку субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток провели у 22 больных. Примерно у 1/3 детей было выявлено снижение уровня CD4<sup>+</sup> лимфоцитов при нормальном количестве CD3<sup>+</sup> лимфоцитов. В большинстве случаев эти изменения носили физиологический характер (незрелость клеточного звена у очень маленьких детей) и лишь у 2 пациентов их можно было трактовать как патологические.

В процессе исследования была выдвинута гипотеза о том, что у ряда больных с хроническими запорами могут включаться аутоиммунные механизмы развития иммунного ответа на антигены кишечной стенки (при этом кофактором процесса могут выступать бактериальные антигены, т.к. у большинства больных при запорах развивается дисбактериоз кишечника) с последующей поликлональной активацией В-лимфоцитов. Ни в одном случае не обнаружены ANA или повышенный уровень антител к двуспиральной ДНК. У 1 больной выявлен повышенный уровень суммарных антител к фосфолипидам класса G. Что же касается ANCA, то их содержание было повышено у 64,2% (18/28), причем у 16 были выявлены антитела к BPI. Как известно, данный белок играет важную роль в киллинге грамотрицательных бактерий и нейтрализации их эндотоксина (Schultz H., 2007). Антитела к BPI нередко выявляются у больных с воспалительными заболеваниями кишечника и обычно ассоциируются с более тяжелым течением заболевания и более тяжелыми органическими повреждениями (Нефедова Е. А. и соавт., 2006; Schultz H. et al., 2001). Кроме этого у 1 больного определялись повы-

шенные уровни антител к миелопероксидазе, у 1 – к катепсину G, а у 6 одновременно с анти-BPI выявлялись и другие виды ANCA (антитела к эластазе, лизоциму, лактоферрину).

Корреляции между видом хронического запора (долихосигма, функциональные запоры), степенью и характером дисбактериоза и частотой выявления ANCA не выявлено.

**Заключение.** Таким образом, в большинстве случаев основные изменения иммунного ответа (активизация кислород-зависимых процессов фагоцитоза и повышение уровня ЦИК) даже при отсутствии клинической симптоматики и других лабораторных признаков воспалительного процесса свидетельствовали о воспалительной реакции, сопровождающей хронические запоры. Повышение проницаемости кишечной стенки в сочетании с дисбактериозом и, как следствие, антигенемия вызывают у многих больных гиперактивацию иммунной системы с включением аутоиммунных механизмов. Вероятно, прогностически этот вариант патологии менее благоприятен, а впоследствии можно ожидать у части таких детей генерализацию аутоиммунных реакций, то есть они имеют более высокий риск развития аутоиммунных заболеваний в будущем.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нефедова Е. А., Цодиков Г. В., Москалец О. В., Сперанский А. Е. // в ежегод. сб. «Актуальные вопросы клиники и профилактики профессиональных заболеваний», Киров, 2005. – вып. III – с.295-299.
2. Schultz H. //Autoimmun.Rev., 2007. – v. 6 (4). – p. 223-227.
3. Schultz H., Weiss J., Caroll S. F., Gross N. L. // J. Leukoc. Biol., 2001. – v.69 (4). – p. 505-512.
4. Opal S. M., Palardy J. E., Marra M. N., Fisher C. J. Jr., McKelligon B. M., Scott R. W. // Lancet, 1994, Aug 13. – v.344 (8920). – p. 429-431.

### IMMUNE DISORDERS IN CHILDREN WITH CHRONIC CONSTIPATIONS

Moskalets O. V., Scherbina V. I.

A number of immune characteristics, including some autoantibodies, were studied in 28 children with chronic constipations. Increased levels of circulating immune complexes and increased spontaneous NST test were the most common immune laboratory findings. ANCA were found in 18 patients (anti-BPI – in 16, anti-MPO – in 1, anti-Catepsine G – in 1). There were no correlation between the type of constipation (dolichosigma, anal athresia, functional constipation), severity and character of disbiosis and ANCA rates. Thus, in most cases revealed immune disorders may indicate chronic inflammation in the bowel associated with chronic constipation. Children with increased ANCA rates seems have the risk of autoimmune disorders in future.

## РОЛЬ НЕОПТЕРИНА ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Москалец О. В., Белокопытова И. С., Яздовский В. В.

*Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва*

Цель данной работы заключалась в оценке диагностической и прогностической значимости определения уровня неоптерина в сыворотке крови у больных с разными видами стенокардии. Обследовано 162 пациента, которые были разделены на 3 группы в соответствии с функциональным классом стенокардии, а также была сформирована контрольная группа (пациенты без ИБС). Между уровнем сывороточного неоптерина и функциональным классом стенокардии не было выявлено корреляционной зависимости, однако максимальные уровни неоптерина (более 30 нМоль/л) отмечались у пациентов с поражением нескольких коронарных артерий (то данным коронарной ангиографии). Кроме того, у пациентов с острым инфарктом миокарда в анамнезе уровень сывороточного неоптерина также был выше. Отмечена прямая корреляция между уровнем неоптерина и липидов крови.

Среди многочисленных факторов, влияющих на продолжительность жизни человека, заболевания сердечно – сосудистой системы до сих пор занимают первое место. Как известно, основными механизмами, приводящими к развитию острого коронарного синдрома (ОКС), нестабильной стенокардии и острого инфаркта миокарда (ОИМ) являются атеросклероз и тромбоз. Внимание многих исследователей сосредоточено на изучении роли воспаления при атеросклерозе. Воспалительная теория атеросклероза подтверждается обнаружением в крови больных сердечно – сосудистыми заболеваниями, прежде всего ИБС, повышенных концентраций маркеров воспалительного ответа, одним из которых является неоптерин [1,2,5].

Основной интерес к неоптерину связан с его участием в развитии активации клеточных иммунных реакций. Увеличение концентрации неоптерина в организме человека обнаруживается при вирусных и бактериальных инфекциях, аутоиммунных заболеваниях, сердечно – сосудистых заболеваниях [3,4].

Цель данного исследования заключалась в оценке уровня неоптерина у больных с различными формами стенокардии и его прогностической ценности для определения риска развития ОКС.

**Материалы и методы.** Обследовано 162 пациента в возрасте от 40 до 80 лет (средний воз-

раст  $61,5 \pm 28,3$  года), в том числе 104 мужчин и 58 женщин. Для верификации диагноза ИБС проводились стандартный опрос и осмотр, клиническая оценка состояния, общий и биохимический анализы крови (креатинин, печеночные ферменты, глюкоза, липиды крови), рентгенография органов грудной клетки, электрокардиография, эхокардиография, суточное мониторирование ЭКГ по Холтеру, велоэргометрия. Также была проведена коронароангиография. При обследовании анализировались возраст, пол, функциональный класс стенокардии (ФК), недостаточность кровообращения, фракция выброса, толерантность к физическим нагрузкам, распространенность атеросклероза, сопутствующие заболевания. Определение уровня неоптерина в сыворотке периферической крови проводилось методом ИФА с использованием тест-систем фирмы «IBL» (Австрия).

**Результаты и обсуждение.** Все больные были распределены с учетом ФК стенокардии и наличия ОИМ в анамнезе на 4 группы: А – стенокардия напряжения II ФК (41 чел.), В – стенокардия напряжения III ФК (70 чел.), С – стенокардия покоя IV ФК (28 чел.), D – контрольная группа без атеросклероза коронарных артерий (23 чел.). Количество пациентов с ОИМ в анамнезе составило 16 чел. (40%) в группе А, 43 чел. (61,4%) в группе В, 10 чел. (35,8%) в группе С. Поражение трех- и более

коронарных сосудов отмечалось у 19 (46,3%) больных группы А, 43 (61,4%) группы В и 3 (10,7%) группы С.

Закономерной зависимости между уровнем неоптерина и ФК стенокардии не наблюдалось. Так, повышенные уровни неоптерина отмечены как при стенокардии II ФК, так и при стенокардии IV ФК ( $10,1 \pm 5,1$  и  $12,9 \pm 5,3$  нг/л соответственно). Однако следует отметить, что наиболее высокие концентрации неоптерина (более 30 нмоль/л) отмечались в тех случаях, когда при проведении коронароангиографии было выявлено многососудистое поражение коронарных артерий. Кроме того, уровень неоптерина был несколько выше у лиц с ОИМ в анамнезе, особенно при Q-образующем варианте ( $12,3 \pm 3,5$  нг/л), чем у лиц с неотягощенным анамнезом ( $9,3 \pm 2,7$  нг/л и  $214,3 \pm 115,6$  пг/мл соответственно,  $p < 0,05$ ).

При сравнении содержания неоптерина с уровнем липидов в сыворотке крови была выявлена прямая корреляционная связь между уровнем неоптерина, общего холестерина и ЛПНП у больных ИБС.

**Выводы.** У больных с ИБС уровень сывороточного неоптерина достоверно выше, чем

у пациентов без атеросклероза, что может служить отражением существующей связи между воспалительным процессом и развитием ИБС. Уровни неоптерина в сыворотке крови достоверно выше при многососудистом поражении, а также у больных с ОИМ в анамнезе, особенно с Q-образующим ИМ, что может указывать на неблагоприятный прогноз дальнейшего течения ИБС.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Маянский А. Н., Современная эволюция идеи И. И. Мечникова о внутрисосудистом воспалении // Иммунология. – 1995 – № 4. – С. 8-14.
2. Мерай И. А., Павликова Е. А. Роль воспаления в процессах атерогенеза и в развитии сердечно-сосудистых осложнений // Русский врач. – 2008. – № 5. – С. 3-6.
3. Свиридов А. Е., Телегина Н. Е.. Неоптерин и его восстановленные формы: Биологическая роль и участие в клеточном иммунитете // Успехи биологической химии. – 2005. – № 45. – С. 355-390.
4. Шевченко О. П., Олефиренко Г. А., Орлова О. В.. Неоптерин // Москва: Реафарм. – 2003. – 36 с.
5. Ross R. – Atherosclerosis – an inflammatory disease // New English J. Medicine. – 1999/ – v. 340. – P. 115-126.

## THE ROLE OF NEOPTERIN IN CARDIO-VESSELE DISEASES

O. V. Moskalets, I. S. Belokopytova, V. V. Yazdovskii

The aim of the study – evaluation of serum neopterin levels in different forms of angina pectoris. 162 patients were included and divided into 3 groups according to ischemic functional class and acute myocardial infarction history and the control group (patients without ischemia). No correlation between serum neopterin levels and ischemic functional class was revealed, but the highest neopterin levels ( $>30$  nM/l) were found in patients with multiple coronary vessel damage. Besides, patients with acute myocardial infarction history had higher serum neopterin levels. Correlation between blood neopterin and lipids was revealed.

## ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕМ ОБСТРУКТИВНОМ БРОНХИТЕ У ДЕТЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛИКОПИДА

Мусаходжаева Д. А., Файзуллаева Н. Я., Шамсиев Ф. М.  
Азизова З. Ш., Джумаева Д. Н.

*Институт иммунологии НРУз, Ташкент, Узбекистан*

Дана характеристика показателей иммунной системы у детей в возрасте от 3 до 7 лет, страдающих рецидивирующим обструктивным бронхитом на фоне острой респираторной инфекцией. Оценка показателей проводилась как до лечения, так и после базисной терапии и терапии с включением иммунокорректора – ликопида. Установлено, что при рецидивирующем обструктивном бронхите снижается уровень CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов, угнетается фагоцитарная активность на фоне повышения концентрации общего IgE. Включение иммунокорректирующего препарата дает положительный клинико-иммунологический эффект.

*Ключевые слова:* дети, бронхит, иммунная система, ликопид

Болезни органов дыхания стабильно занимают первое место в структуре общей заболеваемости детей и подростков в нашей стране [1, 2]. Некоторые клинические формы бронхолегочной патологии в значительной степени влияют на уровень младенческой смертности, другие, начавшись в раннем детском возрасте, принимают хроническое течение, приводят к ограничению трудоспособности, инвалидизации больных в зрелом возрасте [2]. Все это определяет значимость проблемы пульмонологии детского возраста не только для педиатрии, но и для клинической медицины в целом.

В настоящее время практически не вызывает сомнения тот факт, что повышенная частота воспалительных заболеваний и наличие хронических воспалительных процессов респираторного тракта сопровождаются нарушениями иммунологической реактивности [3, 4, 5]. В последнее время все больше внимания уделяется проведению больным рецидивирующим бронхитом (РБ) комплексной иммунореабилитации, включающую помимо традиционных лекарственных средств иммунокорректирующие препараты.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей иммунологической реактивности детей с рецидивирующим обструктивным бронхитом в динамике комплексной терапии.

**Материалы и методы исследования.** Под нашим наблюдением находились 33 ребенка,

которые поступили в отделение пульмонологии РСНПМЦ Педиатрии МЗ РУз с обострением рецидивирующего обструктивного бронхита. Возраст обследованных детей был в пределах 3-7 лет. 12 практически здоровых детей того же возраста составили контрольную группу (обследование данной категории детей проводили по желанию родителей). Диагноз ставился на основании жалоб, объективного осмотра, лабораторных и рентгенологических методов исследования, согласно классификации клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей [2, 3].

С целью оценки эффективности проводимой терапии больные дети с РОБ были разделены на 2 группы: 14 детей, получавшие базисную схему реабилитации составили I группу; II группа – 19 детей получали комплексную терапию с включением ликопида, который назначался сублингвально по 1 мг 1 раз в день за 30 мин до еды № 10.

Иммунологические исследования проводились изучением количественного определения лимфоцитов периферической крови с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 с помощью моноклональных антител серии LT (ТОО «Сорбент», Москва, Россия). Концентрацию иммуноглобулинов IgA, IgM и IgG определяли по методу Manchini, а IgE – методом ИФА. Фагоцитарную активность определяли по способности нейтрофилов поглощать латексные

частицы. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики.

**Результаты и их обсуждение.** При анализе этиологии данного заболевания установлено, что в 92,7% случаев рецидив обструкции был инициирован ОРВИ, который в 73,8% случаев осложнялся бактериальной инфекцией. При бронхолегочной патологии иммунологические показатели отличаются от параметров контрольной группы. Так, в группе детей с РОБ наблюдался повышенный уровень лейкоцитов ( $P < 0,05$ ). При этом число эозинофилов было повышенным, что свидетельствовало о развитии сенсibilизации ( $P < 0,05$ ).

Фенотипический анализ лимфоцитов показал достоверное снижение количества CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $44,5 \pm 0,8\%$  против  $49,3 \pm 1,0\%$  в контроле), а также субпопуляций: CD4<sup>+</sup> ( $25,6 \pm 0,5\%$  против  $31,7 \pm 0,7\%$  в контроле) – и CD8<sup>+</sup> ( $14,3 \pm 0,5\%$  против  $23,7 \pm 0,6\%$  в контроле) -лимфоцитов ( $P < 0,05$ ).

В то время как, уровень В-лимфоцитов был достоверно повышенным ( $34,6 \pm 0,8\%$  против  $22,5 \pm 0,6\%$  в контроле) ( $P < 0,01$ ). Было выявлено, что киллерная активность у детей с бронхолегочной патологией была сниженной в 1,49 раза ( $7,8 \pm 0,7\%$ ), в то время как у детей, составивших контрольную группу, число CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов было в пределах  $11,6 \pm 0,8\%$  ( $P < 0,01$ ). Достоверно низкая экспрессия антигенов CD16 на лимфоцитах у обследованных нами больных детей по сравнению с контролем может свидетельствовать о слабой резистентности организма.

Исследование гуморального звена иммунитета установило повышение уровней IgM и общего IgE, что косвенно свидетельствовало о преобладающем влиянии Th2-клеток у детей с РОБ над Th1 функциональным типом.

Дифференциальная оценка фагоцитарной активности нейтрофилов определила достоверное снижение уровня фагоцитирующих нейтрофилов ( $43,8 \pm 0,9\%$  против  $49,4 \pm 1,0\%$  в контроле) ( $P < 0,05$ ).

Таким образом, у детей с РОБ в обострении, спровоцированным ОРВИ, низкий уровень клеточного иммунитета, сопряженный с доминированием гуморального типа иммунного ответа и угнетением фагоцитарного звена иммунной системы не обеспечивали адекватную реакцию на патоген.

Использование стандартной терапии приводило к нормализации уровня эозинофилов и лейкоцитов в сравнении с исходными данными. Однако, данная терапия не влияла на субпопуляционный состав иммунокомпетентных клеток и на показатели гуморального звена иммунитета.

Включение препарата Ликопид в комплексную терапию больных детей РОБ способствовало положительной динамике изученных параметров иммунной системы. Так, наблюдалось достоверное повышение уровня Т-лимфоцитов по сравнению с группой до лечения со значением  $P < 0,01$ , а уровень субпопуляционного состава Т-лимфоцитов был близок к параметрам контрольной группы ( $P < 0,01$ ).

Использование комплексного лечения в сочетании с иммунокорректирующей терапией позволило значительно улучшить клинические показатели и общее самочувствие. У пациентов уменьшились кашель и одышка, лучше стала отделяться мокрота. Существенно увеличилось число клеток, экспрессирующих поверхностные антигены: CD3, CD4, CD8, снизилась концентрация IgM и IgE. Однако, некоторые параметры иммунной системы все еще отличались от параметров контрольной группы. Для достижения стойкой клинико-иммунологической ремиссии больным детям необходимо проведение 2-х циклов в течение 2-х месяцев.

Таким образом, представленные данные указывают на значительную патогенетическую роль иммунных нарушений в процессе формирования хронического воспалительного процесса при бронхолегочных заболеваниях у детей. Успешное решение этой проблемы связано с правильным подходом к восстановлению функционирования иммунной системы. Следовательно, необходимо включать комплексную иммунореабилитацию, способствующую процессам восстановления нарушенных звеньев в системе иммунитета.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдусаломов А. А., Тухватулина Р. Р. Перспективы улучшения педиатрической службы Узбекистана // Педиатриянинг долзарб муаммолари: Тез. докл. Респ. науч. конф. 27–29 сентября 2000. – Ташкент, 2000. – С. 12.
2. Ахмедова Д. И., Ашурова Д. Т., Арифова Г. А. Факторы риска развития синдрома бронхиальной обструкции у детей раннего возраста // Педиатрия. – Т., 2000. – № 2–3. – С. 52–53.

3. Колесникова Н. В., Коков Е. А., Кокова Л. Н., Чудилова Г. А., Ломтатидзе Л. В. Иммунологическая эффективность ликопада при различных вариантах обструктивного бронхита у детей // ж. Астма, 2011
4. Малышева О. А., Ширинский В. С., Кожевников В. С., Евсюкова Е. В., Старостина Н. М. Особенности иммунного статуса больных хроническим бронхитом с признаками синдрома вегетативной дистонии. // Тер. архив 72 (12): 30-35, 2000.
5. Khanferyan R., Kolesnikova N., Lesik D., DuBuske D. The role of NOD-2 Receptors in Modulation of IgE-synthesis // The Online Abstract Submission System. – 2008. – 9. – 4

## THE IMMUNOLOGICAL INDICATORS' DYNAMICS IN RECURRENT OBSTRUCTIVE BRONCHITIS IN CHILDREN UNDER THE INFLUENCE OF LICOPID

Musakhodzhayeva D. A. Fayzullayeva N. Y., Azizov Z. Sh.,  
Dzhumayeva D. N.

*Institute of Immunology of the Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan*

The characteristic parameters of the immune system in children aged 3 to 6 years old, suffering from recurrent obstructive bronchitis on the background of an acute respiratory infection. Performance evaluation was conducted before treatment and after basic treatment and therapy with immunocorrector – licopid. It was found that in patients with recurrent obstructive bronchitis reduced the level of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> lymphocytes, inhibits the phagocytic activity and the background of increasing concentrations of total IgE. Turning to immunocorrecting preparation gives a positive clinical and immunological effect.

*Key words:* children, bronchitis, immune system, licopid

## КЛИНИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БОЛЬНЫХ С ПОСТПНЕВМОНИЧЕСКИМИ АБСЦЕССАМИ

Мухамадиева Л. Р., Мавзютова Г. А., Мирсаева Г. Х.,  
Амирова Г. Ф.

*ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия*

Проведенное обследование 50 больных с осложненным течением внебольничной пневмонии (постпневмоническими абсцессами) показало, что включение полиоксидония в комплексную терапию, оказывает выраженное положительное воздействие на клиническое течение заболевания и нормализацию иммунного статуса. Под влиянием иммунокорригирующей терапии полиоксидонием у больных нормализуются показатели клеточного иммунитета и неспецифической резистентности, что является критерием клинической и иммунологической эффективности иммуномодулятора.

**Цель исследования:** изучить клинико-иммунологические особенности осложненного течения внебольничной пневмонии (постпневмонических абсцессов) и обосновать применение полиоксидония в комплексной терапии заболевания.

**Материалы и методы исследования.** Под нашим наблюдением находилось 50 пациентов торакального отделения клиники БГМУ с осложненным течением внебольничной

пневмонии – (постпневмоническими абсцессами); из них 15 человек (30%) с I-рентгенологической стадией формирования абсцесса, 35 человек (70%) – со II стадией сформированного абсцесса.

Длительность лечения в терапевтическом стационаре до перевода в хирургическое отделение составляла 3-4 недели.

Клинические признаки абсцедирования характеризовались воспалительным, интоксикационным

кационными синдромами тяжелой степени, непродуктивным кашлем или кашлем с гнойной мокротой. В объективном статусе больных над полостью абсцесса выявлялся различных размеров участок притупления перкуторного звука, аускультативно определяли резкое ослабление или отсутствие везикулярного дыхания (в зависимости от периода заболевания).

Комплексное клинико-иммунологическое обследование проводилось дважды – в день поступления больных в стационар и через 10 дней после начала лечения и включало: анализ данных лейкоцитограммы капиллярной крови; оценку фагоцитарной активности в тесте с латексом с подсчетом фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ) – определение содержания в крови С-реактивного протеина (СРБ), С3, С4 компонентов комплемента методом иммунотурбидиметрии на биохимическом анализаторе Hitachi-902 (наборы реагентов “Tina-quant”, Roche Diagnostics Corporation, USA); иммунофенотипирование лимфоцитов методом проточной цитофлюорометрии на приборе Epics XL, фирмы «Coulter» с характеристикой основных маркеров иммунокомпетентных клеток (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>); оценку гуморальных факторов иммунитета по концентрации иммуноглобулинов классов А, М, G методом иммунотурбидиметрии на биохимическом анализаторе Hitachi-902 (наборы реагентов “Tina-quant”, Roche Diagnostics Corporation, USA). Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определялось методом преципитации с раствором полиэтиленгликоля (мол. м. 6000 Д); определение уровня цитокинов IL-4, IL-6, TNF-α иммуноферментным методом с использованием стандартных тест-систем (ООО «Протеиновый Контур-Тест», г. Санкт-Петербург).

**Результаты исследования.** У больных с абсцедированием наблюдались значительные нарушения иммунного статуса с преимуще-

ственной депрессией маркеров естественной резистентности (CD16<sup>+</sup>, ФЧ, ФИ), Т-клеточных механизмов защиты (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>), многократным увеличением воспалительных цитокинов TNF-α, IL-6, IL-4, достоверных различий по показателям гуморального звена системы иммунитета не отмечено.

Учитывая значительные клинико-иммунологические нарушения, всем больным с абсцессом назначался полиоксидоний в комплексе с антибактериальными препаратами с 1-го дня пребывания в хирургическом стационаре. Курс лечения составлял 10 инъекций препарата по 6 мг внутримышечно ежедневно.

На фоне применения полиоксидония у 28% обследованных отмечена положительная динамика количественных показателей клеточного звена иммунитета – CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, и факторов неспецифической резистентности – фагоцитарного индекса, фагоцитарного числа. Комплексное лечение с применением полиоксидония сопровождалось улучшением клинической картины заболевания: снижением температуры тела, уменьшением болей в груди, кашля, признаков интоксикации на 6-7 день госпитализации. У 3-х пациентов на I-рентгенологической стадии абсцесса отмечалась положительная клинико-рентгенологическая динамика, в связи с чем не возникло необходимости в дальнейшем хирургическом лечении.

Таким образом, результаты проведенного исследования, позволяют сделать заключение о клинико-иммунологической эффективности полиоксидония в комплексной терапии постпневмонических абсцессов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Внебольничная пневмония у взрослых: практич. рекомендации по диагностике, лечению и профилактике / Сост. А. Г. Чучалин, А. И. Синопальников, С. В. Яковлев, Л. С. Страчунский. – М., 2003. – 53

#### CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF PATIENTS WITH POSTPNEUMONICAL ABSCESSSES

Mukhamadieva L. R., Mavzutova G. A., Mirsaeva G. K., Amirova G. F.

Carried out examinations of 50 patients with complicated for community-acquired pneumonia (post-pneumonic abscesses), showed us that inclusion of polyoxidonii to the complex therapy of patients, provides positive influence on clinical diseases and normalization of immunity of human bodies. Under the effect of immunotherapy, i.e. using polyoksidonii, patients with complicated for community-acquired pneumonia (postpneumonic abscesses), their both cell and humoral immunity indexes started becoming better. This result proves us the effectivity of immunomodulator, i.e. the usage of polyoxidonii.

## ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *IL1 $\beta$* В ПРОГНОЗЕ РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Назарова Е. А., Шардаков В. И., Демьянова В. Т.,  
Докшина И. А., Зотина Е. Н.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», Киров, Россия*

С целью прогноза развития инфекционных осложнений у больных множественной миеломой, получающих программную химиотерапию и комбинированную антибактериальную терапию, предлагается выявлять молекулярно-генетические маркеры на основании анализа распределения генотипов гена *IL1 $\beta$*  до наступления периода цитопенических осложнений и манифестации инфекций. В случае выявления мутантных аллелей гена в точках мутации -31, -511 и -1473 прогнозируется устойчивость к возникновению инфекционных осложнений, а при наличии аллелей «дикого» типа – повышение риска развития инфекций.

**Актуальность.** Применяемые в настоящее время в гематологической практике протоколы полихимиотерапии (ПХТ) множественной миеломы (ММ) часто сопровождаются развитием цитостатического агранулоцитоза [1], следствием которого является возникновение осложнений инфекционно-воспалительного генеза. Несмотря на разработанные основы профилактики и терапии данных осложнений, встречаются случаи активации инфекций даже на фоне адекватного их антимикробного лечения, что, несомненно, отражается на тяжести течения и прогнозе заболевания.

Описано, что у некоторых индивидуумов чувствительность к инфекционно-воспалительным заболеваниям повышена из-за нарушений функционирования рецепторов иммунного ответа вследствие присутствия в их генах однонуклеотидных точечных мутаций [2]. Данные генетические полиморфизмы могут приводить к аминокислотным заменам с последующим изменением функции рецептора, а также сигнальной трансдукции в клеточных элементах врожденного иммунитета, влияя на распознавание инфекционных агентов, а также на чувствительность и/или устойчивость к различным инфекциям в целом [3, 4].

Интерлейкин (IL) 1 $\beta$  является ключевым цитокином, инициирующим и регулирующим иммунные процессы в организме. Он участву-

ет в развитии острого и хронического воспаления. Полиморфизм данного гена коррелирует с изменениями иммунного ответа, что сопровождается увеличением частоты инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний [5].

**Цель работы** заключалась в выявлении ассоциации полиморфизмов 31C>T, 511C>T, 1473C>G и 3953C>T гена *IL1 $\beta$*  с риском развития инфекционно-воспалительных осложнений у больных множественной миеломой.

**Использованные методы.** Геномное тестирование полиморфных участков гена *IL-1 $\beta$*  (T-31C), (T-511C), (G-1473C), (C-3953T) проводили методом полимеразной цепной реакции с аллель-специфичными праймерами и электрофоретической детекцией продуктов реакции в агарозном геле. Для расчета результатов использовали пакеты программ MS Office Excel 2003 STATISTICA V.12, а также «Калькулятор для расчета статистики в исследованиях «случай-контроль» ([http://gen-exp.ru/calculator\\_or.php](http://gen-exp.ru/calculator_or.php)). Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

**Основные результаты.** Анализ полиморфизма гена *IL1 $\beta$*  проводили до назначения ПХТ или в ранние сроки лечения у пациентов с ММ, получающих комбинированную антибактериальную терапию с наличием или без клинических проявлений инфекционно-

воспалительных процессов, до появления цитостатического агранулоцитоза.

Обследовали 41 пациента (20 мужчин – 48,8% и 21 женщина – 51,2%, медиана (Me) возраста 59 лет) с ММ. В зависимости от развития клинических проявлений инфекционно-воспалительных процессов больные были разделены на 2 группы, сопоставимые по возрастным и гендерным характеристикам. В первую группу вошли 27 (65,9%) больных с отсутствием инфекций, во вторую – 14 (34,1%) обследованных с клиническими проявлениями инфекционных заболеваний. Спектр инфекционных осложнений представлен обострениями бактериальных инфекций, рецидивами герпесвирусной инфекции, развитием грибковых инфекций и эпизодов фебрильной лихорадки.

Проведенные статистические расчеты позволили выявить взаимосвязь трех полиморфизмов гена *IL1β* (Т-31С), (Т-511С) и (G-1473С) у больных ММ с развитием инфекционных осложнений, несмотря на проводимую сопроводительную антимикробную терапию. Так, у пациентов 1-й группы достоверно чаще встречались гомозиготные генотипы, содержащие аллель «дикого типа» в исследуемых точках мутации -31, -511 и -1473 (51,9% vs. 21,4%,  $\chi^2=4,18$ ,  $p=0,04$ , OR=3,95, 95%CI: 0,90-17,40; и 68,2% vs. 16,7%,  $\chi^2=5,11$ ,  $p=0,02$ , OR=10,70, 95%CI: 1,05-109,79 и 47,1% vs. 0%,  $\chi^2=4,05$ ,  $p=0,04$ , OR=11,63, 95%CI: 0,57-238,75, соответственно).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о взаимосвязи трех полиморфизмов гена *IL1β* с манифестацией инфекционных осложнений на фоне программной и антимикробной терапии у больных ММ.

Выделены факторы, снижающие риск развития инфекционных осложнений: носительство мутантных аллелей, а также критерии, повышающие риск возникновения данных осложнений – аллели «дикого» типа гена *IL1β*. Определение данных маркеров позволяет прогнозировать и профилактировать развитие инфекционных осложнений на фоне ПХТ и антибактериальной терапии у больных ММ до наступления цитостатического агранулоцитоза, оптимизировать индивидуальную противовоспалительную тактику ведения данных больных.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Программное лечение заболеваний системы крови: Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови / Под ред. В.Г. Савченко. – М.: Практика, 2012. – 1056 с.
2. Trejo-de la O A., Hernandez-Sancen P., Maldonado-Bernal C. Relevance of single-nucleotide polymorphisms in human TLR genes to infectious and inflammatory diseases and cancer // *Genes and Immunity*. 2014. Vol.15. № 6. P. 199-209.
3. Генетический полиморфизм иммуногенной сигнальной системы / Цыган В.Н., Иванов А.М., Камилова Т.А., Кожухова Е.А., Мурашкин Н.Н., Цыган Н.В. // *Журнал инфектологии*. 2011. Т. 3. № 2. С. 21-27.
4. Kutikhin A. G., Yuzhalin A. E. Inherited variation in pattern recognition receptors and cancer; dangerous liaisons? // *Cancer Management and research*. 2012. № 4. P. 31-38.
5. Полиморфизм генов *TNFA*, *IL1B* и *IL1-RN* у больных / Хунафина Д.Х., Хабелова Т.А., Кутуев О.И., Шамсиева А.М., Султанов Р.С., Бурганова А.Н., Галиева А.Т., Шайхуллина Л.Р., Ария Э.М. // *Медицинский вестник Башкортостана*. 2008. Т. 3. № 5. С. 77-82.

### EVALUATION OF *IL1β* GENE POLYMORPHISM IN THE PROGNOSIS OF INFECTIOUS COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA

E. L. Nazarova, V. I. Shardakov, V. T. Demyanova,  
I. A. Dokshina, E. N. Zotina

In order to forecast the development of infectious complications in patients with multiple myeloma receiving chemotherapy and software combination antibiotic therapy is proposed to identify the molecular and genetic markers based on the analysis of distribution of genotypes *IL1β* before the period of cytopenia complications and manifestations of infection. In case of detection of mutant alleles at the points of mutation -31, -511, and -1473 predicted resistance to the emergence of infectious complications, and the presence of the alleles “wild” type – increased risk of infections.

## СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У МЫШЕЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ФОНЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ

Овсянникова А. И., Болиева Л. З.

*Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владикавказ, Россия*

Целью исследования явилось экспериментальное изучение состояния некоторых параметров клеточного иммунитета при хронической свинцовой интоксикации и анализ возможности профилактического влияния селенита натрия. Мышам Balb/c спаивали свинец с водой в виде 0,2% раствора ацетата свинца в течение 12 недель. Для изучения модифицирующего действия селена на токсические эффекты свинца в корм мышей добавляли селенит натрия в дозе 2 мг/кг. Животных делили на три группы: I группа – контроль (вода); II группа – Pb, III группа – Pb+Se. Хроническая свинцовая интоксикация приводит к глубокому угнетению клеточного иммунитета, что проявляется в снижении спонтанной и индуцированной ФГА пролиферации лимфоцитов, подавлении реакции КЧ. Добавление Se в рацион мышей, получавших Pb, способствовало повышению пролиферативной активности Т-лимфоцитов и реакции КЧ.

Несмотря на то, что токсическое действие свинца достаточно широко изучено, ряд вопросов нуждается в уточнении. Одним из малоизученных направлений является влияние свинца на состояние иммунной системы и поиск средств профилактики и коррекции его иммунотоксического действия (Ashry K. M. et al., 2010; Velaga M. K. et al., 2014). В ряде экспериментальных исследований установлена способность селена ослаблять токсическое действие тяжелых металлов, сохранять окислительный гомеостаз и оказывать иммуномодулирующее действие (Falana B. A. et al., 2013; Sharma S. et al., 2014; Sharma S. et al., 2015). Исходя из вышеизложенного, актуальной является оценка влияния свинцовой интоксикации на разные звенья иммунной системы и исследование протекторных свойств селена в отношении иммунотоксического действия свинца в эксперименте.

**Цель исследования** – экспериментальное изучение состояния некоторых параметров клеточного иммунитета при хронической свинцовой интоксикации и анализ возможности профилактического влияния селенита натрия.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на 72 мышах-самцах линии Balb/c с исходной массой 18–22 г. Для создания модели свинцовой интоксикации мышам спаивали свинец с водой в виде 0,2% раствора ацетата свинца в течение 12 недель. Для изучения модифицирующего действия селена на токсические эффекты свинца в корм мышей добавляли селенит натрия в дозе 2 мг/кг. В каждой серии экспериментов животных делили на три группы, при этом животные I группы служили контролем и получали ежедневно дистиллированную воду, животные II группы получали ацетат свинца, III группа животных получала одновременно с ацетатом свинца селенит натрия в течение всего эксперимента. Пролиферативную активность лимфоцитов мышей оценивали в спонтанной и стимулированной митогеном реакции бласттрансформации. Учет результатов проводили морфологически. Реакцию контактной чувствительности к 2,4-динитрофторбензолу оценивали по величине отека уха у мышей.

**Результаты.** На ранних сроках интоксикации ацетат свинца оказывал стимулирующее действие на уровень спонтанного пролифе-

ративного ответа лимфоцитов мышей, существенно не влияя на, индуцированную ФГА, бласттрансформацию. На 4 неделе эксперимента уровень спонтанной бласттрансформации во II группе составил  $7,1 \pm 0,56\%$ , что в 1,6 раза выше ( $p < 0,05$ ), чем в группе контроля. На 12 неделе эксперимента стимулирующий эффект ацетата свинца сменился угнетением как спонтанной, так и индуцированной ФГА бласттрансформации, по сравнению с показателями животных контрольной группы. Уровень спонтанной пролиферации в группе животных, получавших изолированное введение ацетата свинца, составил  $3,7 \pm 0,47\%$ ; при действии ФГА данный показатель составил  $8,4 \pm 0,85$ , что было ниже контрольных значений в 1,2 ( $p < 0,05$ ), в 1,5 ( $p < 0,001$ ), соответственно.

При изучении иммуномодулирующей активности селенита натрия на бласттрансформацию лимфоцитов мышей в условиях свинцовой интоксикации нами получены следующие данные. На 4 неделе эксперимента не установлено статистически значимых различий в показателях пролиферативной активности лимфоцитов мышей между II и III группами. В группе получавшей коррекцию селеном, так же как и в группе, получавшей изолированное введение ацетата свинца, наблюдалось значимое ( $p < 0,05$ ) повышение уровня спонтанной трансформации по сравнению с группой контроля. В поздние сроки эксперимента: спонтанная трансформация лимфоцитов составила  $7,6 \pm 0,50\%$ , что выше, чем в группе, получавшей изолированное введение ацетата свинца ( $p < 0,05$ ) и в группе контроля ( $p < 0,05$ ). При действии ФГА данный показатель составил  $10,8 \pm 0,50\%$ , что достоверно ( $p < 0,05$ ) превышает показатели во II группе.

Введение ацетата свинца вызывало практически полное подавление реакции контактной чувствительности – выраженность отека уха у животных, получавших свинец, была достоверно ниже ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой контроля. Выраженность супрессии реакции контактной чувствительности при свинцовой интоксикации зависела от продолжительности интоксикации. На 4 неделе эксперимента в группе мышей, получавших изолированное введение ацетата свинца, процент супрессии

составил  $53,10 \pm 3,79\%$ , к 12 неделе эксперимента –  $81,1 \pm 4,42\%$ .

Селенит натрия оказывал статистически значимое протективное действие на данной экспериментальной модели, что проявлялось в достоверно меньшем ( $p < 0,05$ ) угнетении реакции контактной чувствительности к 2,4-динитрофторбензолу у мышей. Процент супрессии в группе, получавшей коррекцию селеном, на 4 неделе составил  $5,5 \pm 0,72\%$ , а на 12 неделе –  $22,0 \pm 0,63\%$ , что статистически достоверно меньше ( $p < 0,05$ ), чем в группе, получавшей изолированное введение ацетата свинца.

Таким образом, хроническая свинцовая интоксикация приводит к глубокому угнетению клеточного иммунитета, что проявляется в снижении как спонтанной, так и индуцированной митогенами пролиферации лимфоцитов, подавлении реакции контактной чувствительности. Добавление селенита натрия в рацион экспериментальных животных, получавших ацетат свинца, способствовало повышению пролиферативной активности Т-лимфоцитов и реакции контактной чувствительности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ashry K. M. et al. Oxidative stress and immunotoxic effects of lead and their amelioration with myrrh (*Commiphora molmol*) emulsion. / Ashry K. M., El-Sayed Y.S., Khamiss R. M., El-Ashmawy I.M. // *Food Chem Toxicol.* 2010.
2. Falana B. A. et al. Role of Se+Zn in regeneration (Ki-67) following Pb toxicity (p53 and cad) in the germinal epithelium of adult Wistar rats. / Falana B. A., Ogundele O.M., Duru F., Oshinubi A. A., Falode D. T. // *Pak J Biol Sci.* 2013 Jan 15;16 (2):67-73.
3. Sharma S., Raghuvanshi B. P., Shukla S. Toxic effects of lead exposure in rats: involvement of oxidative stress, genotoxic effect, and the beneficial role of N-acetylcysteine supplemented with selenium. // *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2014;33 (1):19-32.
4. Sharma S. et al. Lead acetate-induced hepatotoxicity in wistar rats: possible protective role of combination therapy. / Sharma S., Raghuvanshi S., Jaswal A., Shrivastava S., Shukla S. // *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2015;34 (1):23-34.
5. Velaga M. K. et al. Attenuation of lead-induced oxidative stress in rat brain, liver, kidney and blood of male Wistar rats by *Moringa oleifera* seed powder. / Velaga M. K., Daughtry L. K., Jones A. C., Yallapragada P. R., Rajanna S., Rajanna B. // *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2014;33 (4):323-37.

## STATE CELLULAR IMMUNITY IN MICE CHRONIC LEAD INTOXICATION AGAINST PROPHYLACTIC ADMINISTRATION OF SODIUM SELENITE

Ovsyannikova A. I., Bolieva L. Z.

*North-Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, Russia*

The aim of the study was an experimental study of the state of some parameters of cellular immunity in chronic lead intoxication and analysis of possible prophylactic effect of sodium selenite. Mice Pb solder with water in the form of 0.2% lead acetate solution for 12 weeks. To study the modifying effect of Se on the toxic effects of lead in the feed was added sodium selenite mice at a dose of 2 mg/kg. The animals were divided into three groups: I group – control (water); Group II – Pb, III group – Pb + Se. Chronic lead poisoning leads to a profound inhibition of cell-mediated immunity, which is manifested in reduction of spontaneous and PHA induced lymphocyte proliferation, inhibition of the reaction of contact sensitivity. Addition of Se in the diet of experimental animals treated with Pb, helped increase the proliferative activity of T-lymphocytes and contact sensitivity reaction.

---

---

## ВЛИЯНИЕ ПАРАТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ГИБЕЛИ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Осиков М. В., Черепанов Д. А., Маркова В. А.

*ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия*

Паратиреоидный гормон (ПТГ) может вносить вклад в изменение иммунного статуса при хронической почечной недостаточности и др. состояниях, сопровождающихся развитием гиперпаратиреоза, повышением концентрации ПТГ в сыворотке. Для проверки гипотезы исследовали влияние ПТГ в концентрациях 0 г/мл (контроль);  $50 \cdot 10^{-9}$  г/мл;  $500 \cdot 10^{-9}$  г/мл и  $5000 \cdot 10^{-9}$  г/мл на показатели гибели лимфоцитов клинически здоровых людей-доноров после 30 мин инкубации при 37°C. На проточном цитофлуориметре дифференцировали интактные клетки (Annexin-5-FITC<sup>-</sup>/PI<sup>-</sup>), клетки с ранними признаками апоптоза (Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/PI<sup>-</sup>), клетки с поздними признаками апоптоза и частично некротические клетки (Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup>), клетки с признаками некроза (Annexin-5-FITC<sup>-</sup>/PI<sup>+</sup>). Установлено, что ПТГ в дозе  $50 \cdot 10^{-9}$  г/мл ПТГ не оказывает влияния на показатели гибели лимфоцитов, в дозе  $500 \cdot 10^{-9}$  г/мл и  $5000 \cdot 10^{-9}$  г/мл увеличивает количество лимфоцитов с ранними, поздними признаками апоптоза, признаками некроза и снижает количество интактных клеток с максимальным эффектом в дозе  $5000 \cdot 10^{-9}$  г/мл. Увеличение количества лимфоцитов с ранними признаками апоптоза и снижение количества интактных клеток зависят от дозы ПТГ.

*Ключевые слова:* паратиреоидный гормон, лимфоциты, апоптоз, некроз

Ранее нами продемонстрированы изменения иммунного статуса при хронической почечной недостаточности (ХПН) в клинических и в экспериментальных условиях, включающие активацию эффекторов врожденного иммунитета и подавление адаптивного иммунитета [3]. Одним из механизмов депрессии адаптивного иммунитета при ХПН выступает лимфоцитопения и повышение гибели лимфоцитов периферической крови путем апоптоза и некроза.

Патогенез усиленной гибели лимфоцитов в кровотоке при ХПН является многофакторным: накопление продуктов метаболизма, активация процессов свободно-радикального окисления, изменение цитокинового профиля, межклеточной кооперации и др. факторы [1,2]. Вторичный гиперпаратиреоз при ХПН и накопление паратиреоидного гормона (ПТГ) в крови могут оказывать влияние на гибель лимфоцитов прямо или опосредованно, учитывая наличие спец-

и физических рецепторов для ПТГ на цитоплазматической мембране лейкоцитов [4].

**Цель работы** – в условиях *in vitro* исследовать влияние различных концентраций ПТГ на показатели гибели лимфоцитов периферической крови.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на цельной крови 10 клинически здоровых людей-доноров. Для выделения чистой фракции лимфоцитов использовали градиент плотности стерильных растворов фиколла («Pharmacia», Швеция) и верографина («Srofa», Чехия), плотность верхнего слоя 1,075-1,077 г/см<sup>3</sup>, нижнего – 1,093-1,095 г/см<sup>3</sup>. Лимфоциты трижды отмывали в среде 199, доводили до концентрации 3•10<sup>6</sup>/л. К 100 мкл суспензии лимфоцитов добавляли 100 мкл ПТГ в концентрациях 0 г/мл (контроль); 50•10<sup>-9</sup> г/мл; 500•10<sup>-9</sup> г/мл и 5000•10<sup>-9</sup> г/мл, что соответствует 0%, 100%, 1000%, 10000% от его нормальной концентрации в сыворотке. После 30 мин инкубации в условиях термостата при 37°C оценивали гибель клеток при окрашивании конъюгированным с флуорохромом аннексином V (Annexin-5-FITC) и иодидом пропидия (PI) из набора «Annexin 5-FITC/PI kit» («Beckman Coulter», США) на проточном цитофлуориметре «Navios» («Beckman Coulter», США). Дифференцировали интактные клетки (Annexin-5-FITC<sup>-</sup>/PI<sup>-</sup>), клетки с ранними признаками апоптоза (Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/PI<sup>-</sup>), клетки с поздними признаками апоптоза и частично некротические клетки (Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup>), клетки с признаками некроза (Annexin-5-FITC<sup>-</sup>/PI<sup>+</sup>). Для оценки различий между группами использовали парный критерий Вилкоксона, при проведении корреляционного анализа – коэффициент корреляции Спирмена (R).

**Результаты исследования.** Установлено, что контакт лимфоцитов с ПТГ в концентрации 50•10<sup>-9</sup> г/мл не изменяет количество лимфоцитов с признаками апоптоза и некроза. Инкубация лимфоцитов с ПТГ в дозе 500•10<sup>-9</sup> г/мл увеличивает количество лимфоцитов с ранними признаками апоптоза, Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/PI<sup>-</sup> (7,96%±0,99%; в контроле 7,44%±0,93%; p<0,05). Добавление ПТГ в дозе 5000•10<sup>-9</sup> г/мл приводит к увеличению количества лимфоцитов с ранними признаками апоптоза (8,96%±0,94%; p<0,05), поздними признаками апоптоза и частично некротических клеток (0,68%±0,05%; в контроле 0,56%±0,06%; p<0,05) и как следствие снижению количества интактных кле-

ток (90,16%±0,99%; в контроле 91,74%±0,98%; p<0,05). С использованием корреляционного анализа выявлено наличие обратной средней силы связи между дозой ПТГ и количеством интактных клеток (R= - 0,37; p<0,05), прямой средней силы связи между дозой ПТГ и количеством клеток с ранними признаками апоптоза (R= 0,38; p<0,05). Известно, что ПТГ через взаимодействие с рецепторами на поверхности лимфоцитов приводит к активации Gs- и Gq-белок-ассоциированных внутриклеточных сигнальных путей, в том числе связанных с цАМФ/протеинкиназой А, фосфолипазой С, протеинкиназой С, ионизированным кальцием [5]. Полагают, что протеинкиназа С-зависимый путь, повышение концентрации ионизированного кальция в цитоплазме лимфоцитов приводят к снижению клеточной пролиферации и активации апоптоза.

Таким образом, ПТГ выступает в роли фактора активации гибели лимфоцитов путем апоптоза и некроза в диапазоне доз от 500•10<sup>-9</sup> г/мл до 5000•10<sup>-9</sup> г/мл, максимальный эффект проявляется в дозе 5000•10<sup>-9</sup> г/мл увеличением количества лимфоцитов с ранними и поздними признаками апоптоза, некроза и снижением количества интактных клеток. Увеличение количества лимфоцитов с ранними признаками апоптоза и снижение количества интактных клеток зависят от дозы ПТГ. В дозе 50•10<sup>-9</sup> г/мл ПТГ не оказывает влияния на показатели гибели лимфоцитов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Осиков М.В. Влияние гемодиализа на процессы свободно-радикального окисления у больных хронической почечной недостаточностью / М.В. Осиков, В.Ю. Ахматов, Л.В. Кривохижина // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2007. – № 16. – (71). – С. 95-97.
2. Осиков М.В. Роль эритропоэтина в реализации тромбоцитарно-клеточных взаимодействий в крови при хронической почечной недостаточности / М.В. Осиков, Т.А. Григорьев, А.А. Федосов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 10-2. – С. 285-289.
3. Осиков М.В. Уровень эритропоэтина и иммунный статус организма у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе / М.В. Осиков, Л.Ф. Телешева, Ю.И. Агеев и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4. – URL: [www.science-education.ru/110-9973](http://www.science-education.ru/110-9973) (дата обращения: 15.04.2015).

4. Seeliger S. The parathyroid hormone-2 receptor is expressed on human leukocytes and down-regulated in hyperparathyroidism / S. Seeliger, M. Hausberg, I. Eue et al. // Clin Nephrol.– 2003.– Vol. 59 (6).– P. 429-435.
5. Vilardaga J.P. Molecular basis of parathyroid hormone receptor signaling and trafficking: A family B GPCR paradigm / J.P. Vilardaga, G. Romero, P.A. Friedman et al. // Cell Mol Life Sci.– 2011.– Vol. 68 (1).– P. 1–13.

## EFFECTS OF PARATHYROID HORMONE ON PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES DEATH

M. V. Osikov, D. A. Cherepanov, V. A. Markova

*South Ural State Medical University, Russian Ministry of Health, Chelyabinsk, Russia*

Parathyroid hormone (PTH) may cause the change in the immune status of patients with chronic renal failure and other conditions accompanied with hyperparathyroidism, increased serum concentrations of PTH. To verify the hypothesis we investigated the effect of PTH in concentrations of 0 g/ml (control);  $50 \cdot 10^{-9}$  g/ml;  $500 \cdot 10^{-9}$  g/ml and  $5000 \cdot 10^{-9}$  g/ml on lymphocyte death rates of clinically healthy subjects after 30 min incubation at 37 °C. A flow cytometer differentiated intact cells (Annexin-5-FITC<sup>-</sup>/PI<sup>-</sup>), cells with early signs of apoptosis (Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/PI<sup>-</sup>), cells with later apoptosis signs and partially necrotic cells (Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup>), necrotic cells (Annexin-5-FITC<sup>-</sup>/PI<sup>+</sup>). It was found that PTH in dose of  $50 \cdot 10^{-9}$  g/ml not have any effect on the death of lymphocytes, in a dose of  $500 \cdot 10^{-9}$  g/ml and  $5000 \cdot 10^{-9}$  g/ml increases the amount of lymphocytes with early, late signs of apoptosis and necrosis signs, decreases the number of intact cells with a maximal effect at a dose of  $5000 \cdot 10^{-9}$  g/ml. Increasing the number of lymphocytes with early signs of apoptosis and decreasing in the number of intact cells depends on the dose of PTH.

*Key words:* parathyroid hormone, lymphocytes, apoptosis, necrosis

## ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДЕСИНХРОНОЗЕ В УСЛОВИЯХ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ

Осиков М. В.<sup>1</sup>, Гизингер О. А.<sup>2</sup>, Огнева О. И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-образовательный центр «Проблемы фундаментальной медицины»;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский университет  
Минздрава России, Челябинск, Россия

К возникновению десинхроноза, являющегося ключевым звеном в патогенезе многих заболеваний, может приводить удлинение светового периода за счет использования искусственного освещения, в том числе светодиодного, в ночное время. Цель работы – исследовать влияние экзогенного мелатонина на показатели врожденного иммунитета при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного искусственного освещения. Исследование выполнено на 58 половозрелых морских свинках. Световой десинхроноз создавали путём содержания животных при круглосуточном освещении в течение 30 суток. Раствор мелатонина готовили из препарата «Мелаксен» (МНН: мелатонин, «Юнифарм Инк.», США) extempore, суммарная доза составила 30 мг/кг. Установлено, что при экспериментальном десинхронозе наблюдается нейтрофильный лейкоцитоз, лимфоцитопения и моноцитопения, активация кислород-зависимого метаболизма фагоцитов в периферической крови. Применение при десинхронозе мелатонина в суммарной дозе 30 мг/кг приводит к восстановлению количественного состава лейкоцитов в периферической крови, генерации АФК нейтрофилами и активации поглотительной способности нейтрофилов.

К возникновению десинхроноза, являющегося ключевым звеном в патогенезе многих заболеваний, может приводить удлинение светового периода за счет использования искусственного освещения в ночное время [1]. В настоящее время для интерьерного, уличного, производственного освещения начинают применяться светодиодные искусственные источники. Развитие десинхроноза связывают с изменением синтеза мелатонина. Показано, что изменение цикличности синтеза и секреции мелатонина нарушает процессы пролиферации, дифференцировки, миграции, кооперации иммунокомпетентных клеток [3]. Для фармакологической коррекции и профилактики последствий нарушений гомеостаза при десинхронозе важно понимание механизма действия мелатонина, в том числе механизм иммуотропных эффектов мелатонина.

**Цель работы** – исследовать влияние экзогенного мелатонина на показатели врожденного иммунитета при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного искусственного освещения.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на 58 нелинейных половозрелых морских свинках массой  $300 \pm 50$  г, которых содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами гуманного отношения к животным, методическими рекомендациями по их выведению из опыта и эвтаназии. Животные случайным образом были распределены на 3 группы. Группа 1 ( $n=20$ ) – животные, находящиеся в условиях стандартного фиксированного (12 ч свет/12 ч темнота) освещения (СФО), генерируемого светодиодными носителями («Открытые инженерные системы», Россия), цветовая температура 4500 К (белый свет). Группа 2 ( $n=20$ ) – десинхроноз в условиях светодиодного освещения, цветовая температура 4500 К (белый свет). Группа 3 ( $n=18$ ) – животные, которым на фоне десинхроноза вводили экзогенный мелатонин. Световой десинхроноз создавали путём содержания лабораторных животных при круглосуточном освещении. Введение мелатонина животным осуществляли *per os* в дозе 1 мг/кг ежедневно в 21 ч с 1 суток от начала эксперимента в течение 30 дней, суммарная доза составила 30 мг/кг. Раствор мелатонина в изотоническом растворе NaCl готовили из препарата «Мелаксен» (МНН: мелатонин, «Юнифарм Инк.», США) *extempore*. Животным 2 группы вводи-

ли эквивалентное количество изотонического раствора NaCl. Кровь у животных забирали путем пункции левого желудочка сердца на 10 сутки, 20 сутки, 30 сутки эксперимента. Для исследования врожденного иммунитета в крови общепринятыми методами определяли количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу и функциональную активность нейтрофилов по показателям спонтанного и индуцированного НСТ-теста и поглощению частиц монодисперсного полистирольного латекса. Методом иммуоферментного анализа на аппарате «Иммулайт 2000» (США) определяли в сыворотке концентрацию мелатонина с помощью специфичной для морских свинок тест-системы «Cusabio» (Китай). Статистический анализ проведен с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows 10.0.

**Результаты исследования.** Установлено, что при экспериментальном десинхронозе в периферической крови на 10 и 20 сутки повышается общее количество лейкоцитов, на 10, 20 и 30 сутки повышается количество сегментоядерных нейтрофилов и как следствие общее количество нейтрофилов, снижается количество моноцитов, на 30 сутки снижается количество лимфоцитов. При оценке функциональной активности нейтрофилов периферической крови на 20 и 30 сутки обнаружено повышение генерации АФК нейтрофилами по показателям спонтанного и индуцированного НСТ-теста. На 10, 20 и 30 сутки при десинхронозе в плазме снижается концентрация мелатонина. Разнонаправленные изменения количественного состава лейкоцитов в крови при десинхронозе могут быть связаны с угнетением пролиферации и дифференцировки клеток лимфоидного ряда в тимусе и в селезенке [2]. Нейтрофильный лейкоцитоз при десинхронозе может рассматриваться как проявление стресс-реакции; известно, что стресс-потенцирующие гормоны обладают демаргинирующим действием на пристеночный пул нейтрофилов.

Введение экзогенного мелатонина при экспериментальном десинхронозе приводит к восстановлению количественного состава лейкоцитов в периферической крови: на 20 и 30 сутки уменьшается количество сегментоядерных нейтрофилов и общее количество нейтрофилов, на 20 и 30 сутки повышается количество моноцитов, на 30 сутки повышается количество лимфоцитов. При введении мелатонина

на 30 сутки наблюдения активируется поглотительная способность нейтрофилов в периферической крови по показателям активности и интенсивности фагоцитоза, снижается генерация АФК нейтрофилами по показателям активности и интенсивности индуцированного НСТ-теста. В плазме крови повышается концентрация мелатонина на 10, 20 и 30 сутки эксперимента.

Иммунотропные эффекты мелатонина могут быть обусловлены его прямым рецепторопосредованным действием на иммунокомпетентные клетки, а также влиянием на них гормонов, цитокинов, нейрогенными эффектами в условиях применения мелатонина. В литературе имеются противоречивые данные о влиянии мелатонина на поглотительную способность, окислительные процессы в фагоцитах в зависимости от применяемой дозы и способа введения мелатонина, исходного функционального состояния клетки и метода регистрации [4]. Считается, что мелатонин, действуя через мембранные рецепторы на нейронах передней доли гипофиза, снижает выброс АКТГ, концентрацию кортизола и катехоламинов, способствуя восстановлению количественного состава и функциональной активности лейкоцитов [5].

Таким образом, при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения наблюдается нейтрофильный лейкоцитоз,

лимфоцитопения и моноцитопения, активация кислород-зависимого метаболизма фагоцитов в периферической крови. Применение при десинхронозе мелатонина в суммарной дозе 30 мг/кг приводит к восстановлению количественного состава лейкоцитов в периферической крови, генерации АФК нейтрофилами и активации поглотительной способности нейтрофилов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов В.Н. Мелатонин роль в организме, применение в клинике.– СПб.: Издательство «Система», 2007. 40 с.
2. Шурлыгина А.В., Мельникова Е.В., Пантелеева Н.Г., Тендитник М.В., Душкин М.И., Храпова М.В., Труфакин В.А. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.–2013.– Т. 155. № 5.– С. 611-614.
3. Claustrat A., Brunand J., Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin // Sleep Medicine Reviews.– 2005.– Vol. 9.– P.11-24.
4. Terron M. P., Paredes S. D., Barriga C. et al. Oral administration of melatonin to old ring doves (*Streptopelia risoria*) increases plasma levels of melatonin and heterophil phagocytic activity // J. Gerontol. A Biol. Sci.– 2005.– Vol. 60 (1).– P. 44-50.
5. Tsukamoto N., Otsuka F., Ogura-Ochi K., Inagaki K. and al. Melatonin receptor activation suppresses adrenocorticotropin production via BMP-4 action by pituitary AtT20 cells// Mol. Cell. Endocrinol.– 2013.– Vol. 375 (1-2).– P. 1-9.

### THE EFFECT OF MELATONIN FOR CONGENITAL IMMUNITY EXPERIMENTAL DESYNCHRONOSIS UNDER THE LED LIGHTING

Osikov M. V.<sup>1</sup>, Gizinger O. A.<sup>2</sup>, Ogneva O. I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research and Education Center of Basic Medicine Issues; <sup>2</sup>South Ural State Medical University, Russian Ministry of Health, Chelyabinsk, Russia

By the appearance of desynchronization, which is a key element in the pathogenesis of many diseases, can cause elongation of the light period due to the use of artificial lighting, including LED, at night. The aim was to investigate the effect of exogenous melatonin on the indices of innate and adaptive immunity in experimental desynchronization in conditions led artificial lighting. The study was performed on 58 adult Guinea pigs. Light desynchronization created by the animals in the clock coverage for 30 days. The solution was prepared from the formulation of melatonin “melaxen” (INN: melatonin, “Unipharm Inc.,” US) ex tempore, the total dose was 30 mg / kg. It was found that the experimental desynchronization observed leukocytosis, lymphopenia and monotsitopeniya, activation of oxygen-dependent metabolism of phagocytes in peripheral blood. Application of desynchronization melatoninat a total dose of 30 mg/kg resulted in a restoration of the quantitative composition of leukocytes in peripheral blood neutrophils and adsorption capacity and oppressed oxygen dependent metabolism neutrophils.

## ЦИТОКИНЫ ПРИ СОЧЕТАННОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ: БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Оспельникова Т. П.<sup>1</sup>, Осипова Г. А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России; <sup>2</sup>ФГУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России, Москва, Россия

Рассмотрены особенности фенотипа «Бронхиальная астма (БА) ассоциированная с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ)» в сравнении как с БА, так и ХОБЛ, по продукции регуляторных цитокинов клетками крови и индуцированной мокроты.

Ежегодный рост заболеваний, имеющих в своем патогенезе обструкцию дыхательных путей с воспалительным процессом, отмечается во всём мире. К таким заболеваниям, прежде всего, относят бронхиальную астму (БА) и хроническую обструктивную болезнь лёгких (ХОБЛ). Отмечены их сочетанные проявления у больных с обструкцией дыхательных путей [1,2]. По совокупности критериев около 10% больных ХОБЛ рассматриваются как сочетание ХОБЛ и БА [3]. В патогенезе ХОБЛ и БА главную роль играет воспалительный процесс, вовлекающий определенные медиаторы и клетки иммунной системы. При БА воспалительные изменения характеризуются эозинофильной инфильтрацией, активацией тучных клеток, увеличением количества клеток Th 2 типа, которые запускают аллергические реакции через высвобождение различных цитокинов. При утяжелении течения заболевания с развитием необратимой бронхообструкции усиливается инфильтрация слизистой оболочки бронхов нейтрофилами и наблюдается активация Th1- и Th17-клеток, свойственная ХОБЛ [3]. По-видимому, воспалительные фенотипы перекрывают патогенетические механизмы астмы и ХОБЛ [4].

**Целью** нашей работы было выявление наиболее значимых цитокинов при сочетанной обструктивной патологии: БА и ХОБЛ.

**Материалы и методы.** Обследовано 59 пациентов с обструктивными состояниями и верифицированным диагнозом по GINA и GOLD средней возрастной группы со стажем заболевания более 10 лет: 9 больных БА, 11 – ХОБЛ, 18 – БА, отягощенной ХОБЛ (БА+ХОБЛ), 21 – ХОБЛ,

сочетанной с БА (ХОБЛ+БА). Всем пациентам были проведены клиничко-функциональные пробы, биологический культуральный метод определения интерферонового (ИФН) статуса, цитокиновый статус методом ИФА, выявление антигенов *Mycoplasma pneumoniae* и IgG антител к *Chlamydoiphila pneumonia*. Биологический материал больных для исследования: гепаринизированная кровь, сыворотка крови и индуцированная мокрота. Определяемый цитокиновый спектр: про- и противовоспалительные цитокины с определением их в индуцированной мокроте и сыворотке крови. Количественное определение цитокинов проводили с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия): ИЛ1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН $\alpha$ , ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-17 и TGFβ1 (Bender MedSystems).

**Результаты и обсуждение.** Исследование системы ИФН показало недостаточность функциональной способности лейкоцитов крови к продукции ИФН- $\alpha$  и - $\gamma$  (ед/мл) во всех группах больных с более выраженным дефицитом у пациентов с ХОБЛ [80 (10;160) и 8 (8;24)] и, особенно, в сочетании с БА [60 (10;80) и 8 (4;16)]. Продукция ИФН- $\alpha$  и - $\gamma$  лейкоцитами у больных БА составила [160 (40;320) и 12 (8;24)] и при астме с присоединением ХОБЛ [160 (60;240) и 12 (8;24)]. На фоне интерферондефицита выявлены антигены *M.pn.* у 71% пациентов с ХОБЛ+БА и БА, 50% – у БА+ХОБЛ и ХОБЛ. Диагностические титры IgG к *S.pn.* выявлены у 50% больных ХОБЛ, у 44,4% больных БА, 41% – (ХОБЛ+БА) и 36,8% у – (БА+ХОБЛ). В анамнезе пациентов при сочетанной патологии ОРЗ были более частыми, составляя

в среднем 3-4 раза в год, в то время как при ХОБЛ – 2-3 раза/год, при астме – 2 раза/год.

У больных всех групп в индуцированной мокроте определены цитокины (пг/мл) разной степени выраженности: ИЛ-8, ИЛ1 $\beta$ , TGF $\beta$ 1, ИФНа, ИФН $\gamma$ . У больных ХОБЛ+БА при уже перечисленных цитокинах дополнительно выявлен ИЛ-6, у больных ХОБЛ – ещё ИЛ-6, ИЛ-4. В группе больных ХОБЛ представлены более значительные концентрации воспалительных цитокинов ИЛ-8 [5364(1834;9300)], ИЛ1 $\beta$  [324(6;4295)], ИФНа [30(6;423)], ИФН $\gamma$  [80(27;219)], и в то же время в этой группе отмечены высокие уровни противовоспалительного цитокина ИЛ-4 [60(0;540)] и TGF $\beta$ 1 [234(10;1899)], способствующего развитию фиброза в мелких бронхах. Высокий уровень TGF $\beta$ 1 [463(10;1096)] и ИЛ1 $\beta$  [127(29;282)] определен в мокроте больных с астмой. Выявлено, что при БА+ХОБЛ более высокие концентрации ИЛ-8 [3876(194;11040)], TGF $\beta$ 1 [90(10;866)], ИФНа [19(6;510)], чем при ХОБЛ+БА соответственно [636(10;10290)], [10(10;407)], [6(6;540)]. ИЛ-10 присутствовал в мокроте у части больных и более выражен при сочетанной патологии.

В сыворотке крови у больных ХОБЛ можно отметить TGF $\beta$ 1, ИЛ-8 в высоких концентрациях. Содержание ИЛ-6, ИФНа, ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-10 менее выражено, но присутствует в представленных группах. Следует отметить, что ИЛ-17 не был выявлен ни у одного из 59 пациентов ни в мокроте, ни в сыворотке крови. Также в сыворотке крови обследуемых не выявлен ИЛ 1 $\beta$ .

Как известно, острое или хроническое альвеолярное/бронхиальное воспаление при БА и ХОБЛ является ключевым фактором в развитии патогенеза с привлечением в легочную ткань и активацией цитокин-продуцирующих воспалительных клеток. Полученные результаты показывают важный цитокиновый спектр при данных формах обструктивной патоло-

гии (TGF $\beta$ 1, ИЛ-8, ИЛ1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10, ИФНа, ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ ). Так, в мокроте больных ХОБЛ были выявлены в значительных количествах регуляторные цитокины воспаления ИЛ-8, ИЛ1 $\beta$ , ИЛ-6, ИФНа и ИЛ-4. При сочетанной форме патологии их количество в мокроте менее показательно. TGF $\beta$ 1 в мокроте значительно увеличен при БА и ХОБЛ, нежели при их сочетаниях. В сыворотке отмечены более выраженные значения цитокинов TGF $\beta$ 1 и ИЛ-8, указывающие на системный нейтрофильный характер воспаления у больных с ХОБЛ и в комбинации с астмой. TGF $\beta$ 1 относится к значимым иммуносупрессорным цитокинам, может контролировать Th1 дифференцировку. Функциональная недостаточность лейкоцитов в продукции ИФН более выражена при ХОБЛ и ХОБЛ+БА. У этих же больных в сыворотке отмечены провоспалительные цитокины ИФН $\gamma$  и ИФНа. К тому же, вирусные и бактериальные инфекции могут вносить свой вклад в патогенез и прогрессирование обструктивных воспалительных заболеваний, являясь индукторами воспалительного процесса [5].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Руководство по диагностике, лечению и профилактике бронхиальной астмы. /Под ред А.Г. Чучалина. М., 2005, 51 с.
2. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни лёгких. /Пересмотр 2008 г. М., 2009, 99 с.
3. Barnes P. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8: 183-192.
4. Bafadhel M., McCormick M., Saha S., McKenna S., Shelley M. et al. Profiling of sputum inflammatory mediators in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration.* 2012; 83: 36-44.
5. Seemungal T., et al. Respiratory viruses, symptoms and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 164 (9): 1618-1623.

### CYTOKINES IN COMBINED BRONCHIAL PATHOLOGY: BRONCHIAL ASTHMA AND CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

T. P. Ospelnikova<sup>1</sup>, G. L. Osipova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Federal State Institution "N.F.Gamaleya Research Institute", Health Ministry of Russia; <sup>2</sup>Federal State Institution "Pulmonology Research Institute" Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russia

The features of the phenotype "Bronchial asthma (BA) associated with the chronic obstructive pulmonary disease (COPD)" in comparison with both asthma and COPD, product regulatory cytokines blood cells and induced sputum.

## РАССЕЯННЫЙ СКЛЕРОЗ И ВЫЯВЛЕНИЕ НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ АНТИТЕЛ

Оспельникова Т. П.<sup>1</sup>, Лиждвой В. Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России;

<sup>2</sup>ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия

**Введение.** Нейтрализующие антитела (НАТ) влияют на эффективность интерферон бета (ИФН $\beta$ ) терапии у больных с рассеянным склерозом (РС). НАТ выявляют практически у 40% леченных ИФН $\beta$  пациентов, обычно между 6-18 месяцами терапии. **Цель.** Выявление нейтрализующих антител у пациентов с РС, длительно применяющих препараты ИФН $\beta$ . **Материалы и методы.** Собрана и обследована сыворотка крови 28 пациентов с РС после длительной ИФН $\beta$  терапии; проведена реакция по выявлению НАТ методом оценки цитопатического эффекта. **Результаты.** Выявлены НАТ у 8 из 28 (28.6%) пациентов РС на терапии препаратами ИФН в течение времени от 16 до 42 месяцев. **Выводы.** Выявление НАТ является важной информацией реагирования организма больного РС на длительную ИФН $\beta$  терапию.

**Ключевые слова:** рассеянный склероз, препараты интерферона  $\beta$ , нейтрализующие антитела

**Введение.** Рассеянный склероз (РС) является аутоиммунным неврологическим заболеванием, поражающим более 2,5 млн. в основном молодых людей от 18 до 45 лет, и приводящим больных к инвалидизации. В Российской Федерации количество больных оценивается в 500 тысяч человек с ежегодным увеличением их числа на 5-7% [1]. Особенностью заболевания является одновременное поражение различных отделов центральной нервной системы (ЦНС) с множественными очагами демиелинизации и разнообразием неврологических симптомов. В настоящее время в стандарты лечения РС входят иммуномодулирующие препараты интерферона бета (ИФН $\beta$ ), способствующие достижению и продлению ремиссии; улучшению неврологических функций; коррекции нарушений со стороны систем ИФН и иммунитета. ИФН $\beta$  относят к препаратам первого выбора: наиболее длительно в терапии используют ИФН $\beta$ -1b и также ИФН $\beta$ -1a. Клинические испытания показали, что длительное применение ИФН  $\beta$  приводит к стабилизации патологического процесса и замедлению прогрессирования неврологических симптомов, т.е. к увеличению длительности ремиссии. Следует отметить, что длительное применение интерферонотерапии приводит к образованию

антител, способных частично нейтрализовать действие препарата [2]. В связи с этим целью исследования было оценить образование нейтрализующих антител (НАТ) в сыворотке крови больных РС в процессе лечения.

**Материалы и методы.** Наблюдали 28 пациентов с диагнозом РС согласно обновленным диагностическим критериям W.J. MacDonald в модификации 2010 г., (ремиттирующее течение – у 23 пациентов, вторично-прогредиентное течение (ВПТ) – у 5) в стадии неполной ремиссии заболевания. Все пациенты проходили лечение в неврологическом отделении МОНИКИ.

Результаты объективного неврологического обследования оценивались по общепринятой шкале клинической оценки функционального состояния проводящих систем при этом заболевании, предложенной J. Kurtzke, и шкале инвалидизации EDSS (Expanded Disability Status Scale). Пациенты: женщины n=16, мужчины n=12, с продолжительностью болезни 7,63  $\pm$  4,87 лет, легкой и в основном средней степени тяжести ремиттирующего течения (EDSS в ремиссии в среднем составила 2,96  $\pm$  1,14 баллов); тяжелой степени при ВПТ (EDSS 6,2  $\pm$  0,27 баллов). Пациенты получали препараты рекомбинантного ИФН $\beta$ -1b в дозе 9,6 млн. Ед или 8 млн. Ед, ИФН $\beta$ -1a в дозе 22 мкг.

Проведено определение титра НАТ в реакции нейтрализации антивирусной активности методом биологического титрования. Сыворотки от пациентов, леченных каким-либо выше обозначенным рекомбинантным ИФН $\beta$ , были оценены на наличие нейтрализующих антител к применяемому пациентом препарату. Антитела сыворотки, нейтрализующие активность какого-либо препарата ИФН $\beta$ , отражены в способности сыворотки нейтрализовать активность препарата в количественном значении, что определяли по цитодеструктивному действию классического тест-вируса ЕМС (вирус энцефаломиокардита мышей) на клетки ФЛЭЧ и измеряли в условных лабораторных единицах.

Статистическую обработку проводили, используя программу «BioStat».

**Результаты и обсуждение.** Влияние НАТ на ИФН $\beta$  эффективность у больных РС является объектом споров. По данным литературы [3, 4], на эффективность ИФН $\beta$  терапии у больных РС влияют НАТ, которые, как известно, развиваются у 44% больных обычно между 6-18 месяцев терапии, поэтому специалисты предлагают, чтобы ИФН $\beta$ -леченных пациентов регулярно проверяли на НАТ к ИФН $\beta$  [5], по крайней мере, каждые 6-12 месяцев, для оценки эффективности лечения.

Пациенты длительно применяли препараты рекомбинантного ИФН $\beta$ . ИФН $\beta$ -1b в дозе 8 млн. Ед применяли 7 пациентов в среднем 2,2 года; ИФН $\beta$ -1b в дозе 9,6 млн. Ед – 15 пациентов, полтора года; ИФН $\beta$ -1a в дозе 22 мкг – 6 пациентов, в среднем в течение 1 года. Пациенты попали в исследование случайным образом, поэтому, при обсчете полученных результатов выяснилось, что в подгруппе с ИФН $\beta$ -1b в дозе 8 млн. Ед длительность применения препарата оказалась самой высокой: от 16 месяцев до 3,6 года. В этой подгруппе из 7 человек было выявлено 6 НАТ-положительных пациентов с высоким уровнем нейтрализующих антител, в среднем 12000 лаб.ед. Из них у 2-х пациентов с EDSS по 5,5 баллов выявлены уровни НАТ в 16000 и 28000 лаб.ед. В подгруппе пациентов (n=15), принимающих ИФН $\beta$ -1b в дозе 9,6 млн. Ед, выявлен один НАТ-положитель-

ный пациент с уровнем НАТ, составляющим 2500 лаб.ед. Следует отметить, что длительность нахождения пациента на этом препарате составила 1 год и 9 месяцев, однако, ранее в течение 5 лет он принимал ИФН $\beta$ -1a терапию. Самой малочисленной подгруппой (n=6) оказались пациенты, принимающие ИФН $\beta$ -1a в дозе 22 мкг, к тому же, не так длительно, в среднем в течение 1 года. У пациентов этой подгруппы не выявлены антитела, нейтрализующие действие препарата.

Таким образом, тестирование НАТ является одним из важнейших компонентов помощи больным рассеянным склерозом, поскольку оно обеспечивает информацию об одном из наиболее важных факторов, определяющих клиническое реагирование на ИФН $\beta$  терапию. Данные нашего исследования показывают, что вероятность образования НАТ увеличивается в течение более длительного применения ИФН $\beta$  препаратов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Damal K., Stoker E., Foley J.F. Optimizing therapeutics in the management of patients with multiple sclerosis: a review of drug efficacy, dosing, and mechanisms of action. *Biologics*. 2013; 7: 247-258.
2. Bertolotto A., Capobianco M., Amato M.P., Capello E., Capra R., Centonze D. et al. Guidelines on the clinical use for the detection of neutralizing antibodies (NAbs) to IFN beta in multiple sclerosis therapy: report from the Italian Multiple Sclerosis Study group. *Neurol Sci*. 2014; 35 (2): 307-16.
3. Hegen H., Millonig A., Bertolotto A., Comabella M., Giovanonni G., Guger M. et al. Early detection of neutralizing antibodies to interferon-beta in multiple sclerosis patients: binding antibodies predict neutralizing antibody development. *Mult Scler*. 2014; 20 (5): 577-87. doi: 10.1177/1352458513503597.
4. Zare N., Zarkesh-Esfahani S.H., Gharagozloo M., Shaygannejad V. Antibodies to interferon beta in patients with multiple sclerosis receiving CinnoVex, rebif, and betaferon. *J Korean Med Sci*. 2013; 28 (12): 1801-6.
5. Hartung H.P., Polman C., Bertolotto A., Deisenhammer F., Giovannoni G., Havrdova E. et al. Neutralising antibodies to interferon beta in multiple sclerosis: expert panel report. *J Neurol*. 2007; 254 (7): 827-37.

## MULTIPLE SCLEROSIS AND THE DETECTION OF NEUTRALIZING ANTIBODIES

T. P. Ospelnikova<sup>1</sup>, V. Yu. Lizhdvoy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Federal State Institution «N.F. Gamaleya Research Institute», Health Ministry of Russia;

<sup>2</sup>The State Budgetary Healthcare Institution of Moscow Area "Moscow's regional research clinical institute n.a. M. F. Vladimirovskiy", Moscow, Russia

Neutralizing antibodies (NAb) affect on efficacy of interferon-beta (IFN- $\beta$ ) treatment of multiple sclerosis (MS) patients. NAb evolve in up to 44% of treated patients, usually between 6–18 months on therapy. OBJECTIVES: Detection of neutralizing antibodies in MS patients on long-term treatment IFN $\beta$ . METHODS: We included MS patients (n=28) on IFN $\beta$  treatment. Blood samples were collected, before and after the IFN $\beta$  therapy; the reaction of uncovering NAb by valuation of the cytopathic effect was held. RESULTS: We found that 8 of 28 (28.6%) patients developed NAb during 16-42 months on IFN- $\beta$  treatment. CONCLUSIONS: Detection of NAT is an important information response of the MS patient on the long-term interferon  $\beta$  therapy.

*Key words:* multiple sclerosis, interferon  $\beta$  preparations; neutralizing antibodies

---

---

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ В ПОЛОСТИ РТА У БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА

Островский А. В., Колесник В. М., Андрианова И. И.,  
Галкина О. П.

*Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского,  
Медицинская академия имени С. И. Георгиевского, Симферополь, Россия*

У 64 пациентов в возрасте от 18 до 27 лет с воспалительными заболеваниями пародонта при исследовании в ротовой жидкости некоторых показателей неспецифической резистентности в полости рта установлено значительное превосходство количества лейкоцитов а также всех показателей эмиграции у больных с обострившимся течением генерализованного пародонтита начальной-I, I степени по сравнению с больными хроническим катаральным гингивитом и генерализованным пародонтитом с хроническим течением. Установлена высокая напряженность клеточного звена неспецифического иммунитета ротовой полости у больных с обострившимся течением генерализованного пародонтита начальной-I, I степени.

*Ключевые слова:* неспецифическая резистентность, хронический катаральный гингивит, генерализованный пародонтит

Наиболее распространенной стоматологической патологией считаются заболевания пародонта, в частности хронический катаральный гингивит (ХКГ) и генерализованный пародонтит (ГП) начальной-I (нач.-I) и I степени (Iст.) [4]. В их патогенезе безусловная роль наряду с другими звеньями принадлежит патогенной микрофлоре [1, 2]. Поэтому актуаль-

ным остается изучение защитных механизмов полости рта.

Целью настоящего исследования явился анализ некоторых показателей неспецифической резистентности в полости рта у больных ХКГ и ГП нач.-I, I ст.

**Материал и методы.** Нами было проведено обследование 64 пациентов в возрасте от 18

до 27 лет. Из них 21 – с диагнозом ХТГ, 25 – с диагнозом ГП нач.-I, I ст., обострившееся течение и 18 – с диагнозом ГП нач.-I, I ст., хроническое течение. Забор ротовых смывов для подсчета степени эмиграции лейкоцитов в полость рта проводили у пациентов утром в одно и то же время, натощак. Нестимулированную смешанную слюну (ротовую жидкость) собирали сплевыванием в мерные центрифужные пробирки, охлаждаемые льдом, в объеме 5 мл за точно фиксированные промежутки времени, что позволило рассчитать скорость слюноотделения (в мл/мин).

Для оценки интенсивности воспалительного процесса в тканях пародонта нами использован метод эмиграции лейкоцитов в ротовую полость М. А. Ясиновского в модификации Сукманского О.И. и соавт. [3]. Кроме эмиграции интегральной (ЭИ) и эмиграции лейкоцитов покоя (ЭП), которая характеризует степень воспаления тканей пародонта, определяли эмиграцию раздражения (ЭР), позволяющую оценить активность клеточного звена неспецифического иммунитета по способности реагировать на раздражение. Соотношение показателей  $ЭР_{cp.}/ЭП_{cp.}$  отражает состояние неспецифической резистентности в полости рта.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Получены следующие данные. У больных с ХКГ ЭИ составил  $27\,367,4 \pm 5\,935,4$  L в 1 мин, ЭП –  $6\,250,0 \pm 2\,456,2$  L в 1 мин, ЭР –  $340\,625,0 \pm 81\,436,8$  L в 1 мин,  $ЭР_{cp.}/ЭП_{cp.}$  –  $101,5 \pm 22,5$  L в 1 мин. У пациентов с хроническим течением ГП нач.-I, I степени ЭИ –  $63\,387,8 \pm 12\,215,3$  L в 1 мин, ЭП –  $15\,429,7 \pm 6\,032,5$  L в 1 мин, ЭР –  $582\,031,2 \pm 125\,345,2$  L в 1 мин,  $ЭР_{cp.}/ЭП_{cp.}$  –  $135,8 \pm 65,4$  L в 1 мин. У больных с обострившимся течением ГП нач.-I, I степени ЭИ –  $104\,460,2 \pm 26\,942,4$  L в 1 мин, ЭП –  $20\,875,0 \pm 11\,338,2$  L в 1 мин, ЭР –  $977\,802,5 \pm 209\,454,0$  L в 1 мин,  $ЭР_{cp.}/ЭП_{cp.}$  –  $616,2 \pm 316,4$  L в 1 мин.

Исследования показали, что количество лейкоцитов в ротовых смывах у больных с обострившимся течением ГП нач.-I, I степени значительно превосходит количество лейкоцитов у больных ХКГ (ЭИ,  $p < 0,005$ ; ЭР,  $p < 0,02$ ), а также все показатели эмиграции у больных с хроническим течением ГП нач.-I, I степени. Этот факт характеризует наивысшую интенсивность воспаления и деструкции тканей пародонта у больных с обострившимся течением ГП нач.-I, I степени.

Установлено также, что при обострении ГП нач.-I, I степени вследствие значительной инфильтрации тканей пародонта лейкоцитами показатель  $ЭР_{cp.}/ЭП_{cp.}$  в 4,5 раза превышает таковой у больных нач.-I, I степени. С одной стороны, это позитивный момент, так как развивается выраженная классическая воспалительная реакция защитно-приспособительного характера. С другой стороны, гиперактивация системы крови в ответ на факторы раздражения в полости рта может привести к истощению защитных компенсаторных механизмов, а именно клеточного звена неспецифического иммунитета в полости рта.

Кроме того, нейтрофилы, которым отводят ключевую роль в реакции воспаления, в огромном количестве накапливаясь в тканях пародонта, помимо своих основных эффекторных функций (хемотаксис, адгезия, фагоцитоз) могут усиливать и деструктивные процессы в пародонте. При взаимодействии их с бактериями в ткани поступает множество биологически активных веществ: свободные радикалы, окись азота (NO), протеолитические ферменты, в том числе тканедеструктивные (эластаза, миелопероксидаза, катепсины В, D, G, матриксные металлопротеиназы – ММП-8, ММП-9), продукты метаболизма арахидоновой кислоты (эйкозаноиды – лейкотриены, простагландины и др.), различные цитокины.

Таким образом, установлена высокая напряженность клеточного звена неспецифического иммунитета ротовой полости у больных с обострившимся течением ГП нач.-I, I степени.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Грудянов А.И. Частота выявления различных представителей пародонтопатогенной микрофлоры при пародонтите разной степени тяжести / А.И. Грудянов, В.В. Овчинникова // *Стоматология*. – 2009. – Т. 88, № 3. – С. 34-37.
2. Куцевляк В.Ф. Микробная флора полости рта в норме и ее повреждающие факторы при патологии / В.Ф. Куцевляк // *Стоматолог*. – 2011. – № 10. – С. 28-31.
3. Сукманский О.И. Метод дифференциальной оценки эмиграции лейкоцитов в полость рта / О.И. Сукманский, Р.Д. Барабаш, С.Я. Клебанская // *Патолог. физиол. и эксперим. терапия*. – 1980. – № 5. – С. 76-77.
4. Данилевский Н.Ф. Заболевания пародонта / Н.Ф. Данилевский, А.В. Борисенко. – Киев: Здоров'я, 2000. – 464 с.

## COMPARATIVE ASSESSMENT OF NONSPECIFIC RESISTANCE PARAMETERS IN THE ORAL CAVITY IN PATIENTS WITH PARODONTAL DISEASES

A. V. Ostrovsky, V. M. Kolesnik, O. P. Galkina, I. I. Andrianova

We studied some parameters of nonspecific resistance in the oral fluid in 64 patients, aged from 18 to 27 years with inflammatory periodontal diseases. We found significant superiority of WBC number, and all parameters of emigration in patients with exacerbation of generalized parodontitis of initial-I, and I degree compared to patients with chronic catarrhal gingivitis and generalized periodontitis with chronic course. The high intensity of the cellular component of non-specific immunity of the oral cavity in patients with exacerbation of generalized parodontitis of initial-I, and I degree was established.

*Key words:* non-specific resistance, chronic catarrhal gingivitis, generalized parodontitis

---

---

## НОВЫЕ ФУНКЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ДНК-СЕНСОРА STING ПРИ ИММУННОМ ОТВЕТЕ

Полторак А. Н.<sup>1,2</sup>, Илюха В. В.<sup>1</sup>, Курмышкина О. В.<sup>1</sup>,  
Вижуева Е. М.<sup>1</sup>, Волкова Т. О.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия;

<sup>2</sup>Университет Тафтса, Бостон, США

STING – цитоплазматический ДНК-сенсор – играет важную роль в иммунной защите от внутриклеточной инфекции. Активация STING в макрофагах запускает продукцию интерферонов I типа. В Т-лимфоцитах STING экспрессируется на высоком уровне, однако, его значение для функционирования Т-клеток оставалось до сих пор не исследованным. В данной статье мы сообщаем об ответе Т-лимфоцитов на стимуляцию STING его агонистом DMXAA и о влиянии STING-нокаута на фенотип Т-клеток.

**Актуальность и цель.** Трансмембранный белок эндоплазматического ретикулума STING (Stimulator of Interferon Genes) известен как молекулярный сенсор цитоплазматической ДНК, играющий важную роль в распознавании внутриклеточных патогенов и активации интерферон (тип I) -зависимого пути в клетках миелоидного ряда [1]. Наиболее детально функционирование STING исследовано в макрофагах и дендритных клетках. В Т-лимфоцитах также обнаруживается высокий уровень экспрессии STING, однако, практически ничего неизвестно о его значении в процессах дифференцировки / активации Т-клеток, для которых не характерны продукция интерферонов (IFN) I типа и экспрессия IFN-зависимых генов. Наши предварительные эксперименты по активации Т-лимфоцитов, нокаутных по STING, частицами Dynabeads (Life Technologies), по-

крытыми анти-CD3/CD28 антителами, показали, что STING, очевидно, не является компонентом сигнального каскада, индуцируемого Т-клеточным рецептором, и не участвует в неспецифической (антиген-независимой) активации Т-клеток. Это дает основания предполагать, что в Т-лимфоцитах STING может играть специфическую, не известную ранее роль.

**Методы.** Т-лимфоциты были выделены из периферических лимфоузлов мышей линий C57Black6 (WT = wild type) и STING<sup>-/-</sup> нокауты. Сортинг CD4 и CD8 Т-клеток проводился с помощью FACS-метода. Для определения содержания цитокинов в среде для культивирования использовали ELISA. Сравнительный анализ транскриптомов Т-лимфоцитов проводили методом РНК-секвенирования на платформе MiSeq (Illumina). Верификацию данных РНК-секвенирования по отдельным генам осуществ-

вляли с помощью ПЦР в режиме «реальном времени». Количество р-TBK1 и р-IRF3 оценивали, используя метод Вестерн-блоттинга.

**Результаты и обсуждение.** Для активации STING в Т-лимфоцитах использовался низкомолекулярный искусственный лиганд DMXAA (5,6-диметилксантенон-4-уксусная кислота), благодаря особенностям химической структуры легко проникающий через мембрану Т-клеток и имитирующий связывание циклических динуклеотидов в активном центре STING [2]. Обработка WT лимфоцитов DMXAA приводила к быстрому фосфорилированию и активации киназы р-TBK1 и фактора р-IRF3, непосредственно воспринимающих сигнал от STING и необходимых для транскрипции генов IFN I типа. В противоположность этому, инкубация STING<sup>-/-</sup> Т-лимфоцитов с DMXAA не сопровождалась активацией интерфероновых генов. Более того, после стимуляции DMXAA, WT Т-клетки продуцировали как IFN $\beta$  (IFN тип I), так и IFN- $\gamma$  (IFN тип II), в отличие от STING<sup>-/-</sup> Т-клеток. Действие DMXAA на продукцию IFN $\beta$  имело дозозависимый характер.

Сравнение транскриптомов WT и STING<sup>-/-</sup> Т-лимфоцитов до и после стимуляции DMXAA показало, что только в WT клетках после стимуляции происходит заметное усиление экспрессии многих интерферон-зависимых генов, включая собственно IFN I типа, а также Ccl5, Cxcl10, Mx1, Ifit1, Ifit2 и Ifit3. Активация экспрессии Ifit1, Ifit2 и Mx2 была подтверждена количественной ПЦР. Однако на данном этапе мы не можем исключить вероятность, что индукция интерферон-чувствительных генов в Т-лимфоцитах WT мышей является следствием аутокринного действия IFN $\beta$ , а не прямым результатом активации STING.

По данным РНК-секвенирования, WT и STING<sup>-/-</sup> Т-клетки, даже без обработки

DMXAA, обнаруживают различия в уровне активности некоторых генов, в частности, для лимфоцитов нокаутированных животных обнаружен более высокий уровень экспрессии CD8-специфичного хемокина Xcl1, гранзинов, TNF $\alpha$ , перфоринов, транскрипционного фактора Eomes, то есть генов, ассоциированных с фенотипом цитотоксических Т-клеток. Учитывая тот факт, что у STING<sup>-/-</sup> мышей дифференцировка CD4 и CD8 Т-лимфоцитов в тимусе протекает без видимых отклонений, можно предположить участие STING в модулировании процессов активации наивных CD8Т-клеток. Однако, несмотря на ассоциацию STING с CD8-фенотипом, как CD4-, так и CD8-позитивные WT клетки, выделенные из периферических лимфоузлов, в равной степени отвечали на DMXAA фосфорилированием TBK1 и IRF3 и продукцией IFN $\beta$ .

**Заключение.** Таким образом, получены доказательства того, что в Т-лимфоцитах, независимо от принадлежности к CD4 или CD8 популяции, возможна активация генов интерферонов I типа под действием синтетического агониста STING – DMXAA. Для обнаружения естественных механизмов STING-зависимой Т-клеточной активации и понимания ее физиологической значимости необходимо продолжение исследований на *in vivo* уровне.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-15-00100.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ishikawa H., Barber G. N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signaling (2008). *Nature*, 455: 674–8.
2. Roberts Z. J., Goutagny N., Perera P.- Y., et al. The chemotherapeutic agent DMXAA potently and specifically activates the TBK1-IRF-3 signaling axis (2007). *The Journal of Experimental Medicine*, 204: 1559-69.

## NEW FEATURES OF INTRACELLULAR DNA SENSOR STING IN THE IMMUNE RESPONSE

A. N. Poltorak, V. V. Ilukha, O. V. Kurmyshkina,  
E. M. Vizhueva, T. O. Volkova

The cytoplasmic protein STING plays an essential role in sensing intracellular pathogens and initiating type I IFN responses in macrophages and dendritic cells. Whether STING might have a functional role in T cells, where it is expressed at high level, remained uninvestigated so far. In this report, we show that STING can be activated in T cells by the small molecule DMXAA, resulting in IFN $\beta$  production and increased expression of numerous interferon-stimulated genes. The influence of STING knockout on T-cell gene expression pattern is described as well.

## СОСТОЯНИЕ МУКОЗАЛЬНОГО АНТИЭНДОТОКСИНОВОГО ИММУНИТЕТА, ЭКСПРЕССИИ TLR 4 И СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ СРЕДНЕТЯЖЕЛОЙ И ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Попенко Ю. О., Белоглазов В. А., Гордиенко А. И.

*«Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, Ф ГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского», Симферополь, Россия*

Цель данного исследования – изучение состояния мукозального антиэндотоксिनowego иммунитета, экспрессии TLR4 и системного воспаления у больных среднетяжелой и тяжелой бронхиальной астмы (БА). Было обследовано 109 больных с диагнозом БА. Все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от тяжести заболевания. В результате исследования было выявлено, что в 1 и 2 группах достоверно повышались уровни sIg A и анти-ЭТ-sIgA по сравнению с нормой ( $p < 0,01$ ). Определен повышенный уровень С-реактивного белка в обеих группах. Нами было выявлено повышение уровня экспрессии TLR-4 моноцитами в обеих клинических группах. С другой стороны, в 1 и 2 группах уровень экспрессии TLR-4 на гранулоцитах был зарегистрирован ниже от группы здоровых доноров, при сохраненном эндотоксин связывающем потенциале. Все это побуждает к более глубокому изучению интегральных механизмов патогенеза БА.

Несмотря на существенные успехи, достигнутые в лечении бронхиальной астмы (БА), проблема тяжелой БА остается актуальной проблемой во всем мире. Ежегодно смертность от астмы составляет 250 тыс. случаев в мире и в последние годы намечается тенденция к ее увеличению [1].

Состояние эндотоксин-связывающих рецепторных систем на эффекторных клетках во многом определяет уровень локального и системного воспаления, кроме этого результативность эффекторного взаимодействия эндотоксина (ЭТ) со специфическими рецепторными структурами клетки зависит от количества ЭТ преодолевшего эпителиальный барьер слизистых оболочек [2]. Секреторный антиэндотоксинный IgA, как известно, является важной составляющей частью мукозального барьера.

Цель данного исследования – изучение состояния мукозального антиэндотоксिनowego иммунитета (АЭИ), экспрессии Toll-like рецепторов 4 типа (TLR4) и системного воспаления у больных среднетяжелой и тяжелой БА.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 109 больных с диагнозом БА в возрасте от 18 до 60 лет (средний возраст –  $44 \pm 1,1$  г.), 63 (58%) женщины и 46 (42%) муж-

чин, находившихся на амбулаторном лечении основного заболевания.

Все больные были разделены на две клинические группы в зависимости от тяжести заболевания. В 1-ю группу вошли больные среднетяжелой БА – 68 человек (62,4%), ОФВ<sub>1</sub> –  $67,09 \pm 2,10\%$ , которые получали комбинированную терапию: сальметерол в дозе 100 мкг/сут и флутиказон пропионат в дозе 500-750 мкг/сут. Во 2-ю группу были включены больные тяжелой БА – 41 человек (37,6%), ОФВ<sub>1</sub> –  $34,45 \pm 1,05\%$ , получавшие комбинированную терапию: сальметерол в дозе 100 мкг/сут и флутиказон пропионат в дозе 1000 мкг/сут. Контрольную группу составили 23 здоровых донора.

Содержание секреторного АЭТ-IgA (АЭТ-sIgA) и общего секреторного IgA (sIgA) в индуцированной мокроте, концентрацию С-реактивного белка (СРБ) оценивали с помощью метода твердофазного ИФА по протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского [3, 4].

Определение уровня экспрессии TLR4 моноцитами и гранулоцитами периферической крови (ПК) проводили методом проточной ла-

зерной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител (МКА) Anti-Human CD284 (TLR4), конъюгированных с фикоэритрином (Clone HTA125, eBioscience Inc., USA). Липополисахарид связывающий потенциал (ЛПС-СП)(LPS-Fitc-рецепторы) определяли с помощью проточной лазерной флюорометрии [5].

**Результаты собственных исследований.** У больных среднетяжелой и тяжелой БА было выявлено повышение уровня общего sIgA в исследуемых группах: в 1 группе – в 2,2 раза, а во 2 группе – в 2,1 раза по сравнению нормальной величиной (31,1 мг/л,  $p < 0,01$ ), межгрупповых различий по данному показателю не определялось. Также, наблюдалось повышение уровня АЭТ-sIgA в 1 группе – в 5,2 раза, во 2-й группе – в 5,3 раза по сравнению с диапазоном нормы (0,037 ед. опт. плотн.,  $p < 0,01$ ), межгрупповых отличий не зарегистрировано. По нашему мнению, высокий уровень sIgA рассматривается как отражение интенсивного антигенного стимула на слизистую оболочку и высокого уровня гуморального антительного ответа.

В нашем исследовании было установлено повышение концентрации СРБ в обеих клинических группах больных БА: в 1-й группе – до  $2,02 \pm 0,02$  мг/л, во 2-й – до  $2,88 \pm 0,04$  мг/л по сравнению с диапазоном нормы. При этом выявлены и межгрупповые различия: наиболее высокий уровень СРБ был отмечен у больных 2-й группы – с тяжелым течением БА ( $p < 0,05$ ). Данный уровень СРБ рассматривался как маркер локального и системного воспаления, а так же как резервный путь связывания ЭТ при дисфункции АЭИ.

У больных БА из 1 и 2 групп зарегистрировано достоверное повышение уровня экспрессии TLR-4 моноцитами ПК по сравнению с нормой (1,1 MFI) в среднем в 2,5 раза ( $p < 0,01$ ), межгрупповых различий не выявлено ( $p = 0,93$ ). Что свидетельствует о чрезмерном попадании ЭТ во внутреннюю среду организма, это может быть обусловлено целым рядом факторов, включая хроническое поражение слизистых оболочек и нарушение слизистого барьера на уровне межэпителиальных соединений, в результате чего резко возрастает кишечная проницаемость по отношению к различным ксенобиотикам, включая и ЭТ. Кроме того, в 1 и 2 группах больных БА выявлено достоверное снижение экспрессии

TLR-4 гранулоцитами по сравнению с нормой (2,6 MFI,  $p < 0,01$ ). При этом у больных с тяжелой БА уровень экспрессии TLR-4 на гранулоцитах был достоверно выше  $p < 0,01$ , чем у больных со среднетяжелой БА. Это может косвенно указывать на преимущественную активацию этих клеток ЭТ через другие типы ЭТ-распознающих рецепторов – макрофагальный скавенджер-рецептор, макрофагальный рецептор маннозы,  $\beta$ 2-интегрины (CD11a, b, c/CD18), участвующих в процессе распознавания патоген-ассоциированных молекулярных структур и инициирующих фагоцитоз. ЛПС-СП моноцитов и гранулоцитов у больных БА из 1 и 2 групп достоверно не отличался от величины данного показателя у здоровых доноров ( $p > 0,05$ ) и без существенных межгрупповых различий. Следовательно, при избыточном попадании ЭТ в организм больных тяжелой БА на гранулоцитах присутствует достаточное количество активных ЭТ-связывающих рецепторов, способных вызвать активацию этих клеток.

#### Выводы:

1. У больных тяжелой и среднетяжелой персистирующей БА в индуцированной мокроте выявлена высокая напряженность муккозального АЭИ, что проявлялось в повышенном уровне общего sIgA ( $p < 0,01$ ) и АЭТ-sIgA ( $p < 0,01$ ) по сравнению с нормой, без существенных межгрупповых различий.

2. При тяжелой и среднетяжелой персистирующей БА зарегистрировано повышение экспрессии TLR4 на моноцитах ( $p < 0,01$ ). В то время, как уровень экспрессии TLR4 на гранулоцитах во всех клинических группах был ниже диапазона нормы ( $p < 0,01$ ). При этом уровень экспрессии TLR4 на гранулоцитах у больных тяжелой БА в 1,2 раза выше, чем при среднетяжелой БА ( $p < 0,01$ ). ЭТ-связывающий потенциал гранулоцитов и моноцитов при среднетяжелой и тяжелой БА не отличался от уровня здоровых лиц ( $p > 0,05$ ).

3. У обследованных БА зарегистрировано достоверное повышение СРБ ( $p < 0,01$ ). Наиболее высокие значения данного показателя выявлен у больных среднетяжелой БА ( $p < 0,05$ ).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global initiative for asthma: Global strategy for asthma management and prevention (update 2012) [Electronic resource]. Режим доступа: [http:// www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)

- Gioannini T.L., Teghanemt A., Zhang D., Cousens N.P., Dockstader W. Isolation of an endotoxin-MD-2 complex that produces Toll-like receptor 4-dependent cell activation at picomolar concentrations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, 101, 4186-4191.
- Гордиенко А.И. Использование твердофазного иммуноферментного анализа для определения общего и антиэндотоксинового секреторного IgA человека. *Таврический медико-биолог. Вестник* 2009, 3 (47), 82-89.
- Гордієнко А.І., Білоглазов В.О., Бакова А.А. Високочутливий імуноферментний метод кількісного визначення вмісту С-реактивного білка в крові: інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я. К.: УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ 2010, № 139, 4 с.
- Гордиенко А.И. Улучшенный метод получения флуоресцентного зонда для определения липополисахарид-связывающих рецепторов методом проточной лазерной цитофлуориметрии. *Таврический мед.-биол. вестник* 2007, 10 (4), 156-160.

## STATE MUCOSAL ANTIENDOTOXIN IMMUNITY, EXPRESSION OF TLR 4 AND SYSTEMIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH MODERATE TO SEVERE ASTHMA

Popenko Yu.O., Beloglazov V.A., Gordienko A.I.

*Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia*

The purpose of the research was to study the state of mucosal antiendotoxin immunity, expression of TLR4 and systemic inflammation in patients with moderate to severe asthma. The study involved 109 patients with a diagnosis of asthma. All the patients were divided into two groups depending on the severity of the disease. The levels of total sIgA and anti-ET-sIgA were significantly increased in the study groups as compared to the normal value ( $p < 0.01$ ). In addition, the level of C-reactive protein was higher in both groups. It was found, that the level of expression of TLR-4 on monocytes was increased in both clinical groups. On the other hand, in the 1st and 2nd groups the level of expression of TLR-4 on granulocytes was reduced in comparison with donors while maintaining the endotoxin binding potential. This information stimulates deeper research of mechanisms of asthma pathogenesis.

---

---

## ОЦЕНКА МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ОСТЕОМИЕЛИТЕ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ И С НЕОСЛОЖНЕННЫМИ ПЕРЕЛОМАМИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Попова Е. В., Кувшинова Е. Р.

*ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Владивосток, Россия*

Проведен анализ матриксной металлопротеиназы-9 в сыворотке крови и смешанной слюне при хроническом посттравматическом остеомиелите нижней челюсти и с неосложненными переломами челюстно-лицевой области. Зарегистрировано, что в трех группах уровень ММР-9 в сыворотке крови был достоверно высоким на протяжении всего лечения пациента в стационаре. Показатели ММР-9 в смешанной слюне превышал в 2-3 раза значения группы контроля, что свидетельствует об активации ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса и репарации костной ткани. Не зарегистрировано достоверных различий между группами пациентов. Соответственно, пациенты с неосложненными переломами челюстно-лицевой области имеют высокий риск развития хронизации воспалительного процесса, что может способствовать усугублению повреждения костной ткани. Тем самым данная категория пациентов требует дальнейшего наблюдения в динамике.

Травмы челюстно-лицевой области (ЧЛО) занимают одно из первых мест, что составляет более 60%, переломы нижней челюсти встречаются чаще (до 90% случаев), чем переломы других костей лицевого скелета. Сложная геометрическая форма нижней челюсти и ее подвижность, создают предпосылки для возникновения как прямых, так и отраженных переломов со значительным смещением отломков. Перелом нижней челюсти преимущественно встречается у трудоспособных мужчин в возрасте от 20 до 40 лет. Из числа осложнений воспалительного характера наиболее частым, является травматический остеомиелит, процент его среди всех травм ЧЛО составляет около 11-14% [1].

Матриксные металлопротеиназы (ММПs) играют важную роль в обмене белков соединительной ткани, в процессах резорбции и ремоделирования костной ткани. ММПs выполняют важную функцию в развитии и поддержании хронического воспаления. ММП-9 принимает участие в процессах воспаления, ремоделирования ткани и репарации, мобилизации матрикс-связанных факторов роста и процессинга цитокинов. Уровень ММП-9 может повышаться в смешанной слюне у пациентов с гингивитами и болезнями периодонта [2, 3]. На сегодняшний день не найдено данных о изучении роли уровня ММП-9 в смешанной слюне и сыворотке крови у пациентов с хроническим посттравматическим остеомиелитом нижней челюсти и с неосложненными переломами челюстно-лицевой области (ЧЛО).

**Цель исследования:** определить содержание уровня ММП-9 в сыворотке крови и смешанной слюне у больных с хроническим посттравматическим остеомиелитом нижней челюсти и с неосложненными переломами ЧЛО.

**Материалы и методы.** Объектом исследования были 18 пациентов, находившиеся на стационарном лечении в отделении челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» г. Владивостока. На основании ретроспективного анализа, пациенты были распределены на 3 группы. В I группу были включены 33% больных (n=6; мужчины – 5, женщины – 1; средний возраст 43[33;52] года) с хроническим посттравматическим остеомиелитом нижней челюсти. Во II – вошли 38% пациентов (n=7; мужчины – 5, женщины – 2; средний возраст 39 [28;51] лет) с хроническим посттравматическим остеомиелитом нижней челюсти в стадии обострения. III группу составили пострадавшие

с неосложненными переломами ЧЛО – 29% (n=5; мужчины – 3, женщины – 2; средний возраст 33[17;50] лет). В группу контроля вошли 10 клинически здоровых добровольцев, сопоставимые по полу и возрасту с пациентами. Забор венозной крови (8-10 мл) и смешанной слюны в объеме 5 мл производился в первые сутки госпитализации пациентов в стационар и на 10 сутки лечения. Уровень матриксной металлопротеиназы в сыворотке крови и в смешанной слюне оценивали методом сендвич – варианта твердофазного ИФА с использованием реактивов фирмы R&D Diagnostic Inc. (USA) с чувствительностью 1 нг/мл. Статистическая обработка материала проводилась методами параметрической описательной статистики с использованием t критерия Стьюдента с помощью компьютерной программы «Biostat». Статистически достоверным считали различия при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Зарегистрированы достоверно высокие значения ММП-9 в сыворотке крови в первые сутки у пациентов I и III группы по сравнению с группой контроля ( $577,25 \pm 59,81$  нг/мл и  $494,26 \pm 10,36$  нг/мл против  $311,91 \pm 46,80$  нг/мл, при  $p < 0,01$ ). При хроническом посттравматическом остеомиелите нижней челюсти в стадии обострения уровень ММП-9 в сыворотке крови в первые сутки госпитализации пациента составил  $626,64 \pm 44,83$  нг/мл, что в 2 раза превышало референсные величины ( $p < 0,001$ ). На 10 сутки I, II и III групп показатели ММП-9 в сыворотке крови имело тенденцию к снижению (I группа =  $507,33 \pm 38,82$  нг/мл, II =  $529,91 \pm 29,51$  нг/мл, III =  $500,91 \pm 22,84$  нг/мл), но достоверных различий между первыми и десятыми сутками лечения у пациентов не зарегистрировано. Повышение уровня ММП-9 в смешанной слюне в первые сутки было определено во всех трех группах, что составило в 2-3 раза выше показатели контрольной группы. На 10 сутки лечения пациента показатели сохранялись на высоком уровне. Значения ММП-9 в смешанной слюне не имели достоверных различий между группами пациентов.

Приведенные выше данные свидетельствуют, что в трех группах уровень ММП-9 в сыворотке крови был достоверно высоким на протяжении всего лечения пациента в стационаре. Показатели ММП-9 в смешанной слюне превышали в 2-3 раза значения группы контроля, что свидетельствует об активации ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса и репарации

костной ткани. Не зарегистрировано достоверных различий между группами пациентов. Соответственно, пациенты с неосложненными переломами челюстно-лицевой области имеют высокий риск развития хронизации воспалительного процесса, что может способствовать усугублению повреждения костной ткани. Тем самым данная категория пациентов требует дальнейшего наблюдения в динамике.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бережная Е. С., Латышина Л. С., Долгушин И. И. / Влияние иммунокоррекции беталейкином

на функциональную активность нейтрофилов слюны у пациентов с осложненными переломами нижней челюсти. // Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8 (17). – № 2 (1). – С. 26-29.

2. Югай Ю. В., Голицына А. А., Толмачев В. Е., Маркелова Е. В. / Анализ показателей матричных металлопротеиназ и их ингибиторов до и после дентальной имплантации. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2014. – № 3. – С. 65-67.
3. Ярмолинская М. И., Молотков А. С., Денисов В. М. / Матричные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т. 61. – № 1. – С. 113-125.

### MATRIX METALLOPROTEINASE-9 ASSESSMENT AT A CHRONIC POSTTRAUMATIC OSTEOMYELITIS OF THE MANDIBLE AND IN UNCOMPLICATED FRACTURES OF THE MAXILLOFACIAL REGION

E. V. Popova, E. R. Kuvshinova

The analysis of MMP-9 of the patients with chronic posttraumatic osteomyelitis of the mandible and the uncomplicated fractures of the maxillofacial region was made. There was registered, that in the three groups the level of MMP-9 in the serum was significantly high for all patients during the hospital treatment. Indicators of MMP-9 in mixed saliva are 2–3 times higher than the value of the control group, which shows an activation of the extracellular matrix remodeling and reparation of bone tissue. The significant difference between the patient groups wasn't registered. Accordingly, patients with uncomplicated fractures of the maxillofacial region are at high risk of developing chronic inflammation that can exacerbate the damage to the bone. Thus, this category of patients needs further observation in dynamics.

---

---

### РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ИНСЕКТНОЙ АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ – ЖИТЕЛЕЙ МОСКОВСКОГО РЕГИОНА

Продеус А. П.<sup>1</sup>, Чурсина Е. М.<sup>1</sup>, Федоскова Т. Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Детская Городская Клиническая Больница № 9 им. Г. Н. Сперанского;

<sup>2</sup>ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

Целью работы явилась изучение распространенности инсектной аллергии у детей – жителей Московского региона. Проведено анкетирование и клиничко-аллергологическое обследование 100 детей в возрасте от 5 до 13 лет, из которых отобрана группа (9 человек) с аллергопатологией, имеющих в анамнезе указания на возникновение выраженных реакций гиперчувствительности при ужалении и укусах насекомыми. Исследован уровень специфических IgE к яду пчел, ос, тел мотыля, моли, тараканов с применением метода молекулярной диагностики ImmunoCAP. Показано, что распространенность ИА составляет 2-6% у детей – жителей Московского региона.

**Введение.** Известно, что контакт с насекомыми непредсказуем, а симптомы инсектной аллергии (ИА) отличаются полиморфизмом

и различной тяжестью, вплоть до развития анафилактического шока с летальным исходом. Распространенность ИА в России до-

стигает 17,5%, в зависимости от региона проживания больных [1]. В частности, имеются данные о распространенности ИА к аллергенам комаров (14,3%), тараканов (15,7%), мотыля (7,9%) у жителей Московского региона. Указанные показатели отражают проблему распространенности среди взрослого контингента. Известно также, что наибольшее число больных ИА составляют лица молодого возраста (до 20 лет) [2]. Однако в современной отечественной литературе практически отсутствуют данные по распространенности ИА среди детского населения, особенностям клинического течения указанного вида аллергии у детей, отсутствует общепринятая шкала оценки тяжести реакций, единый лечебно-диагностический алгоритм при указанных состояниях, факторы, способствующие формированию ИА у детей. При этом известно, что именно в детском возрасте наблюдается развитие более выраженных, чем у взрослых, местных и системных гиперергических реакций при ужалениях и укусах насекомых, контакте с продуктами их жизнедеятельности. Тяжелые аллергические реакции на ужаления и укусы насекомых в раннем детском возрасте встречаются не часто, но они отражены в литературе [3, 4].

В связи с этим актуальным является изучение распространенности ИА среди детского контингента с целью последующей разработки единого алгоритма клинико-иммунологического обследования пациентов с гиперчувствительностью (ГЧ) к аллергенам насекомых для установления специфического характера сенсибилизации при истинной ИА.

В связи с тем, что в настоящее время отсутствуют диагностические формы аллергенов насекомых, разрешенные к применению в широкой аллергологической практике, доступными методами обследования пациентов с ГЧ к насекомым является «*in vitro*» диагностика. Основным методом исследования является определение специфических IgE с применением метода молекулярной диагностики компонентов аллергенов.

**Цель исследования.** Целью работы явилась изучение распространенности ИА у детей – жителей Московского региона.

**Материалы и методы.** Проведено анкетирование и клинико-аллергологическое обследование 100 детей в возрасте от 5 до 13 лет, из которых отобрана группа (15 человек), имеющих в анамнезе указания на возникновение

выраженных реакций ГЧ при ужалении и укусах насекомыми.

Анкетирование родителей и детей проводили с применением специализированного опросника по раннему выявлению ИА, разработанного авторами в рамках выполнения работы. Исследован уровень специфических IgE к яду пчел, ос, тел мотыля, моли, тараканов с применением метода ImmunoCAP® «Pharmacia Diagnostics AB»

**Основные результаты.** По результатам анкетирования у 73,3% (n=15) пациентов отмечено наличие выраженных местных реакций. У 33,3% симптомы соответствовали системным реакциям различной степени тяжести (по классификации Н. Mueller) [5]. Из 15 пациентов (15%, n=100) с ГЧ к укусам и ужалениям насекомыми отобрано 9 человек с наличием аллергопатологии, преимущественно респираторного характера, составивших основную группу обследуемых. Наличие специфических IgE к яду пчел отмечено у 2% (n=100), к яду ос – у 3%, к телу мотыля – 5%, к телу моли – 2%, к телу тараканов – 6%. Сочетанная сенсибилизация отмечена в 52,3% случаев.

**Заключение.** Таким образом, по результатам исследования распространенность ИА составляет от 2% до 6% детей – жителей Московского региона. Результаты свидетельствуют о преимущественной сенсибилизации к аллергенам так называемых «внутрижилищных» насекомых, и обусловленной, вероятно, длительным пребыванием детей в условиях жилого помещения. Исследования подтверждают необходимость дальнейшей разработки и внедрения в клиническую практику отечественных диагностических аллергенов насекомых с целью проведения аллергологического обследования в полном объеме.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Muller U., Johansen N., Petersen A. Hymenoptera venom allergy. *Allergy*.–2009.– v.64.– P. 543-548
2. Гуцин И. С., Читаева В. Г. Аллергия к насекомым. Клиника, диагностика и лечение. М.: Фармарус Принт.– 2003.– 328 с.
3. Федоскова Т. Г., Лусс Л. В. Аллергия к нежалящим насекомым. Этиология, клиника, диагностика, лечение. *Доктор.ру*.–2009.– № 2.– С.39-56
4. Chipps B. E. The value of immunotherapy with venom in children with allergy to insect sting// *Pediatrics*.–1992.– V.90.–№ 2.– P. 291-298.
5. Walls R. S. Роль факторов окружающей среды в возникновении респираторной аллергии// *Астма*.–2009.– Т. 10.–№ 1.– С. 42-43.

## THE PREVALENCE OF INSECT ALLERGY IN CHILDREN – RESIDENTS OF THE MOSCOW REGION

Prodeus A. P.<sup>1</sup>, Chursina E. M.<sup>1</sup>, Fedoskova T. G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Children's City Clinical Hospital № 9 name G.N. Speranski; <sup>2</sup>State Scientific Research Center – Institute of Immunology, Moscow, Russia

The aim was to study the prevalence of insect allergy in children – residents of the Moscow region. A questionnaire survey and clinical allergological study of 100 children aged 5 to 13 years, of which selected a group (9 persons) with allergopathology having the disease indicate the occurrence of severe hypersensitivity reactions in the stings and bites of insects. Investigated the level of specific IgE to the venom of bees, wasps, moth, moths, cockroaches, using the method of molecular diagnostics ImmunoCAP. It is shown that the prevalence of IA is 2-6% in children – residents of the Moscow region.

## ИНТЕРФЕРОН ГАММА (ИНФγ) И МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Просекова Е. В., Забелина Н. Р., Сабыныч В. А.,  
Турянская А. И.

ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, Россия

Проведен анализ роли интерферона гамма (ИНФγ) в реализации аллергического воспаления при бронхиальной астме (БА) у детей и оценке эффективности различных программ базисной противовоспалительной терапии. ИФNg исследовали в сыворотке крови и назальном секрете иммуноферментным методом реактивами «R&D Diagnostics Inc» (USA) с параллельным мониторингом IgE. Исследования зафиксировали низкие уровни ИНФγ у детей с БА с достоверными различиями в зависимости от природы триггерных факторов, тяжести и периода болезни и программ базисной фармакотерапии. При среднетяжелой БА применение недокромила натрия не оказывало заметного влияния на содержание ИНФγ, а флютиказона пропionato в 30% случаев сопровождалось снижением ИНФγ в сыворотке крови и назальном секрете, АСИТ определяла нормализацию содержания ИНФγ через 6 месяцев от начала.

*Ключевые слова:* интерферон гамма, бронхиальная астма, фармакотерапия, дети

**Введение.** Высокая распространенность и иммуноопосредованность развития бронхиальной астмы (БА) у детей определяют актуальность исследования цитокиновых механизмов регуляции аллергического воспаления [1,2]. В реализации бронхиальной астмы у детей выявлена гетерогенность патогенетических механизмов, фенотипов и эндотипов. В клинической практике определение фенотипов бронхиальной астмы базируется на выявлении патофизиологических механизмов и определении доминирующих подтипов воспаления. В спектре характеристик воспаления, определяющих фенотип заболевания, учитывается активность цитокинов. Исследования послед-

них лет зафиксировали дисбаланс в системе интерферонов, функциональные изменения интерферон продуцирующих клеток, влияющих на эффективность противовоспалительной терапии различных фенотипов БА у детей [1, 2, 3, 4, 5]. ИНФγ оппозиционно с ИЛ-4 поддерживают баланс Th1/Th2 и регулирует апоптоз целого ряда нормальных, некоторых инфицированных и трансформированных клеток, обеспечивает иммунорегуляторный, противовирусный и антипролиферативный эффекты [3, 4, 5].

**Цель исследования:** анализ роли интерферона гамма (ИНФγ) в реализации аллергического воспаления при бронхиальной астме

у детей и оценке эффективности различных программ базисной противовоспалительной терапии

**Материалы и методы исследования.** Исследование проведено в ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на базе КГБУЗ «Краевая детская клиническая больница г. Владивостока» в 2010–2014 годах. В группу наблюдения включены 197 детей в возрасте 5-10 лет с верифицированным диагнозом бронхиальной астмы (БА), в группу контроля – 30 здоровых сверстников. Сравнительный анализ динамики интерферона гамма (ИФН $\gamma$ ) при оценке эффективности программ базисной противовоспалительной терапии проводили у 150 детей со среднетяжелым течением БА, применявшим недокромил натрия (n=50), флютиказона пропионат (n=50) и АСИТ аллергеном клеща домашней пыли (n=50). Материалами исследования являлись медицинские документы, дневники самонаблюдения, сыворотка крови и назальный секрет. Интерферон гамма (ИФН $\gamma$ ) исследовали в сыворотке крови и назальном секрете в динамике иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител в сэндвич варианте реактивами фирмы «R&D Diagnostics Inc» (USA) результаты измеряли в pg/ml. с параллельным мониторингом IgE в МЕ/мл. При статистической обработке использовали методы описательный, параметрический и непараметрический с подсчетом средней арифметической (M), медианы, среднего квадратичного отклонения ( $\sigma$ ), средней ошибки средней арифметической ( $\pm m$ ), доверительного интервала (ДИ), коэффициента достоверности показателя (t) и различий (t и p), корреляционного анализа (критерий  $\chi^2$  и однофакторного дисперсного анализа (критерий Фишера F)), (r – коэффициента корреляции). Объем исследований позволяет оценить результаты с достоверностью 95-99%.

**Результаты исследования и обсуждение полученных данных.** При обследовании детей контрольной группы содержание ИФН $\gamma$  в назальном секрете составило – 136,61 $\pm$ 4,89 пг/мл с доверительным интервалом (ДИ) – 128,48-144,74 пг/мл, в сыворотке крови – 78,60 $\pm$ 3,46 пг/мл и 72,84-84,35 пг/мл соответственно, уровень общего IgE в сыворотке крови у детей 5-7 лет – 25,17 $\pm$ 4,13 МЕ/мл (ДИ 18,30-32,04 МЕ/мл), 8-10 лет – 42,1 $\pm$ 10,6 МЕ/мл,

назальном секрете – 1 МЕ/мл. В группе детей с БА содержание ИФН $\gamma$  в биологических жидкостях достоверно различалось в разные периоды болезни и зависело от активности и тяжести аллергического воспаления, наличия сопутствующей алергопатологии и программы и продолжительности базисной противовоспалительной терапии. В период ОРВИ у детей с БА повышение содержания ИФН $\gamma$  в назальном секрете зафиксировано только у 5 детей – 120,92 $\pm$ 2,54 пг/мл, в этих случаях ОРВИ не сопровождалось обострением БА, что иллюстрирует у данных детей адекватность цитокинового ответа. У детей со среднетяжелым и тяжелым клиническим течением БА зафиксированы низкие уровни содержания ИФН $\gamma$  в исследуемых биологических жидкостях как в период обострения, так и в период ремиссии болезни (в сыворотке крови ДИ – 12,64-18,77 пг/мл и 14,25-20,3877 пг/мл соответственно), уровень общего IgE в назальном секрете достигал 38,66 $\pm$ 3,84 МЕ/мл (ДИ 32,27-45,04 МЕ/мл), в период фармакологического контроля – 22,98 $\pm$ 1,70 МЕ/мл (ДИ 20,06-25,71 МЕ/мл), при  $p < 0,01$ .

Проведенные исследования зафиксировали слабую обратную корреляционную зависимость содержания ИФН $\gamma$  и IgE в биологических жидкостях ( $r = -0,16$ ).

Проводимая базисная терапия при среднетяжелом течении БА недокромилом натрия значимо не влияла на уровни ИФН $\gamma$  (динамика сывороточного содержания на протяжении 6 месяцев терапии – с 22,5 $\pm$ 2,9 пг/мл до 27,9 $\pm$ 3,25 пг/мл). В группе детей, применявших флютиказона пропионат более 6 месяцев, в 30% случаев отмечалось дальнейшее снижение ИФН $\gamma$  в сыворотке крови и назальном секрете. Значимое нарастание ИФН $\gamma$  у детей с БА в сыворотке крови и назальном секрете отмечено при проведении аллергенспецифической терапии через 6 месяцев от начала (50,5 $\pm$ 2,96 пг/мл).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. International consensus on (ICON) pediatric asthma/ N. G. Papadopoulos et. al.// Allergy.-2012.- Aug.- Vol. -67. № -8. – P. 976-997
2. Global atlas of asthma/ Edit.Cezmi A. Akdis.- 2013.-179 p.
3. Геппе Н. А. Бронхиальная астма и инфекции у детей: есть ли связь?//аллергология и иммунология.-2013.-№ 1.- С. 9-11

4. Новикова В.И., Новиков П.Д., Титова Н.Д. Гетерогенность аллергии при бронхиальной астме у детей// Вестник Витебского государственного медицинского университета.–2014.– № 4.– Т. 13.– С. 110-116
5. Чернышева О.Е. Клинико-иммунологические особенности бронхиальной астмы у детей, протекающей на фоне персистирующих внутриклеточных инфекций// Ж. Здоровье ребенка.–2015.–№ 1 (60).– С.

## INTERFERON GAMMA (IFN- $\gamma$ ) AND MECHANISMS OF DEVELOPMENT OF BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN

E. V. Prosekova, N. R. Zabelina, V. A. Sabynych, A. I. Turyanskaya

*State Educational Institution of Higher Professional Education "Pacific State Medical University" of the Ministry of Public Health Russian Federation, Vladivostok, Russia*

Heterogeneity of pathogenetic mechanisms, phenotypes and endotypes in realization of bronchial asthma in children was determined. The identification of bronchial asthma phenotypes in clinical practice is based on detection of pathophysiological mechanisms and determination of prevalent subtypes of inflammation. Recent studies recorded an imbalance in interferon system and functional changes in interferon-producing cells affecting the efficiency of anti-inflammatory therapy for various bronchial asthma phenotypes in children. The role of interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) in development of allergic inflammation in children with bronchial asthma and evaluation of efficiency of various background anti-inflammatory therapy programs was analyzed. Serum IFN- $\gamma$  levels (in pg/ml) were studied by immunoenzyme method with monoclonal antibodies (the sandwich variant) using reagents manufactured by «R&D Diagnostics Inc» (USA). The conducted studies showed low levels of IFN- $\gamma$  in children with bronchial asthma and significant differences depending on the nature of triggers, severity and period of the disease, as well as background therapy. The nedocromil sodium background therapy had no significant impact on IFN- $\gamma$  level, while the fluticasone propionate therapy in 30% of cases was accompanied with decrease of blood serum IFN- $\gamma$  level, and the allergen-specific therapy determined the normalizing synthesis of this cytokine no earlier than in 6 months after the start of therapy.

*Key words:* Interferon gamma, bronchial asthma, children, anti-inflammatory pharmacotherapy

---

## ВЗАИМОСВЯЗЬ СЫВОРОТОЧНЫХ УРОВНЕЙ И ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1RA С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА И ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ ПРИ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ (ЭАГ)

Радаева О.А.<sup>1</sup>, Симбирцев А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «НИ МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск;

<sup>2</sup>ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург

Целью исследования стал анализ прогностического значения сывороточных концентраций IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1ra у больных с ЭАГ в зависимости от полиморфного варианта генов IL-1 $\beta$  (C+3953T), IL-1 $\alpha$  (T+889C), IL-1ra (VNTR) в отношении развития инфаркта миокарда, инсульта за 8 лет наблюдения. При анализе комбинаций аллелей генов IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  у лиц с формированием осложнений при ЭАГ II стадии на фоне повышения IL-1 $\beta$ >14,8 пг/мл, IL-1 $\alpha$ >18 пг/мл выделены прогностически неблагоприятные сочетания: для мужчин – IL1 $\beta$ 3953CC/IL-1 $\alpha$ 889CC, для женщин IL1 $\beta$ 3953CC/IL-1 $\alpha$ 889TT и IL1 $\beta$ 3953CC/IL-1 $\alpha$ 889CT.

*Ключевые слова:* IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , полиморфизм генов, эссенциальная гипертензия

Несмотря на достижения в профилактике, диагностике сердечно-сосудистых заболеваний, распространенность ЭАГ в мире неуклонно растет [1]. При изучении генов, кодирующих факторы, определяющие клиничко-патогенетические звенья ЭАГ, наибольшее внимание уделяется полиморфизму генов компонентов САС и РААС. Несмотря на улучшение клинического состояния больных и снижение кардиоваскулярного риска при применении блокаторов этих систем, ЭАГ продолжает прогрессировать. В настоящее время активно исследуются альтернативные звенья патогенеза данной патологии, определяющие механизмы субклинического воспаления, модулируемого цитокинами.

**Цель** – в период 8-летнего проспективного наблюдения изучить взаимосвязь сывороточных уровней IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1ra и полиморфных вариантов их генов с риском повреждения органов-мишеней при ЭАГ.

**Материалы и методы.** В течение 8 лет проводилось клиничко-биохимическое, инструментальное обследование 200 женщин и 100 мужчин с ЭАГ II стадии (возраст – 51,5 $\pm$ 2,8 лет). Концентрации IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1ra определяли иммуноферментным методом с помощью тест-систем eBioscience (Bender MedSystems). Материалом для генетического исследования служили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов венозной крови методом Laura-Lee Woodram (2004). Изучение полиморфных локусов IL-1 $\beta$  (в позициях +3953), IL-1 $\alpha$  (889 – T/C), IL-1ra VNTR проводили с помощью ПЦР в реальном времени (наборы «SNP-Экспресс»), с последующей электрофоретической детекцией (ООО НПФ «ЛИТЕХ», Россия). Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения, относительного риска сердечно-сосудистых осложнений (ОР).

**Результаты.** Анализ содержания IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  в сыворотке больных ЭАГ II стадии (18,7 (5,8) пг/мл и 13,2 (2,9) пг/мл соответственно) показал значимое увеличение ( $p < 0,001$ ) при сравнении с относительно здоровыми (5 (1,92) пг/мл и 3,6 (1,2) пг/мл). Уровень IL-1ra, способного к реализации буферной функции при повышении активности провоспалительных компонентов системы IL-1, был достоверно ниже (435 (108) пг/мл и 580 (101) пг/мл). Данная тенденция более выражена у пациентов с осложнениями за 8 лет наблюдения (базовая концентрация у лиц с благоприятным течением составила:

IL-1 $\beta$  – 12,3 (2,9) пг/мл, IL-1 $\alpha$  – 8,96 (2,31) пг/мл, IL-1ra – 490 (104) пг/мл, а при развитии острого коронарного синдрома (инфаркта миокарда (ИМ), нестабильной стенокардии), острого и транзиторного нарушения мозгового кровообращения (ОНМК): IL-1 $\beta$  – 25,9 (6,4) пг/мл –  $p < 0,001$ , IL-1 $\alpha$  – 17,2 (3,1) пг/мл –  $p < 0,001$ , IL-1ra – 400 (86) пг/мл –  $p > 0,05$ ). У женщин IL-1 $\alpha$  был выше ( $p < 0,001$ ), чем у мужчин с гипертензией. Увеличение его концентрации соотносится с повышением десквамированных эндотелиальных клеток крови ( $r = 0,82$ ,  $p < 0,01$ ), что может определять переход мембранной формой данного цитокина в растворимую у женщин в менопаузальном периоде [2].

По результатам многофакторного регрессионного анализа уровень IL-1 $\beta$  > 14,8 пг/мл повышает риск повреждения органов-мишеней при ЭАГ (ИМ, ОНМК) в 6,67 раза, IL-1 $\alpha$  > 18 пг/мл в 8,5 раз в женской популяции, у мужчин более 12,2 пг/мл в 2,8 раза. При этом данная тенденция реализуется со специфичностью 78% и выше, чувствительностью (85-98)% при совместном анализе уровня цитокинов и особенностями полиморфных вариантов генов указанных веществ. У больных с ЭАГ при анализе гена IL-1 $\beta$  в позиции C+3953T выявлено, что частота генотипа C/C в достоверно доминировала у пациентов с ИМ, ОНМК на фоне ЭАГ (СC – 95,6% (66 чел.), СТ – 4,3% (3 чел.)), по сравнению с группой больных без осложнений (СC – 55,8% (129 чел.), СТ – 40,3% (93), ТТ – 3,9% (9)),  $\chi^2 = 37$ ,  $p < 0,01$ , данная тенденция не имела отличий в зависимости от пола. Следовательно, генотип C/C (ОР=11,8, 95% ДИ = [3,8-36,8],  $p < 0,01$ ) является фактором риска развития повреждения органов-мишеней, а генотипы C/T, T/T проявили себя как протективные.

При моноанализе на основе представленных генетических характеристик риск осложнений у лиц с ЭАГ определяется с высокой чувствительностью (0,96), но низкой специфичностью (0,44). Учитывая, что неблагоприятное течение ЭАГ ассоциировано с повышением концентрации IL-1 $\beta$  более 14,8 пг/мл и генотипом СC в позиции +3953 при их одновременном анализе специфичность при определении пациентов с повышенным риском формирования осложнений возрастает до 78%. Выявлено, что повышение IL-1 $\beta$  > 14,8 пг/мл у больных с ЭАГ II стадии реализуется формированием ИМ, ОНМК, в первую очередь, у лиц с генотипом C/C в положении +3953, что возможно объ-

ясняется данными о более низком физиологическом уровне IL-1 $\beta$  у лиц с указанным генотипом в сравнении с вариантами С/Т, Т/Т [3], тем самым повышение более 14,8 пг/мл для данной группы пациентов является значимым и реализуется прогрессированием заболевания. Учитывая прогностическую ценность сывороточной концентрации IL-1 $\alpha$  при ЭАГ, наиболее выраженную у женщин, проводился анализ вариантов гена IL-1 $\alpha$  в позиции 889 (Т/С). У пациентов с ЭАГ, имеющих осложнение за время наблюдения, повышено представительство генотипа Т/Т (С/С – 49,3% (34 пациента), С/Т – 29% (20), Т/Т – 21,7% (15)) в сравнении с благоприятным течением (С/С – 53,7% (124 чел.), С/Т – 39,8% (92), Т/Т – 6,5% (15)),  $\chi^2$ –14,2,  $p < 0,01$ . Данная тенденция реализуется за счет женщин. Выявлено, что пациентки, имеющие генотип Т/Т в позиции 889 и уровень IL-1 $\alpha$  более 17,2 в 100%, в течение 8 лет перенесли ИМ, ОНМК, ТНМК, у мужчин риск был ассоциирован с вариантом С/С. Возможно, что зарегистрированная закономерность связана с высоким синтезом мембранной формы IL-1 $\alpha$  у женщин с генотипом Т/Т и как следствие при повышении слущивания эндотелия в период менопаузы более выраженным переходом связанной формы в сывороточную. Проведенный анализ не выявил достоверных различий в распределении частот встречаемости генотипов гена IL-1 $\alpha$  (VNTR) у пациентов с ЭАГ вне зависимости от развития осложнений при сопоставлении с контролем. При анализе частоты комбинаций

аллелей генов IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  у пациентов с формированием осложнений при ЭАГ II стадии в течение 8 лет на фоне повышения концентраций указанных цитокинов выделены прогностически неблагоприятные сочетания: для мужчин – IL1 $\beta$ 3953CC/IL-1 $\alpha$ 889CC, для женщин IL1 $\beta$ 3953CC/IL-1 $\alpha$ 889TT и IL1 $\beta$ 3953CC/IL-1 $\alpha$ 889CT. Также пациенты с указанными сочетаниями характеризуются отсутствием снижения сывороточных концентраций IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  при проведении клинически эффективной гипотензивной терапии.

Анализ уровня IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  с учетом генетических особенностей пациента открывает перспективы персонализированного подхода при определении риска повреждения органов-мишеней при ЭАГ, а также при подборе гипотензивной терапии, определяющей продление жизни пациента.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МК-4454.2012.7

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. International Cardiovascular Disease Statistics. European Heart Network and European Society of Cardiology, 2012, 275 p.
2. Радаева О. А., Симбирцев А. С. Гендерные особенности системы интерлейкина-1 у женщин с эссенциальной артериальной гипертензией. Цитокины и воспаление, 2014, Том 3, № 13, С. 31-38.
3. Pociot F., Molvig J., Wogensen L., Worsaae H., Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. Eur. J. Clin. Invest., 1992., Vol. 22., P. 396-402.

### RELATIONSHIP SERUM LEVELS AND GENE POLYMORPHISMS OF IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1RA WITH THE RISK OF MYOCARDIAL INFARCTION AND STROKE IN ESSENTIAL HYPERTENSION (EH)

Radaeva O.A.<sup>1</sup>, Simbirtsev A.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ogarev Mordovia State University, Saransk; <sup>2</sup>State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia

The aim of the present study was to evaluate the prognostic value of IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1ra levels and distribution of C+3953T IL-1 $\beta$ , T+889C IL-1 $\alpha$ , IL-1Ra VNTR in patients with essential hypertension (EH). Serum levels and gene polymorphisms IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1ra were measured in 300 patients with II stage EAH. The combination of alleles IL1 $\beta$ 3953CC/IL-1 $\alpha$ 889CC (for men), IL1 $\beta$ 3953CC/IL-1 $\alpha$ 889TT and IL1 $\beta$ 3953CC/IL-1 $\alpha$ 889CT (for women) and serum levels of IL-1 $\beta$ >14,8 pg/ml, IL-1 $\alpha$ >18 pg/ml determines myocardial infarction and stroke in patients with II stage EAH for the next 8 years.

*Key words:* IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , gene polymorphisms, essential hypertension

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВАРИАНТОВ ГЕНОТИПОВ ГЕНА *DRB1 HLA II* КЛАССА У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА И С СОЧЕТАНИЯМИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Репина Е. А.<sup>1</sup>, Болдырева М. Н.<sup>2</sup>, Сунцов Ю. И.<sup>1</sup>,  
Шестакова М. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ;

<sup>2</sup>ФГБУ «ГНЦ институт иммунологии» ФМБА РФ, Москва, Россия

Проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов гена *DRB1 HLA II* класса у 138 пациентов с сахарным диабетом 1 типа (СД1), 132 пациентов с СД1 в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями (АИЗ) и 34 пациентов с сочетаниями АИЗ без СД1. Контрольную группу составили 108 здоровых человек. Установлены достоверные отличия между группами СД1 и сочетания АИЗ без СД1; СД1+АИЗ и сочетания АИЗ без СД1 по частоте встречаемости ГВР и ГНР ( $p < 0,0001$ ). Группы сочетания АИЗ без СД1 и контроля достоверно отличались по частоте встречаемости ГВР и ГНР ( $p = 0,0277$ ). Также установлены достоверные отличия между группами СД1+АИЗ и сочетания АИЗ без СД1 по частоте встречаемости аллелей \*04 ( $p < 0,0001$ ), \*11 ( $p = 0,0047$ ) и \*15 ( $p = 0,0005$ ). Группы сочетания АИЗ без СД1 и контроля достоверно отличались по частоте встречаемости аллеля \*04 ( $p = 0,0219$ ).

Генетическая предрасположенность играет определяющую роль в механизмах манифестации и прогрессирования аутоиммунного воспаления при СД1 и других аутоиммунных заболеваниях (АИЗ) [1].

Наибольший вклад в предрасположенность к СД1 и другим АИЗ принадлежит локусу *IDDM1*, на котором находятся гены главного комплекса гистосовместимости *HLA II* класса. Одной из основных функций системы *HLA* является обеспечение физиологического взаимодействия иммунокомпетентных клеток в процессе развития иммунного ответа. Локус *HLA II* класса у людей, по оценкам ученых, вносит примерно 40-50% от общего вклада в наследственный риск развития СД1 и других АИЗ [1].

Задачей настоящего исследования является сравнительный анализ распределения частот генотипов гена *DRB1 HLA II* класса в группах пациентов с СД1, СД1 в сочетании с другими АИЗ и пациентов с сочетанием АИЗ без СД1.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 304 пациента. Все пациенты были разделены на 3 группы: в первую группу во-

шло 138 пациента с СД1, вторую группу составили 132 пациента с СД1 в сочетании с другими АИЗ, в третью группу вошло 34 пациента с сочетаниями АИЗ без СД1. Контрольную группу составили 108 человек без АИЗ и отягощенной наследственности по ним.

*HLA*-генотипирование по аллельным вариантам гена *DRB1 HLA II* класса выполнялось методом сиквенс-специфических праймеров с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для определения полиморфных аллелей данного гена применялись коммерческие наборы производства ЗАО «НПФ ДНК-Технология» (Россия). Амплификацию производили на амплификаторах «Терцик» (Россия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных подходов, используемых при проведении популяционно-генетических исследований. Сравнение частот встречаемости сочетаний генотипов проводилось с использованием точного двустороннего критерия Фишера.

**Результаты и их обсуждение.** В предыдущих наших исследованиях мы проводили сравнительный анализ распределения частот

генотипов гена *DRB1 HLA II* класса у пациентов СД1 и СД1+АИЗ ШЖ с учетом известных предрасполагающих / защитных вариантов гена *DRB1 HLA II* класса. При этом достоверных различий между группами получено не было [2-3]. Мы провели аналогичное исследование в группах пациентов с СД1 в сочетании с другими АИЗ и сочетаний АИЗ без СД1. Все исследуемые пациенты были разделены на три группы согласно вариантам генотипов гена *DRB1 HLA II* класса. В группу высокого риска (ГВР) вошли пациенты, в генотипе которых присутствовали любые два варианта гена *DRB1* из группы *DRB1: \*01, \*03, \*04, \*08, \*09, \*10*; группу низкого риска (ГНР) составили пациенты, в генотипе которых присутствовали любые два варианта гена *DRB1: \*07, \*11, \*12, \*13, \*14, \*15, \*16*; в группу промежуточного риска (ГПР) вошли пациенты, в генотипе которых один вариант был из группы *DRB1: \*01, \*03, \*04, \*08, \*09, \*10*, а другой – из группы *DRB1: \*07, \*11, \*12, \*13, \*14, \*15, \*16*.

Анализ распределения частот вариантов генотипов гена *DRB1 HLA II* класса в исследуемых группах выявил статистически достоверное повышение частоты встречаемости ГВР в группе больных СД1 в сочетании с АИЗ по сравнению с группой пациентов с сочетанием АИЗ без СД1 – 78/0,59 и 9/0,27 соответственно ( $p < 0,0001$ ). В этих же группах были получены статистически значимые отличия в частоте встречаемости ГНР ( $p < 0,0001$ ), но частота встречаемости ГНР была выше в группе пациентов с сочетанием АИЗ без СД1 – 8/0,24 против 5/0,038 в группе СД1+АИЗ.

При сравнении группы пациентов с сочетанием АИЗ без СД1 с контролем были также выявлены статистически значимые отличия в частоте встречаемости ГВР и ГНР ( $p = 0,0277$ ). При этом частота встречаемости ГВР была выше в группе сочетаний АИЗ без СД1 (9/0,27 против 13/0,12), а ГНР – в контроле (50/0,46 против 8/0,24). Мы также получили статистически значимые отличия в частоте встречаемости ГВР и ГНР в группах СД1 и сочетания АИЗ без СД1 ( $p < 0,0001$ ). Как и предполагалось, частота встречаемости ГВР была выше в группе пациентов с СД1 (86/0,62 и 9/0,27), а ГНР – в группе с сочетанием АИЗ без СД1 (8/0,24 и 7/0,05).

Мы также провели сравнительный анализ частоты встречаемости основных аллелей ис-

следуемого гена. Установлено статистически значимое увеличение частоты встречаемости аллельного варианта \*04 гена *DRB1 HLA II* класса в группе пациентов с СД1+АИЗ по сравнению с группой пациентов с сочетанием АИЗ без СД1 ( $p < 0,0001$ ) и в группе пациентов с сочетанием АИЗ без СД1 по сравнению с контролем ( $p = 0,0219$ ). При сравнении групп СД1+АИЗ и сочетания АИЗ без СД1 по аллелям \*11 и \*15 гена *DRB1 HLA II* класса выявлено достоверное увеличение частоты встречаемости аллелей \*11 ( $p = 0,0047$ ) и \*15 ( $p = 0,0005$ ) в группе пациентов с сочетанием АИЗ без СД1.

#### Выводы:

Таким образом, группы СД1 и сочетания АИЗ без СД1 статистически значимо отличаются по частоте встречаемости генотипов высокого и низкого риска гена *DRB1 HLA II* класса ( $p < 0,0001$ ). Группы СД1+АИЗ и сочетания АИЗ без СД1 достоверно отличаются по частоте встречаемости ГВР и ГНР ( $p < 0,0001$ ). Группы сочетания АИЗ без СД1 и контроля достоверно отличаются по частоте встречаемости ГВР и ГНР ( $p = 0,0277$ ). Группы СД1+АИЗ и сочетания АИЗ без СД1 достоверно отличаются по частоте встречаемости аллелей \*04 ( $p < 0,0001$ ), \*11 ( $p = 0,0047$ ) и \*15 ( $p = 0,0005$ ). Группы сочетания АИЗ без СД1 и контроля достоверно отличаются по частоте встречаемости аллеля \*04 ( $p = 0,0219$ ).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хаитов Р.М., Алексеев Л.П. Иммуногенетика и биомедицина. // Российский аллергологический журнал. – 2013. – № 1. – С. 5–14.
2. Репина Е.А., Атаманова Т.М., Зверева Я.С., Тишина Ю.В., Прокофьев С.А. Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов *HLA II* класса у пациентов с сахарным диабетом 1 типа в отсутствие и в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом. // Сахарный диабет. – 2013. – № 4. – С. 23–27.
3. Репина Е.А., Болдырева М.Н., Сунцов Ю.И., Батенева Е.И., Кадочникова В.В., Ильин А.В., Трошина Е.А. Сравнительный анализ распределения частот генотипов гена *DRB1 HLA II* класса и их сочетаний с генотипами *CT/TT* полиморфизма *rs 2476601* гена *PTPN22* у пациентов с сахарным диабетом 1 типа и сахарным диабетом 1 типа в сочетании с аутоиммунными тиреопатиями. // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 4. – С. 93–97.

## THE DISTRIBUTION OF DRB1 GENE GENOTYPES OF HLA II CLASS IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES AND COMBINATIONS OF AUTOIMMUNE DISEASES

E. A. Repina, M. N. Boldyreva, Y. I. Suntsov, M. V. Shestakova

A comparative analysis of the distribution of alleles and genotypes frequencies *DRB1 HLA II* class was carried out in 138 patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM), 132 patients with T1DM in combination with other autoimmune diseases (AID) and 34 patients with combinations of AID without T1DM. The control group consisted of 108 healthy persons. There were significant differences between the groups of T1DM and combinations of AID without T1DM; T1DM+AID and combinations of AID without T1DM in the incidence of GHR and GLR ( $p < 0,0001$ ). Patients with combinations of AID without T1DM and control had significant difference in the frequency of GHR and GLR ( $p = 0,0277$ ). We also found significant differences between the groups T1DM+AID and combinations of AID without T1DM in the frequency of alleles \*04 ( $p < 0,0001$ ), \*11 ( $p = 0,0047$ ) and 15\* ( $p = 0,0005$ ). Patients with combinations of AID without T1DM and healthy people had significant difference in the frequencies of allele \*04 ( $p = 0,0219$ ).

## ОСОБЕННОСТИ ИНСУЛИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ВАРИАНТАМИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Репина Е. А.<sup>1</sup>, Степанова Е. Н.<sup>2</sup>, Деев А. Д.<sup>3</sup>,  
Шестакова М. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ; <sup>2</sup>ГБОУ ДПО РМАПО МЗ РФ;  
<sup>3</sup>ФГБУ «ГНИЦ профилактической медицины» МЗ РФ, Москва, Россия

Проведено исследование уровней инсулин-индуцированной продукции (ИИП) цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  у 34 пациентов: 4 пациентов с сахарным диабетом 1 типа (СД1), 17 пациентов с СД1 в сочетании с аутоиммунным тиреоидитом (АИТ), 7 пациентов с СД1 в сочетании с диффузным токсическим зобом (ДТЗ), 6 пациентов с СД2 в сочетании с АИТ или ДТЗ и 10 человек контрольной группы. Выявлены значимые отличия между группами СД2+АИЗ ЩЖ и СД1+ДТЗ в уровнях ИИП ИЛ-1, ИЛ-2 и ИЛ-4 ( $p = 0,0048$ ,  $p = 0,0131$  и  $p = 0,0218$  соответственно). При этом в группе СД1+ДТЗ уровни ИИП ИЛ-1, ИЛ-2 и ИЛ-4 были значимо выше по сравнению с группой СД2+АИЗ ЩЖ. Уровни ИИП ИЛ-4 был значимо выше в группе СД1+АИТ по сравнению с группой СД1+ДТЗ ( $p = 0,0465$ ), что может указывать на большую выраженность ТН-2 варианта ответа в группе СД1+АИТ. Уровни ИИП ФНО- $\alpha$  были значимо выше в группе пациентов с СД1 по сравнению с группами СД2+АИЗ ЩЖ ( $p = 0,0095$ ) и СД1+АИТ ( $p = 0,0469$ ), что, по-видимому, связано с более мягким течением аутоиммунного воспаления в группе пациентов СД1+АИТ по сравнению с СД1.

Сахарный диабет 1 типа (СД1) – полигенно наследуемое многофакторное заболевание, развитие которого связано с аутоиммунной деструкцией  $\beta$ -клеток поджелудочной железы [1]. Согласно современной концепции, в механизмах развития аутоиммунного воспаления при СД1 принимают участие как гуморальные, так и Т-клеточные механизмы имму-

нитета, включая активацию Т-хелперов 1 (ТН1), ТН2, а также Т-регуляторных клеток, супрессирующих воспаление [2, 3]. При этом, ТН1 активируются в присутствии  $\gamma$ -интерферона (ИФН $\gamma$ ) и интерлейкина 12 (ИЛ-12), а ТН-2 – при участии интерлейкина 4 (ИЛ-4). Эти цитокины продуцируются клетками врожденного иммунитета [4, 5].

Различные генетические маркеры обуславливают гетерогенное течение СД1. В связи с этим, целью настоящего исследования было изучение зависимости между различными вариантами генотипов и активацией различных субпопуляций Т-лимфоцитов на основании выработки характерного спектра интерлейкинов для совершенствования методов ранней диагностики и прогнозирования вариантов течения СД1.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 34 пациента. Все пациенты были разделены на 4 группы: в первую группу вошло 4 пациента с СД1, вторую группу составили 17 пациентов с СД1 в сочетании с АИТ, в третью группу вошло 7 пациентов с СД1 в сочетании с ДТЗ, четвертую группу составили 6 пациентов с СД2 в сочетании с АИЗ ЩЖ. Контрольную группу составили 10 человек без АИЗ и отягощенной наследственности по ним.

Перед определением цитокинов лимфоциты пациентов выделяли из периферической крови исследуемых методом градиентного центрифугирования. Клетки дважды отмывали фосфатно-солевым буфером и ресуспендировали в бессывороточной среде с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки, 20 мкг/мл гентамицина, 2 мМ L-глутамин и 2 мМ NEPES. Суспензию лимфоцитов культивировали в пластиковых 24-луночных планшетах в течение 18-20 часов в CO<sub>2</sub>-инкубаторе. Культивирование лимфоцитов каждого пациента проводили в 3-х различных вариантах: без добавок – контрольный образец, с добавлением Т-клеточного митогена ФГА и образец с добавлением 0,01 МЕ инсулина.

Продукцию цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  оценивали методом проточной флуориметрии на двухлучевом лазерном автоматическом анализаторе. Статистическую обработку проводили с использованием метода дисперсионного анализа с поправкой на пол и возраст. Различия между параметрами считали статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Согласно полученным данным, уровни ИИП цитокинов были значимо выше по сравнению с контролем по ИЛ-1 (в группе СД1 в сочетании с ДТЗ), ИЛ-4, ИЛ-12, ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  (во всех группах) Нами также выявлены значимые отличия между группами СД2+АИЗ ЩЖ и СД1+ДТЗ в уровнях ИИП ИЛ-1, ИЛ-2 и ИЛ-4 ( $p=0,0048$ ,

$p=0,0131$  и  $p=0,0218$  соответственно). При этом в группе СД1+ДТЗ уровни ИИП ИЛ-1, ИЛ-2 и ИЛ-4 были значимо выше по сравнению с группой СД2+АИЗ ЩЖ, что, по-видимому, связано с отсутствием ответа на инсулин у пациентов с СД2.

Группы СД1+АИТ и СД1+ДТЗ имели значимые отличия в уровнях ИИП ИЛ-4 ( $p=0,0465$ ). При этом уровень ИИП ИЛ-4 был значимо выше в группе СД1+АИТ по сравнению с группой СД1+ДТЗ, что может указывать на большую выраженность ТН-2 варианта ответа в группе СД1+АИТ.

Уровни ИИП ФНО- $\alpha$  были значимо выше в группе пациентов с СД1 по сравнению с группами СД2+АИЗ ЩЖ ( $p=0,0095$ ) и СД1+АИТ ( $p=0,0469$ ), что, по-видимому, связано с более мягким течением аутоиммунного воспаления в группе пациентов СД1+АИТ по сравнению с СД1.

#### **Выводы:**

Таким образом, по профилю ИИП цитокинов можно судить о варианте течения аутоиммунного воспаления в ткани поджелудочной железы при СД1.

Наиболее агрессивное течение имеют пациенты с изолированным СД1, что отражается в самых высоких уровнях ИИП ФНО- $\alpha$  (ТН-1) в этой группе по сравнению с пациентами из группы СД1+АИТ ( $p=0,0469$ ).

Значимо более высокие уровни ИИП ИЛ-4 (ТН-2) в группе СД1+АИТ по сравнению с группой СД1+ДТЗ ( $p=0,0465$ ) могут свидетельствовать о сдвиге соотношения ТН-1/ТН-2 вариантов иммунного ответа в сторону ТН-2 варианта в группе СД1+АИТ.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Дедов И. И., Шестакова М. В. Сахарный диабет. – Руководство для врачей. – 2003. – 445 с.
2. Репина Е. А. Механизмы адаптивного иммунитета (на модели сахарного диабета 1 типа) // Сахарный диабет. – 2010. – № 2. – С. 21-27.
3. Репина Е. А., Степанова Е. Н., Топтыгина А. П., Зверева Я. С. Уровни продукции цитокинов у пациентов с сахарным диабетом // Российский аллергологический журнал. – 2011. – № 4. – вып. 1. – С. 309-311.
4. McGeachy M.J., Cua D.J. T cells doing it for themselves: TGF-beta regulation of Th1 and Th17 cells // Immunity, 2007, 26, 547-549.
5. Davidson T.S., DiPaolo R.J., Andersson J., Shevach E.M. Cutting edge: IL-2 is essential for TGF-beta-mediated induction of Foxp3 T-regulatory cells // J Immunol, 2007, 178, 4022-4026.

## PECULIARITIES OF INSULIN-INDUCED CYTOKINE'S PRODUCTION IN PATIENTS WITH DIFFERENT TYPES OF AUTOIMMUNE DIABETES

E. A. Repina, E. N. Stepanova, A. D. Deev, M. V. Shestakova

A study of the levels of insulin-induced production (IIP) cytokines IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  was carried out in 34 patients: 4 patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM), 17 patients with T1DM in combination with Hashimoto's thyroiditis (AIT), 7 patients with T1DM in combination with Graves' disease (GD), 6 patients with type 2 diabetes combined with AIT or GD (T2DM+AIT/GD) and a control group of 10 people. There were significant differences between the groups of T2DM+AIT/GD in IIP levels of IL-1, IL-2 and IL-4 ( $p=0.0048$ ,  $p=0.0131$  and  $p=0.0218$ , respectively). In the group T1DM+DTZ IIP levels of IL-1, IL-2 and IL-4 were significantly higher compared to the group T2DM+AIT/GD. IIP levels of IL-4 were significantly higher in the patients with T1DM+AIT compared with a group of T1DM+DTZ ( $p=0,0465$ ), which may indicate greater severity of TH-2 response options in a group of T1DM+AIT. Levels of IIP TNF- $\alpha$  were significantly higher in patients with T1DM compared to T2DM+AIT/GD ( $p=0,0095$ ) and T1DM+AIT ( $p=0,0469$ ), which appears to be associated with a milder course of autoimmune inflammation in patients with T1DM+AIT compared to T1DM.

## МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ И АПОПТОЗ МОНОЦИТОВ ПРИ СКЛЕРОДЕРМИИ

Романова Н. В., Ерыгина Е. Н., Романов В. А.

ГБОУ ВПО «ЯГМУ» Минздрова России, Ярославль, Россия

При системной склеродермии продемонстрирована активация апоптоза моноцитов (увеличение экспрессии CD95<sup>+</sup> антигена, снижение ДНК клеток) с активацией кислой фосфатазы и катионных белков клеток. Констатируется обратная корреляционная связь между ДНК моноцитов и спонтанной продукцией кислой фосфатазы. При ограниченной склеродермии значимых изменений в показателях апоптоза и метаболических функций моноцитов не обнаружено.

**Актуальность.** Иммунопатогенез различных форм склеродермии остается неясным, а взаимоотношения между системной и ограниченной склеродермией (ССД, ОСД) является предметом дискуссий. По современным представлениям оба заболевания относятся к категории аутоиммунных болезней [3, 5]. В последние годы в литературе активно обсуждается роль окислительного стресса в развитии фиброза кожи при склеродермии [2, 4], в то время как кислороднезависимые механизмы функционирования клеток, участвующих в склерогенезе, исследованы недостаточно. Не проводилось и детальных сравнительных исследований иммунопатогенеза ОСД и ССД. Исследования в этом направлении могут иметь не только теоретическое значение для понимания механизмов развития патологического процесса,

но и практическую значимость в плане разработки новых лабораторных подходов к диагностике и дифференциации ОСД и ССД, а также методов профилактики и лечения.

**Цель:** изучение показателей апоптоза моноцитов (Мн), а также их кислородзависимого метаболизма у больных ограниченной склеродермией (ОСД) и системной склеродермией (ССД).

Было обследовано 58 больных женского пола (24 – ССД, 34 – ОСД). Средний возраст больных ССД – 50,1 $\pm$ 12,8 года, давность болезни 15,3 $\pm$ 9,2 лет; средний возраст больных ОСД – 41,8 $\pm$ 18,4 лет, длительность заболевания – 9,8 $\pm$ 3,8 лет.

У 20 больных ССД (83,3%) было хроническое течение заболевания; у 4 (16,7%) – подострое, умеренная активность воспалительного

процесса (АИ) – у 16 (66,7%) пациентов, минимальная (АI) – у 8 (33,3%). Лимитированная форма склеродермии была диагностирована – у 20 (83,3%) больных, диффузная – у 4 (16,7%). В 8 случаях (33,3%) выявлены множественные телеангиэктазии. У всех больных ССД наблюдались поражения кожи, уплотнения кожи пальцев и лица, у 10 (41,7%) – подкожные кальцинаты, у 9 (37,5%) – атрофия кожи, у 2 (8,3%) – ливедо. В 10 (41,7%) случаях был констатирован миалгический синдром. Склеродактилия выявлена у 15 (62,5%) больных, остеоз – у 10 (41,7%). Синдром Рейно наблюдался у всех больных, синдром Шегрена – у 5 больных (20,8%). Поражение клапанного аппарата (стеноза устья аорты) обнаружено у одного больного, миокардиосклероз – у 12 больных (50%), адгезивный перикардит – у 9 (37,5%). Базальный пневмосклероз отмечен у 12 (50%) пациентов, сухой плеврит – у 5 (20,8%), поражения почек – у 6 (25%), артериальная гипертензия – у 3 (12,5%), эзофагит – у 6 (25%). Поражение ЦНС – у 4 (16,7%) пациентов.

ОСД была диагностирована в стадии плотного отека у 12 (35,3%) больных, индурации – у 18 (52,9%), в стадии атрофии – у 4 (11,7%). У двух больных (5,9%) была обнаружена алопеция. Бляшечная форма ОСД наблюдалась у 32 пациентов (94,1%), линейная – у 2 (5,9%). При клинико-лабораторном и инструментальном обследовании больных ОСД признаков системности не было выявлено.

Контрольную группу составили 33 здоровых женщины, средний возраст  $54,9 \pm 8,2$  года.

**Используемые методы.** Популяции моноцитов и нейтрофилов периферической крови человека получали с помощью центрифугирования на двойном градиенте плотности фиколла-верографина, моноциты из смеси мононуклеарных клеток – центрифугированием в градиенте плотности перколла [1]. Исследовали маркеры апоптоза – экспрессию CD95 антигена на Мн с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции, ДНК клеток – микроцитометрическим методом с красителем акридиновым оранжевым. Определяли также интенсивность спонтанной и индуцированной стафилококком продукции кислой фосфатазы (сКФ, иКФ) и катионных белков (сКБ, иКБ) в моноцитах [1]. Функциональный резерв фагоцитов оценивали по коэффициенту активации (КА КФ, КА КБ – отношение индуцированных тестов к спонтанным).

Статистическая обработка данных проведена с помощью программного пакета Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) с вычислением показателей среднего  $\pm$  стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ), для исследования взаимосвязи изученных показателей применен корреляционный анализ. Различия между группами считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Основные результаты.** При ССД количество CD95<sup>+</sup> Мн было статистически достоверно выше ( $69,6 \pm 4,32$ ), чем у здоровых лиц ( $39,3 \pm 8,32$ ,  $p < 0,05$ ). Выявлено достоверное снижение ДНК в Мн ( $4,28 \pm 0,45$  mV, у доноров –  $8,36 \pm 1,55$  Mv,  $p < 0,05$ ).

Показатели кислороднезависимого метаболизма Мн (сКФ –  $175,3 \pm 49,8$ , иКФ –  $196,8 \pm 2,7$  ODx10<sup>3</sup> имп/мин, КА КФ –  $1,1 \pm 0,3$ ; сКБ –  $76,1 \pm 1,1$ , иКБ –  $73,9 \pm 2,7$  ODx10<sup>3</sup>, КА КБ –  $0,9 \pm 0,2$ ) у больных ОСД не отличались от показателей лиц группы контроля (сКФ –  $173,1 \pm 49,8$ , иКФ –  $192,8 \pm 46,6$  ODx10<sup>3</sup>, КА КФ –  $1,1 \pm 0,4$ ; сКБ –  $61,7 \pm 18,1$ , иКБ –  $63,4 \pm 29,7$  ODx10<sup>3</sup>, КА КБ –  $1,1 \pm 0,2$ ;  $p > 0,05$ ). При ССД констатировано увеличение спонтанной продукции активных форм кислорода на фоне снижения индуцированных показателей и резервных функций моноцитов по сравнению с аналогичными данными у больных ДКВ и здоровых людей (контроля (сКФ –  $249,7 \pm 98,3$ , иКФ –  $263,8 \pm 158,7$  ODx10<sup>3</sup>, КА КФ –  $1,1 \pm 0,4$ ; сКБ –  $106,8 \pm 80,1$ , иКБ –  $115,1 \pm 105,1$  ODx10<sup>3</sup>, КА КБ –  $1,1 \pm 0,3$ ;  $p < 0,05$ ).

Только у больных ССД констатирована обратная корреляционная связь между ДНК Мн и спонтанной продукцией кислой фосфатазы.

Таким образом, выполненные исследования свидетельствуют об активации процессов апоптоза Мн при ССД в виде увеличения экспрессии CD95 антигена и снижения ДНК клеток на фоне активации кислороднезависимого метаболизма моноцитов. При ОСД значимых изменений в показателях апоптоза и метаболических функций моноцитов не было обнаружено. Эти данные указывают на патогенетическую значимость участия моноцитов в развитии системных поражений при ССД. Проведенные исследования свидетельствуют также о возможности использования в качестве дополнительных лабораторных методов для дифференциации ОСД и ССД тестов, характеризующих кислороднезависимые метаболические функции циркулирующих моноцитов и их склонность к апоптозу.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хаитов Р. М. и др. / Экологическая иммунология. М: ВНИРО; 1995.
2. Gabrielli A. et al. New Insights into the Role of Oxidative Stress in Scleroderma Fibrosis // *Open Rheumatol J.* – 2012. – 6. – P. 87-95.
3. Sato S. et al. Altered B lymphocyte function induces systemic autoimmunity in systemic sclerosis // *Mol. Immunology.* – 2004. – 41 (12). – P. 1123-1133.
4. Shroff A. et al. Oxidative Stress and Skin Fibrosis // *Curr Pathobiol Rep.* – 2014. – 2 (4). – P. 257-267.
5. Takehara K., Sato S. Localized scleroderma is an autoimmune disorder // *Rheumatology (Oxford).* – 2005. – 44 (3). – P. 274-279.

## METABOLIC FUNCTION AND APOPTOSIS OF MONOCYTES IN SCLERODERMA

N. V. Romanova, E. N. Erygina, V. A. Romanov

With systemic scleroderma demonstrated activation of apoptosis of monocytes (increase of the expression of CD95<sup>+</sup> antigen, reduction DNA cells) with the activation of acid phosphatase and cationic proteins cells. The inverse correlation stated between the DNA of monocytes and spontaneous production of acid phosphatase. In localized scleroderma were not found significant changes in rates of apoptosis and metabolic functions of monocytes.

## ЗНАЧЕНИЯ ТРАНСПЛАЦЕНТАРНЫХ IgG-АНТИТЕЛ К *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* И *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Сависько А. А.<sup>1</sup>, Костинов М. П.<sup>2</sup>, Харсеева Г. Г.<sup>1</sup>,  
Сависько А. А.<sup>1</sup>, Ястребова Н. Е.<sup>2</sup>, Шмитько А. В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет Минздрова России, Ростов-на-Дону; <sup>2</sup>ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Россия

Цель исследования – оценка показателей трансплацентарного адаптивного иммунитета к *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* у новорожденных детей. Материалом для исследования явилась пуповинная кровь 682 новорожденных детей, в которой с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) определяли IgG-антитела к *S. pneumoniae* и *H. influenzae*. Выявлены достоверно низкие значения трансплацентарных антител к *S. pneumoniae* и *H. influenzae* у детей, рожденных женщинами, перенесшими различные инфекционно-воспалительные заболевания во время беременности вне зависимости от их локализации. Это свидетельствует о повышении риска развития гемофильной и пневмококковой инфекций у детей, рожденных женщинами с отягощенным инфекционным анамнезом.

В настоящее время лидирующую позицию среди причин детской смертности продолжают занимать инфекционные заболевания, вызванные условно-патогенными микроорганизмами – *S. pneumoniae* и *H. influenzae* [1], что обуславливает медико-социальную актуальность и значимость заболеваний, вызванных данными бактериями [2]. До настоящего времени не до конца изучены патогенетически значимые механизмы развития заболева-

ний, вызванных *S. pneumoniae* и *H. influenzae*, продолжается поиск ранних прогностических критериев, позволяющих формировать группы риска развития данных инфекций у новорожденных детей [3]. Первостепенное значение в диагностике приобретает мониторинг показателей специфического иммунитета, который может быть важным дополнительным диагностическим и прогностическим критерием [4].

**Цель исследования** – оценка показателей трансплацентарного адаптивного иммунитета к *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* у новорожденных детей.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования явилась пуповинная кровь 682 новорожденных детей, в которой с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) определяли IgG-антитела к *S. pneumoniae* и *H. influenzae*. Для проведения ИФА использовали скрининговую иммуноферментную тест-систему для определения антител к *S. pneumoniae* и *H. influenzae* (ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова) [4]. Для определения антител использовали препараты клеточных стенок, обладающих видовой специфичностью. Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистических пакетов «Microsoft Excel 2000» и «Statistica» для WindowsXP.

**Полученные результаты и их обсуждение.** В результате исследования установлено, что у всех 682 обследованных новорожденных значения антител в пуповинной крови к *S. pneumoniae* находились в диапазоне от 20,8 до 141,7 у.е. (среднее значение 47,9 у.е.) и *H. influenzae* 15,2 до 118,3 у.е. (среднее значение 36,5 у.е.)

В дальнейшем представляло интерес выявить различия в зависимости от детального анализа инфекционного анамнеза матерей 180 обследованных новорожденных, на основании чего были выделены две группы. В состав I группы вошли 140 новорожденных (77,9%), у матерей которых были верифицированы различные инфекционно-воспалительные заболевания во время беременности. Во II клиническую группу было выделено 40 новорожденных (22,1%) с благоприятным инфекционным анамнезом у матерей, у которых во время беременности не развивались инфекционно-воспалительные заболевания.

При этом показатели адаптивного иммунитета имели достоверные различия в двух исследуемых группах. Так у новорожденных I группы, матери которых перенесли различные инфекционно-воспалительные заболевания во время беременности, значения IgG-антител к *S. pneumoniae* и *H. influenzae* были достоверно ниже по сравнению с новорожденными II группы с благоприятным инфекционным анамнезом.

Кроме того, при более детальном анализе анамнестических данных детей I группы были

выявлены различия уровней антител в зависимости от локализации перенесенного воспалительного процесса у их матерей во время беременности. Так у детей IA-подгруппы, матери которых перенесли ОРЗ с развитием патологии ЛОР-органов, средние значения антител к *H. influenzae* ( $37,5 \pm 4,78$  у.е.) и *S. pneumoniae* ( $41,4 \pm 2,25$  у.е.) были ниже ( $p < 0,05$ ) по сравнению с аналогичными показателями у детей II группы. В IB-подгруппе детей, рожденных женщинами с инфекционной патологией органов мочеполовой системы во время беременности, более низкие значения IgG-антител ( $p < 0,05$ ) верифицировались к *H. influenzae* ( $42,7 \pm 1,80$  у.е.) по сравнению с детьми II группы, рожденными с благоприятным инфекционным анамнезом ( $50,6 \pm 2,66$  у.е.). При сравнении средних значений уровней антител в IB-подгруппе детей выявлены их более низкие значения также к *H. influenzae* ( $41,4 \pm 3,19$  у.е.) и *S. pneumoniae* ( $47,0 \pm 2,21$  у.е.), чем у детей II группы ( $50,6 \pm 2,66$  и  $55,3 \pm 1,50$  соответственно).

Таким образом, в ходе исследования было установлено, что уровни трансплацентарных IgG-антител к *S. pneumoniae* и *H. influenzae* имеют различия в зависимости от тяжести инфекционного анамнеза матерей новорожденных детей. Это свидетельствует о повышении риска развития гемофильной и пневмококковой инфекций у детей, рожденных женщинами, перенесшими различные инфекционно-воспалительные заболевания во время беременности. Большое значение имеет и противоинфекционная профилактика женщины в период подготовки к беременности, заключающаяся в санации хронических очагов инфекции, прежде всего со стороны ЛОР-органов и мочеполовой системы, проведения бактериологического обследования и определение уровня антибактериальных антител. Это позволит значительно минимизировать риски развития инфекционно-воспалительных заболеваний у женщин в этот период и в последующем у их новорожденных детей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Костинов М.П., Лавров В.Ф. Вакцины нового поколения в профилактике инфекционных заболеваний (издание 2-е, дополненное). М.: МВД; 2010.
2. Катрецкая Г.Г., Маслов Ю.Н., Быкова Л.П. Годовалов Л.П. Анализ структуры и уровня анти-

- биотикорезистентности условно-патогенной микрофлоры нижних дыхательных путей у больных пневмонией. Вестник военно-медицинской академии. Приложение. 2008; (2): 463-464.
3. Костинов М. П., Мещерякова А. К., Фошина Е. П., Тарбаева Д. А., Сависько А. А., Зайцева Е. В. Клиническое течение острой респираторной инфекции и состояние микробиоценоза верхних дыхательных путей у беременных. Журн. Микробиологии. 2012; (5): 12-16.
  4. Ястребова Н. Е. Результаты мониторинга антибактериальных и противотканевых антител у здоровых и больных различными заболеваниями людей. Журнал микробиологии. 2007; (3): 42-47.

### VALUES TRANSPLACENTAL IgG-ANTIBODIES TO *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* AND *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* IN NEWBORNS

An.A. Savisko, M. P. Kostinov, G. G. Harseeva, A.A. Savisko,  
N. E. Yastrebova, Shmitko A. D.

A research aim – evaluation indicators transplacental adaptive immunity to *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in newborns. The material for the study was 682 umbilical cord blood of newborn, in which determined IgG-antibodies to *S.pneumoniae* and *H.influenzae*. Revealed significantly lower values of transplacental antibodies to *S. pneumoniae* and *H. influenzae* in children born to women who had undergone a variety of infectious and inflammatory diseases during pregnancy, regardless of their location. This indicates an increased risk of Hib and pneumococcal infections in children born to women with a weighed down infectious history.

### ЦИТОКИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ В КРОВИ У ВЗРОСЛЫХ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Сафиуллин А. И., Меркушкина Т. А., Бегишева Р. Р.,  
Залялиева М. В.

Институт иммунологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Проведено исследование цитокинов ИФН- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-8, ГКСФ у 62 ВИЧ-инфицированных пациентов на разных стадиях ВИЧ/СПИД заболевания. По мере прогрессирования болезни отмечено повышение интерферонового статуса на первой и второй клинических стадиях заболевания с резким снижением относительно контрольных данных в четвертой стадии. Выявлен рост ФНО- $\alpha$  и Г-КСФ на всех стадиях ВИЧ/СПИД заболевания, превышающий показатели контроля в несколько раз. Отмечено повышение ИЛ-4 по мере прогрессирования ВИЧ-инфекции и снижение ИЛ-8 на всех стадиях относительно контроля. Нарушение синтеза цитокинов по мере прогрессирования заболевания ведет к их дисбалансу и иммуносупрессии.

**Актуальность.** Рост пораженности населения в Узбекистане ВИЧ инфекцией продолжает оставаться актуальной проблемой, несмотря на современные схемы антиретровирусной терапии. Для оценки стадии заболевания широко используются такие критерии как количество CD4-лимфоцитов, вирусная нагрузка (РНК ВИЧ в плазме крови). В последнее время все больше внимания уделяется

исследованию активности цитокинов, синтезируемых иммунными клетками иммунной и нервной систем.

ВИЧ играет важную роль в регуляции синтеза цитокинов. За счет переключения иммунного ответа с Th1 на Th2 ВИЧ стимулирует гуморальное звено иммунитета и поэтому на всех стадиях болезни наблюдается гиперпродукция иммуноглобулинов. Считают, что инфекция

ВИЧ-1 ведет к дисрегуляции внутриклеточной экспрессии мРНК цитокинов и экспрессии цитокинов не только в ВИЧ-1 инфицированных клетках, но и в клетках, которые непосредственно не поражены ВИЧ [1, 2, 3, 5].

**Цель исследования.** Изучить цитокиновую активность в крови у ВИЧ-инфицированных взрослых людей, находящихся на разных стадиях заболевания.

**Материалы и методы.** Обследовано 62 ВИЧ-инфицированных пациента на разных стадиях заболевания, в возрасте от 21 до 45 лет. Все пациенты находились на учете в Республиканском центре по борьбе со СПИДом. По мере прогрессирования заболевания у ВИЧ-инфицированных пациентов наблюдались оппортунистические инфекции и сопутствующие заболевания (персистирующая генерализованная лимфоаденопатия, простой и опоясывающий герпес, кандидоз, хронический бронхит, пневмония, туберкулез, хроническая диарея, хронический гепатит). Проводилось определение интерферонов статус – содержание сывороточных интерферона- $\alpha$  (ИФН- $\alpha$ ) и интерферона- $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ), фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкина-4 (ИЛ-4), хемокина ИЛ-8, гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора (Г-КСФ). Определение цитокинов проводилось тест системами производства ООО «Цитокин» и «Протеиновый контур» (Гос НИИ ОЧП, СПб, РФ) на планшетном ридере «Мультискан».

**Результаты и обсуждение.** Полученные результаты показали, что при ВИЧ-инфекции в несколько раз усиливается продукция сывороточного ИФН- $\alpha$  по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). Концентрация ИФН- $\gamma$  выявлялась наиболее высокой в бессимптомной стадии заболевания, что в 6 раз превышало показатели контроля ( $749 \pm 56$  пг/мл, в контроле  $124 \pm 16$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). С прогрессированием ВИЧ/СПИД заболевания продукция ИФН- $\gamma$  повышалась в 2,8 раза во 2-й стадии заболевания ( $p < 0,05$ ) и в 1,3 – в 3-й стадии заболевания, в 4-й стадии содержание ИФН- $\gamma$  резко снижалось – в 4 раза относительно контрольных данных ( $29,8 \pm 14$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). На поздних стадиях ВИЧ-инфекции наблюдается смещение равновесия популяций CD4 лимфоцитов в сторону Th2 клеток за счет истощения Th1 клеток. Процесс становится необратимым и наблюдается переход в следующую стадию заболевания. Повышение интерферонового

статуса при 1-й, 2-й, 3-й клинических стадиях свидетельствует о сохранении определенных резервов в противоинфекционной защите, которая резко падает в 4-й стадии заболевания.

Аналогичные изменения наблюдались и для ФНО- $\alpha$ . Наибольшее его повышение наблюдалось во 2-й и 3-й стадиях заболевания – в 9 раз ( $p < 0,001$ ). В 4-й стадии заболевания уровень ФНО- $\alpha$  снижался относительно данных во 2-й и 3-й стадиях, но выявлялся выше контроля в 6 раз ( $194 \pm 14$  пг/мл, в контроле  $29 \pm 2,6$  пг/мл). ФНО- $\alpha$  играет отрицательную роль в патогенезе ВИЧ-инфекции. Он способствует дальнейшему инфицированию иммунокомпетентных клеток, а также вирусной репликации. ФНО- $\alpha$  индуцирует гибель неинфицированных CD4 и CD8 Т-лимфоцитов по механизму апоптоза, что обеспечивает прогрессирование иммунодефицита. ФНО- $\alpha$  поддерживает жизнеспособность инфицированных CD4 клеток, способствуя формированию в организме большого резервуара ВИЧ-1. Следовательно, повышение содержания ФНО- $\alpha$  в крови ВИЧ-инфицированных следует рассматривать в качестве маркера прогрессирования заболевания.

Противовоспалительный цитокин ИЛ-4 только на бессимптомной стадии заболевания выявлялся в пределах контроля. По мере прогрессирования ВИЧ-инфекции уровень ИЛ-4 повышался и в 4-й стадии превышал показатели контроля в 5 раз ( $11,1 \pm 1,9$  пг/мл, в контроле  $1,9 \pm 1,0$  пг/мл,  $p < 0,001$ ). ИФН- $\gamma$  является антагонистом ИЛ-4. Выявлена высокая вариабельность содержания ИЛ-4 на всех стадиях заболевания. Необходимо отметить, что основной маркер Th1 типа цитокин ИФН- $\gamma$  способен ингибировать эффекты ИЛ-4. Поэтому период, предшествовавший развитию оппортунистических инфекций характеризовался ослаблением продукции ИЛ-4 при сохранении высокого уровня ИФН- $\gamma$ . Рост ИЛ-4 в завершающую стадию болезни является одним из решающих факторов, усугубляющим течение заболевания и принимающим участие в поляризации иммунного ответа в направлении Th2 клеток. Анализ данных цитокина ИЛ-8, обеспечивающего миграцию лейкоцитов, во всех стадиях заболевания показал его снижение относительно контрольных данных в 2-3 раза ( $8,0 \pm 2,2$  пг/мл в 1-й стадии,  $6,3 \pm 1,6$  пг/мл в 4-й стадии, в контроле  $18,4 \pm 0,8$  пг/мл,  $p < 0,01$ ). Цитокин ИЛ-8 в зависимости от дозы может оказывать разно-

направленный ответ – в концентрации 0,1-10,0 пг/мл активизирует, а в более высоких дозах подавляет адгезию нейтрофилов и их миграцию через эндотелий сосудов. Снижение уровня ИЛ-8 свидетельствует об активации моноцитарно-макрофагального звена иммунитета при развитии оппортунистических инфекций [4].

Г-КСФ, вызывающий дифференцировку клеток-предшественников, на всех стадиях ВИЧ/СПИД заболевания превышал показатели контрольных в 20-30 раз (161±41 пг/мл в 1-й стадии, 214±23 пг/мл в 4-й стадии, в контроле 6,0±2,2 пг/мл,  $p < 0,001$ ). Эти данные свидетельствуют о том, что при ВИЧ/СПИД заболевании в борьбе с оппортунистическими инфекциями основное значение приобретают неспецифические факторы защиты, в том числе Г-КСФ. Увеличение предшественников лимфоцитов свидетельствует об очень сильном стимулировании неспецифического иммунного ответа, благодаря которому продолжается борьба с инфекциями, поражающими весь организм, когда специфические факторы иммунитета уже истощены. Возможно, что именно факторы врожденного иммунитета отвечают за продолжение жизни ВИЧ-инфицированного в стадии СПИД. Наиболее высокий уровень Г-КСФ отмечен в терминальной стадии.

Таким образом, многообразие механизмов и факторов иммунной защиты (клеточных и гуморальных) при ВИЧ/СПИД заболевании

в полной мере реализуется в системе цитокинов. Разнообразные комбинации этих молекул обеспечивают необходимый баланс двух форм иммунной защиты на местном и системном уровнях на бессимптомной стадии заболевания. Оппортунистические инфекции (вирусы, бактерии, грибы, простейшие) подавляют эффективный клеточный ответ Th1 типа, нарушается синтез цитокинов, возникает их дисбаланс, что ведет к иммуносупрессии и прогрессированию заболевания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутыльский А.Н., Кузник Б.И., Розенберг В.Я. Динамика показателей иммунитета у больных в различных стадиях ВИЧ-инфекции. //Мед. иммунология. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 153-154.
2. Залялиева М.В., Рузубакиев Р.М. Генетические и иммунологические особенности ВИЧ-1 инфекции в Узбекистане. //Монография. – Ташкент-2010.
3. Симбирцев А.С. Роль цитокинов в регуляции физиологических функций иммунной системы. //Журн. Физиология и патология иммунной системы. М. – 2004. – С. 3–10.
4. Interleukin-8 stimulates human immunodeficiency virus type 1 replication and is a potential new target for antiretroviral therapy. /Lane B.B., Lorek K., Bock P.J. et al. //J. ViroL – 2001. – Vol. 75, N17, – P. 8195-8202.
5. Type 1 and type 2 cytokines in HIV infection – A possible role in apoptosis and disease progression. /Clerici M., Fusi M.L., Ruzzante S. et al. //Ann. Med. – 1997. – Vol. 29, N3. – P. 185-188.

## CYTOKINE ACTIVITY IN BLOOD OF ADULTS AT VARIOUS STAGES OF HIV-INFECTION

Safiullin A.I, Merkushkina T.A., Begisheva R.R, Zalyalieva M. V.

*Institute of immunology of Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan*

Cytokines IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF-  $\alpha$ , IL-4, IL-8, GCSF in 62 HIV-infected individuals at various stages of HIV/AIDS were studied. Increase of interferon state at the first and second stages of the disease and its abrupt decrease in comparison with control data at the fourth one were found. Elevation of the level of TNF-  $\alpha$  and GCSF was observed to be several times as high as control values at all the stages of the disease. IL-4 increases and IL-8 decreases in comparison with control values at all the stages as the HIV-infection progresses. A disturbance in cytokines synthesis leads to their imbalance and immunosuppression as the diseases progresses.

## ИНДУКЦИЯ АНТИГЕННЫХ ДЕТЕРМИНАНТ ДЛЯ РЕВМАТОИДНОГО ФАКТОРА, ПОДАВЛЯЮЩЕГО АУТОИММУННЫЕ РЕАКЦИИ, НА Fc ФРАГМЕНТАХ IGG ЧЕЛОВЕКА

Сидоров А. Ю., Терентьев А. С., Бедулева Л. В.,  
Меньшиков И. В., Ирина М. П., Ключева Е. Н.

ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет», Ижевск, Россия

В ранее проведенных исследованиях мы обнаружили, что ключевым фактором регуляции аутоиммунных реакций, предотвращающим развитие аутоиммунных заболеваний, являются лимфоциты, продуцирующие ревматоидный фактор (РФ). Также было показано, что антигенные детерминанты, стимулирующие РФ-продуцирующие лимфоциты, можно индуцировать на Fc фрагментах гомологичного IgG. На модели коллаген-индуцированного артрита крыс была показана эффективность Fc фрагментов IgG крыс в подавлении аутоиммунных реакции к коллагену и редукции симптомов артрита. Однако не известно, возможно ли индуцировать такие антигенные детерминанты на Fc фрагментах IgG человека. Поэтому целью исследования является выяснить, несут ли Fc фрагменты IgG человека, полученные папаиновым протеолизом, антигенные детерминанты для популяции РФ, подавляющего аутоиммунные реакции.

*Ключевые слова:* Fc фрагменты IgG, папаиновый протеолиз, аутоиммунные реакции, ревматоидный фактор

**Введение.** В недавно проведенных нами исследованиях было показано, что ревматоидный фактор (РФ) является фактором регуляции, сдерживающим развитие аутоиммунных заболеваний [1]. Данный факт позволяет рассматривать лимфоциты, продуцирующие ревматоидный фактор, как биомишень, стимуляция которой может быть способом подавления аутоиммунных реакций при аутоиммунных заболеваниях. Известно, что антигеном для РФ являются Fc фрагменты IgG. На модели коллаген – индуцированного артрита крыс было показано, что Fc фрагменты IgG крыс, полученные папаиновым протеолизом, способны вызывать продукцию ревматоидного фактора и подавлять аутоиммунные реакции к коллагену [2]. В то же время, было обнаружено, что Fc фрагменты IgG крыс гетерогенны по физико-химическим и биологическим свойствам, не все Fc фрагменты крысы, полученные папаиновым протеолизом, несут антигенные детерминанты для популяции РФ, подавляющего аутоиммунные реакции. Не известно могут ли Fc фрагменты IgG человека

нести антигенные детерминанты для популяции ревматоидного фактора, подавляющего аутоиммунные реакции.

Поэтому целью исследования было выяснить, несут ли Fc фрагменты IgG человека, полученные папаиновым протеолизом, антигенные детерминанты для популяции РФ, подавляющего аутоиммунные реакции.

**Методы исследования.** Fc фрагменты IgG человека получали методом папаинового протеолиза [3]. Выделение Fc фрагментов IgG человека проводили с помощью эксклюзионной хроматографии на колонке с Sephacryl S-100 26/400, и аффинной хроматографии на protein G-сепфарозе. Анализ полученных фрагментов проводили методом SDS-электрофореза в ПААГ в разделяющем (10%) и градиентном (3-15%) гелях. Наличие антигенных детерминант на Fc фрагментах IgG человека специфичных для популяции ревматоидного фактора, подавляющего аутоиммунные реакции определяли методом конкурентного агглютинационного анализа, по способности подавлять агглютинацию танализированных нагруженных IgG чело-

века эритроцитов, вызванную ревматоидным фактором. В качестве контроля использовали нативный IgG человека.

**Результаты.** Электрофоретический анализ Fc фрагментов, полученных методом папаинового протеолиза, показал, что Fc фрагменты IgG человека как в разделяющем, так и градиентном геле представлены двумя полосами в области 45-50 кДа в диссоциирующих условиях и одной полосой в области 25-30 кДа в восстанавливающих условиях. Получаемые Fc фрагменты IgG человека содержат примесь тяжелых и легких цепей IgG человека в размере около 20%. Fc фрагменты IgG человека, полученных папаиновым протеолизом, вызывают торможение агглютинации таннизированных нагруженных IgG человека эритроцитов, вызванной сывороткой, содержащей РФ. При добавлении нативного IgG человека торможения реакции агглютинации не наблюдалось. Данный факт указывает на то, что антигенные детерминанты для популяции РФ, подавляющего аутоиммунные реакции, явля-

ются неоантигенными, индуцируемыми при папаиновом протеолизе. Иммунизация крыс Fc фрагментами IgG человека вызвала продукцию не только видоспецифических антител к IgG человека, но и популяции РФ, подавляющей аутоиммунные реакции.

Таким образом, Fc фрагменты IgG человека, полученные папаиновым протеолизом, несут антигенные детерминанты для популяции РФ, подавляющего аутоиммунные реакции, и могут быть использованы в качестве действующего начала вакцины для лечения аутоиммунных заболеваний.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Beduleva L., Menshikov I., Stolyarova E., Fomina K., Lobanova O. [et al.]. *International Journal of Rheumatic Diseases* 2014, doi. 10.1111/1756-185X.12335.
2. Меньшиков И. В., Бедулева Л. В. Патент на изобретение № 2385164. 2010.
3. A. C. Wang and I. Y. Wang, *Immunochemistry*. 1977, Vol. 14, pp. 197-200.

### **Fc FRAGMENTS OF HUMAN IgG, WHICH CARRIERS ANTIGENIC DETERMINANTS FOR RHEUMATOID FACTOR SUPPRESSES AUTOIMMUNE REACTION**

**Sidorov A. Yu., Beduleva L. V., Terenriev A. S., Menshikov I. V., Irina M. P., Klyueva E. N.**

*FSEI HPE «Udmurt state university», Izhevsk, Russia*

Previously, we have discovered that the main factor of regulation autoimmune reactions and suppresses autoimmune diseases is lymphocytes producing rheumatoid factor (RF). Also, we showed that antigenic determinants for lymphocytes producing rheumatoid factor can be inducing on Fc-fragments homologous IgG. In model of collagen-induced arthritis in rats efficiency showed Fc fragments of rat IgG in the suppression of collagen – directed autoimmune reactions and in the reduction of the arthritis symptoms. However, nature and localization of antigenic determinants for rheumatoid factor has not been studies, as well as possibility of inducing these determinants in the Fc fragments of human IgG. Therefore, the aim of our research is to find out whether the papain Fc fragments of human IgG carry antigenic determinants for rheumatoid factor suppresses autoimmune reaction.

*Key words:* Fc fragments IgG, papain digestion, rheumatoid factor, autoimmune reactions

## ИНВЕРСИЯ СВОЙСТВ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ ПО ГУМОРАЛЬНОМУ ТИПУ

Сизякина Л. П., Андреева И. И., Голошубова Е. А.

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Россия

Представлены результаты изучения количественных и функциональных параметров функционирования клеточного звена адаптивного и врожденного иммунитета у пациентов с ОВИН, X-АГГ, селективным дефицитом IgA. Выявлена активация процессов созревания Т-клеток, изменение дифференцировки в сторону преобладания цитотоксических лимфоцитов и активация их функции при ОВИН и X-АГГ при практически сохранной их активности у пациентов с селективным дефицитом IgA. Клетки врожденного иммунитета характеризовались снижением функционального потенциала.

В настоящее время одной из актуальных проблем фундаментальной и клинической иммунологии являются первичные иммунодефициты (ПИД) – генетически обусловленная неполноценность иммунной системы формировать иммунный ответ [1,2]. Наиболее распространенной формой первичных иммунодефицитов является дефект антителообразования. При этом возможны различные варианты – полное отсутствия В-клеточного звена иммунной системы (X-сцепленная агаммаглобулинемия, X-АГГ), частичная его неполноценность в виде сниженного уровня всех и, в особенности G, классов иммуноглобулинов (Общевариабельная иммунная недостаточность, ОВИН), либо селективная недостаточность только по IgA классу. В регистре ПИД Ростовской области на долю генетических дефектов антителообразования приходится 86%, 12% из них – пациенты с ОВИН, 5% составляют больные X-АГ, однако самой частой формой ПИД является селективный IgA дефицит (34%). При этом доминирующим клиническим проявлением селективной недостаточности является инфекционная патология (75% всех случаев), реже встречаются аутоиммунные (14%) и аллергические (11%) заболевания.

Очевидно, что при генетической поломке гуморального звена изменения затрагивают и другие звенья иммунной системы, ха-

рактеристика которых в этих случаях мало изучена [3,4]. Между тем, воздействия на эти системы (Т-лимфоциты, клетки врожденного иммунного ответа) предоставляет возможности повышения эффективности терапии дефектов антителообразования.

**Целью** настоящего исследования является выявление патогенетической значимости функциональных параметров Т-клеточного звена, сигнальных путей иммунокомпетентных клеток и факторов врожденного иммунитета при X-АГГ, ОВИН и селективном дефиците IgA.

**Материал и методы.** Под наблюдением находилось 10 пациентов (мужчины) в возрасте 10-24 лет с диагнозом «X-сцепленная агаммаглобулинемия», 13 человек (7 женщин, 6 мужчин) в возрасте 15-55 лет с диагнозом «Общевариабельная иммунная недостаточность», 65 человек в возрасте 3-40 лет с селективным дефицитом IgA. В качестве группы сравнения обследованы 10 практически здоровых доноров крови в возрасте 20-22 лет. Методом проточной цитофлюориметрии с использованием моноклональных антител производства Becton Coulter (США) фенотипировали CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>-лимфоциты, определяли внутриклеточное содержание Foxp3 в CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> клетках, Гранзима В – в CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> и CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> лимфоцитах на проточном лазерном цитофлюо-

риметре FC500. Кислородзависимую метаболическую активность нейтрофилов оценивали в НСТ-тесте. Математическую обработку полученных данных проводили на ПК Microsoft Windows XP professional, с использованием программы Statistica 6.0. Достоверность различий в группах оценивали с помощью непараметрических критериев Манна-Уитни, Вилкоксона. Достоверными считались результаты при  $p < 0,05$ . Представлены результаты исследований, проведенных после верификации диагноза, при отсутствии признаков обострения хронической инфекционной патологии и до назначения заместительной и иммунокорректирующей терапии.

**Результаты и обсуждение.** Проведенные нами исследования выявили компенсаторную активацию клеточных механизмов адаптивной иммунной защиты у пациентов с ОВИН и Х-АГГ. Это проявляется увеличением общего числа Т-клеток (ОВИН –  $83,00 \pm 1,27\%$ ; Х-АГГ –  $91,40 \pm 2,5\%$ ; в контроле  $65,4 \pm 2,2\%$ ), превалированием дифференцировки Т-лимфоцитов в сторону CD8<sup>+</sup>-субпопуляции ( $48,29 \pm 1,87\%$  – ОВИН;  $40,80 \pm 3,44\%$  – Х-АГГ, в контроле  $21,8 \pm 1,6\%$ ). Увеличение числа эффекторных цитолитических клеток сопровождается активацией их функциональных параметров, что документируется увеличением количества CD8-клеток, содержащих Гранзим В и обладающих потенциально высокими литическими свойствами (ОВИН –  $43,29 \pm 2,13\%$ ; Х-АГГ –  $32,60 \pm 3,84\%$  в контроле –  $9,38 \pm 2,21\%$ ), повышенной экспрессией позднего активационного маркера HLA-DR (ОВИН –  $5,9 \pm 2,3$ ; Х-АГГ –  $2,5 \pm 0,8$ , в контроле  $1,0 \pm 0,1$ ), увеличением спонтанной продукции интерферона- $\gamma$  (ОВИН –  $119,5$  пг/мл; Х-АГГ –  $20,26 \pm 5,05$  пг/мл, в контроле –  $6,2 \pm 3,3$ ). В то же время существенно снижено число циркулирующих регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Т-клеток – лимфоцитов, обеспечивающих супрессию иммунного ответа (ОВИН –  $0,5 \pm 0,2\%$ ; Х-АГГ –  $0,4 \pm 0,1\%$ ; в контроле –  $1,3 \pm 0,4\%$ ).

У пациентов с селективной недостаточностью выраженных изменений процессов пролиферации, дифференцировки, регуляции, активационных свойств отмечено не было. Изучение показателей врожденного иммунитета показали, что количество и функция клеточных факторов врожденного иммунитета при а- и гипогаммаглобулинемии, в отличие от соответствующих показателей кле-

ток адаптивной защиты, снижена (CD16<sup>+</sup>  $5,3 \pm 1,3\%$  при Х-АГГ;  $4,9 \pm 2,2\%$  при ОВИН;  $7,8 \pm 1,3\%$  при селективном дефиците; в контроле –  $12,1 \pm 1,2\%$ ). Соотношение CD16<sup>+</sup>Gr<sup>+</sup> к общему числу CD16<sup>+</sup>-клеток составляет  $44,0 \pm 8$  при Х-АГГ;  $64 \pm 4,2$  при ОВИН, в контроле –  $80 \pm 7$ . В нейтрофильном звене клеточной системы врожденного иммунитета отмечается снижение функциональных резервов фагоцитоза у пациентов как с ОВИН (К ст. НСТ  $1,5 \pm 0,1$ ), Х-АГГ (К ст. НСТ  $1,4 \pm 0,2$ ), так и с селективным дефицитом IgA (К ст. НСТ  $1,5 \pm 0,3$ ), К ст. НСТ в контроле –  $2,1 \pm 0,3$ . У пациентов с ОВИН регистрируется сохранность спонтанной метаболической активности (НСТ сп.  $92,00 \pm 11,90$ ), а у больных Х-АГГ и IgA селективным дефицитом она снижена (НСТ сп.  $77 \pm 6$  и  $71 \pm 5$  соответственно), в контроле  $100 \pm 5,91$ .

Следует отметить однонаправленность изменений клеточного звена адаптивной и врожденной защиты при различных генетических дефектах антителообразования, однако степень этих изменений более значима у пациентов с болезнью Брутона. Выявленные особенности функционирования Т-клеток, натуральных киллеров, нейтрофильных гранулоцитов являются побудительным мотивом для формулирования прогностических критериев течения заболевания и возможного выбора дополнительных средств иммунокоррекции с целью повышения эффективности терапии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кондратенко И. В. Первичные иммунодефициты. / И. В. Кондратенко // Медицинская Иммунология. – 2005. – Т. 7. – № 5–6. С. 466–476.
2. Первичные иммунодефициты: состояние проблемы на сегодняшний день. JMF-центры в России / Е. А. Латышева // Вопросы современной педиатрии. – 2013. – Т. 12, № 6. – С. 73–77.
3. Сизякина Л. П., Андреева И. И. Дискордантность параметров адаптивного и врожденного иммунного ответа при заместительной терапии у больных Х-сцепленной агаммаглобулинемией / ЛП. Сизякина, И. И. Андреева // Иммунология. – 2014. – Т. 35, № 2. – С. 89–91.
4. Сизякина Л. П., Андреева И. И., Антонова Е. А. Особенности цитокинового каскада у больных с врожденной недостаточностью гуморального звена иммунной системы / ЛП. Сизякина, И. И. Андреева, Е. А. Антонова // Российский аллергологический журнал. – 2015. – № 1. – С. 34–37.

## THE INVERSION OF THE FUNCTIONS OF THE CELLULAR IMMUNITY IN PATIENTS WITH PRIMARY IMMUNODEFICIENCY OF HUMORAL TYPE

Sizyakina L. P., Andreeva I. I., Goloshubova E. A.

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

We observed the activation of the processes of maturation of CD cells and elevated of their cytotoxic and activation functions of patients with XLA and CVID. We determined the reduction of the functional capacity of the cells of innate immunity.

## ИЗМЕНЕНИЕ ПРОДУКЦИИ И РЕЦЕПЦИИ ЦИТОКИНОВ ТН-1 И ТН-2 ПРОФИЛЯ В ДИНАМИКЕ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Сизякина Л. П., Андреева И. И., Соколова Ю. В.,  
Котиева Л. А.

ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Прогрессирование ВИЧ-инфекции сопровождается превалированием содержания ИЛ-4 в сыворотке крови и увеличением его спонтанной продукции *in vitro*. Переключение иммунного ответа на Th-2 приводит к формированию непротективного иммунного ответа на ВИЧ.

Несмотря на многочисленные работы, посвященные роли цитокинов в патогенезе ВИЧ-инфекции [1, 2], комплексному подходу к оценке цитокинового статуса в динамике ВИЧ-инфекции посвящено незначительное число исследований [3, 4].

**Целью** настоящего исследования явилось изучение содержания гамма-интерферона (ИФН- $\gamma$ ), интерлейкина-4 (ИЛ-4) в сыворотке крови и супернатантах спонтанных и стимулированных мононуклеаров периферической крови (МНПК), а также рецепции к ним в разные стадии ВИЧ-инфекции.

**Материалы и методы.** У находящихся под наблюдением пациентов (36 человек) стадия ГЛАП зарегистрирована у 6, пре-СПИД – у 22, СПИД – у 8 человек. В качестве контрольной группы обследовано 20 практически здоровых доноров крови. Анализ экспрессии на мононуклеарах периферической крови рецепторов к ИФН $\gamma$  (CD119) и ИЛ-4 (CD124) проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител производства Becton Coulter на цитометре Cytomics FC 500. Содержание цитокинов в сыворотке крови и супернатантах МНПК про-

водили методом ИФА на тест-системах ЗАО «Вектор-Бест».

У ВИЧ-инфицированных в стадии ГЛАП было выявлено повышение уровня цитокинов ИФН- $\gamma$  ( $89,3 \pm 44,1$  пг/мл) и ИЛ-4 ( $8,5 \pm 3,8$  пг/мл) в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой ( $18,3 \pm 12,7$  пг/мл и  $1,9 \pm 1,1$  пг/мл, соответственно). При оценке продукции этих цитокинов МНПК в культуре *in vitro* обнаружено существенное повышение спонтанной секреции ИФН- $\gamma$  и тенденция к повышению ИЛ-4, хотя и не достигающая достоверных отличий в сравнении с контрольной группой. Количество CD119<sup>+</sup> лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных в стадии ГЛАП не отличалось достоверно от контрольной донорской группы ( $14,9 \pm 3,7\%$  и  $16,1 \pm 3,5\%$ , соответственно). Также не было выявлено достоверных изменений в количестве CD124<sup>+</sup> лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных в стадии ГЛАП и доноров ( $9,3 \pm 4,5\%$  и  $7,9 \pm 2,5\%$ , соответственно). При сравнительном анализе экспрессии рецепторов к ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 на МНПК в культуре *in vitro* были обнаружены достоверные различия с контрольной группой. Так, количество CD119<sup>+</sup> лимфоцитов в культуре клеток со-

ставило  $18,8 \pm 8,5\%$  у ВИЧ-инфицированных в стадии ГЛАП, по сравнению с  $10,36 \pm 1,48\%$  в донорской группе, а  $CD124^+$  лимфоцитов –  $8,5 \pm 3,8\%$  и  $5,0 \pm 1,7\%$ , соответственно, что свидетельствует о достаточно высокой преактивированности этих клеток. Количество  $CD119^+$  и  $CD124^+$  лимфоцитов при культивировании с ФГА также имело тенденцию к повышению в сравнении с контрольной группой, хотя и не достигало достоверных отличий.

У ВИЧ-инфицированных в стадии пре-СПИД при развитии вторичных заболеваний с генерализацией процесса содержание ИФН- $\gamma$  в сыворотке крови было повышенным, оставаясь без изменений по сравнению со стадией ГЛАП ( $99,4 \pm 67,9$  пг/мл). Концентрация же ИЛ-4 продолжала нарастать ( $48,7 \pm 42,9$  пг/мл), достоверно отличаясь как от контрольной группы, так и от показателей, наблюдавшихся в стадии ГЛАП. Одновременно с этим отмечалось угнетение индуцированной продукции ИФН- $\gamma$  ( $1301,4 \pm 649,8$  пг/мл), сопровождавшееся некоторым ростом его спонтанной секреции ( $132,3 \pm 60,2$  пг/мл) в супернатантах, что приводило к дальнейшему снижению ИС ИФН- $\gamma$  ( $11,2 \pm 7,6$  у.е.). Вместе с тем наблюдалось повышение спонтанной продукции ИЛ-4 ( $48,3 \pm 13,7$  пг/мл), что имело достоверные отличия от показателей как контрольной группы, так и стадии ГЛАП. При этом не было отмечено достоверных отличий в индуцированной ФГА продукции ИЛ-4 по сравнению со стадией ГЛАП. Представляет интерес дальнейшее снижение в стадии пре-СПИД ИС ИЛ-4 до  $6,7 \pm 3,4$  у.е. Выявленные изменения свидетельствуют о постепенном снижении функциональных резервов, несмотря на достаточно высокие уровни концентрации цитокинов в сыворотке крови.

В стадии пре-СПИД также не было отмечено существенных отличий в рецепции к цитокинам ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 в сравнении с контрольной группой. При оценке экспрессии рецепторов к ИФН- $\gamma$  на МНПК *in vitro* обнаружилось снижение  $CD119^+$  лимфоцитов, как при активации ФГА ( $26,6 \pm 9,0\%$ ), так и без стимуляции ( $14,3 \pm 5,0\%$ ) в сравнении со стадией ГЛАП, однако эти изменения не достигали достоверных значений. Рецепция к ИЛ-4 на МНПК *in vitro* при стимуляции ФГА оставалась без изменений, но в то же время отмечалось увеличение числа  $CD124^+$  лимфоцитов при культивировании без активации ( $9,6 \pm 3,2\%$ ).

В стадии СПИД концентрации ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 в сыворотке крови продолжают нарастать ( $147,5 \pm 87,9$  и  $121,9 \pm 98,1$  пг/мл, соответственно), хотя и не достигают достоверных различий в сравнении со стадией пре-СПИД. В то же время наблюдается существенный рост спонтанной продукции этих цитокинов *in vitro* ( $196,7 \pm 102,5$  и  $126,7 \pm 59,2$  пг/мл, соответственно) на фоне значительного дальнейшего снижения их индуцированной продукции ( $618,3 \pm 298,8$  и  $194,0 \pm 87,9$  пг/мл), достигающей достоверных различий как в сравнении с контрольной группой, так и со стадиями ГЛАП и пре-СПИД. Наблюдаемый дисбаланс секреции ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 приводит к существенному уменьшению индексов стимуляции продукции этих цитокинов ( $3,5 \pm 1,3$  у.е. и  $1,57 \pm 0,23$  у.е., соответственно), что свидетельствует о критическом сокращении функциональных резервов цитокин-продуцирующих иммунокомпетентных клеток, обусловленном, с одной стороны, их значительной преактивированностью *in vivo*, а с другой – снижением потенциальных возможностей активации клеток.

Рецепция к ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 в стадии СПИД остается без существенных изменений. Число  $CD119^+$  лимфоцитов при спонтанном культивировании продолжает снижаться ( $13,2 \pm 5,5\%$ ), достигая достоверных отличий со стадией ГЛАП ( $18,8 \pm 8,5\%$ ), но в то же время превышая показатели контрольной группы ( $10,36 \pm 1,48\%$ ). Число  $CD124^+$  лимфоцитов при спонтанном культивировании также имеет тенденцию к снижению ( $8,6 \pm 3,7\%$ ), достоверно превышая показатели донорской группы ( $5,0 \pm 1,7\%$ ).

Полученные результаты свидетельствуют об иммуносупрессии с истощением функциональных резервов МНПК, усугубляющейся по мере прогрессирования заболевания и являющейся одним из патогенетических механизмов формирования генерализации вторичных заболеваний. В то же время, более выраженное повышение содержания ИЛ-4 в сыворотке крови и его спонтанной продукции *in vitro* с развитием заболевания свидетельствует о переключении иммунного ответа на Th2 тип и развитии непротективного иммунного ответа на ВИЧ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сенников С.В., Силков А.Н. Методы определения цитокинов // Цитокины и воспаление. – 2005. – № 1. – С.22-28.

2. Корнилова Г. В., Николаева И. А., Гудима Г. О. и др. Проблемы и перспективы создания анти-ВИЧ-микробицидов / Г. В. Корнилова, И. А. Николаева, Г. О. Гудима // Российский аллергологический журнал. – 2012. – № 5. – С. 123-132.
3. Смольникова М. В., Прокофьев В. Ф., Сизякина Л. П. с соавт. Аллельные варианты генов IL-4, IL-10 и TNF $\alpha$  при ВИЧ-инфекции// Цитокины и воспаление. – 2002. – Т 1. – № 1. – С.29-32
4. Котиева Л. А., Андреева И. И., Сизякина Л. П. Функциональная характеристика клеточных факторов врожденной иммунной защиты в динамике ВИЧ-инфекции / Л. А. Котиева, И. И. Андреева, Л. П. Сизякина // Медицинский вестник Юга России. – 2013. – № 3. – С 52-55

## THE DYNAMICS OF PRODUCTION AND RECEPTION OF CYTOKINES TH-1 AND TH-2 PROFILES IN THE COURSE OF HIV INFECTION

L. P. Sizyakina, I. I. Andreeva, J. V. Sokolova, L. A. Kotieva

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

The progress HIV infection is accompanied by a change in the basic production of immunoregulatory cytokines. Increased levels of IL-4 leads to the formation of inefficiency of the immune response to HIV.

## ИНФЕКЦИОННЫЙ МОНОНУКЛЕОЗ ЭПШТЕЙНА-БАРР ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ И МИКРОБИОТА РОТОГЛОТКИ: ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ, КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Симованьян Э. Н., Харсеева Г. Г., Ким М. А.

ГБОУ ВПО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Целью исследования явилось определение роли микробов-ассоциантов в формировании клинических и иммунологических особенностей инфекционного мононуклеоза Эпштейна-Барр вирусной этиологии. Обследованию подлежали 75 пациентов в возрасте от 3 до 15 лет. В ходе работы изучали качественно-количественные показатели микрофлоры слизистой оболочки ротоглотки, цитокиновый профиль крови, проводили клинико-иммунологические и микробиологические сопоставления. Показано, что наиболее выраженные клинико-иммунологические сдвиги отмечались при ассоциации вируса Эпштейна-Барр и *Streptococcus pyogenes*. Таким образом, выявлена важная роль микробов-ассоциантов в углублении иммуносупрессии с последующим формированием тяжелых и осложненных форм заболевания.

**Актуальность.** Инфекционный мононуклеоз Эпштейна-Барр вирусной этиологии (ИМ ЭБВЭ) является серьезной эпидемиологической и клинической проблемой, что обусловлено широкой циркуляцией возбудителя и частым развитием тяжелых, осложненных форм [1]. Тропизм к иммунокомпетентным клеткам, эпителию слизистой ротоглотки дает возможность ЭБВ оказывать не только общее, но и локальное повреждение, что приводит к снижению мукоциллиарной защиты [2]. Это, в свою очередь, создает условия для активации условно-патогенной микро-

флоры в очагах инфекции, в том числе, небных миндалинах, с формированием микстинфекций [3, 4]. Присоединение/активация бактериальной микрофлоры у больных ИМ ЭБВЭ приводит к сдвигам в цитокиновом звене иммунитета и соответствующим клиническим проявлениям [5]. При этом развитие патологического процесса во многом может зависеть от микроба-ассоцианта. В связи с этим целью работы явилось определение роли микробов-ассоциантов в формировании клинических и иммунологических особенностей ИМ ЭБВЭ.

**Материалы и методы.** Клинико-лабораторное обследование проведено у 75 детей в возрасте от 3 до 15 лет с диагнозом «инфекционный мононуклеоз ЭБВ-этиологии». Изучение качественно-количественных показателей микрофлоры слизистой оболочки ротоглотки проводили в соответствии с приказом Минздрава СССР от 22 апреля 1985 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Апоптогенную активность выделенных штаммов определяли по характерным морфологическим изменениям макрофагов в мазках, окрашенных по Май-Грюнвальду с докрасиванием по Романовскому-Гимзе *in vitro* (объектом исследования послужили перитонеальные макрофаги белых мышей). Исследование цитокинового профиля включало определение уровня ИЛ-1 $\beta$  и рецепторного антагониста (РА) ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови с помощью тест-наборов для иммуноферментного определения концентрации ИЛ-1 $\beta$  и РА ИЛ-1 $\beta$  производства ЗАО «Вектор-бест», г. Новосибирск, по методу, описанному в инструкции по применению (2009 г.).

**Результаты и обсуждение.** Выраженность и длительность симптомов заболевания зависели от характера и степени контаминации слизистой ротоглотки различными бактериальными агентами. Наиболее часто при бактериологическом исследовании микрофлоры ротоглотки у больных ИМ ЭБВЭ этиологии выявлялся обильный рост *Streptococcus pyogenes* (32%), *Streptococcus viridans* (29,3%) и *Staphylococcus aureus* (17,3%), реже *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* (5,3%; 2,7%; 1,3%; 1,3% соответственно). У 33,3% обследуемых детей в ассоциации с выделенными микроорганизмами обнаруживались грибы рода *Candida*. Апоптогенной активностью в отношении макрофагов белых мышей обладали все штаммы бактерий выделенных у больных ИМ ЭБВЭ этиологии. Однако сравнительный анализ полученных результатов показал, что наиболее высокой апоптогенной активностью обладал *S.pyogenes* (46,6 $\pm$ 7,1%) по сравнению с другими представителями микрофлоры (*S.aureus* – 21,2%; *S. epidermidis* – 18,7%; *P. aeruginosae* – 20,5%),  $p < 0,05$ .

Установлено, что у больных с обильным ростом *S.pyogenes* на слизистой оболочке ротоглотки чаще, чем у пациентов с обсеменением

другими микроорганизмами, регистрировались синдром пленчатой ангины (90% против 73%;  $p < 0,05$ ), гипертрофия 3 степени небных и глоточной миндалин (76,7% против 34,1%;  $p < 0,05$ ), явления аденоидита (82,1% против 60,7%;  $p < 0,05$ ), осложнения в виде гнойного отита, синусита, бронхита, лимфаденита (65% против 27%;  $p < 0,05$ ), тяжелые формы заболевания (69,6% против 15,4%;  $p < 0,05$ ). Регрессия таких проявлений заболевания как лихорадка, интоксикация, генерализованная лимфаденопатия, гепатоспленомегалия протекала дольше у детей с ИМ ЭБВЭ контаминированных пиогенным стрептококком (6,8 $\pm$ 0,41 дней против 8,4 $\pm$ 0,5; 5,1 $\pm$ 0,3 дней против 7,8 $\pm$ 0,6; 12,8 $\pm$ 0,8 дней против 14,5 $\pm$ 1,1; 13,8 $\pm$ 0,7 дней против 16,3 $\pm$ 1,1 соответственно).

Анализ полученных результатов выявил резкое угнетение продукции сывороточного ИЛ-1 $\beta$  у детей контаминированных *S.pyogenes* по сравнению с больными ИМ ЭБВЭ, где микробами-ассоциантами были *S.viridans*, *S.epidermidis*, *P.aeruginosae*, *Kl.pneumonia*, *E.coli* (5,4+3,0 против 31,3+11,5 пг/мл;  $p < 0,05$ ). Концентрация сывороточного РА ИЛ-1 $\beta$  в исследуемых группах (1035,4+161,6 против 1229+285,5 пг/мл соответственно) достоверно не отличалась.

**Выводы.** Наиболее частыми бактериальными агентами тонзиллита при ИМ ЭБВЭ выступают пиогенные и зеленящие стрептококки.

Выраженность клинических проявлений и частота осложнений у детей больных инфекционным мононуклеозом более высокие при ассоциации ЭБВ и пиогенных стрептококков.

В формировании клинических симптомов и форм тяжести заболевания в качестве фактора патогенности участвуют апоптогенная активность пиогенных стрептококков и уменьшение числа нормально функционирующих макрофагов.

Механизм апоптогенного эффекта бактериальной микрофлоры заключается в угнетении функциональной активности макрофагов за счет снижения продукции ИЛ-1 $\beta$ , способствующих углублению иммуносупрессии.

Проведенные клинико-иммунологические и микробиологические сопоставления выявили важную роль микробов-ассоциантов в течение заболевания и формировании тяжелых и осложненных форм, что диктует необходимость включения в комплекс терапии антибактериальных препаратов с иммуномодулирующим эффектом.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванова В. В., Шилова И. В., Симованьян Э. Н. и др. Новые данные об инфекционном мононуклеозе. Рос. вестн. перинатологии и педиатрии 2006, 6, 44-51
2. Slots J., Saygun I., Sabeti M., Kubar A. Epstein-Barr virus in oral diseases. Journal of periodontal research 2006, 41 (4), 235-244
3. Аистова Л. Г., Сильчук Н. В., Половица Н. В. Микст-герпетическая инфекция при ангинах у детей. Дальневосточный журнал инфекционной патологии 2012, 2, 60-62
4. Ferreira D. C., Ras I. N., Paiva S. S. M. et al. Viral-bacterial associations in acute apical abscesses. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology 2011, 112 (2), 264-271
5. Симованьян Э. Н., Харсеева Г. Г., Ким М. А., Егоренкова И. Л. Диагностическое значение цитокинового профиля крови при остром инфекционном мононуклеозе у детей, ассоциированном с вирусом Эпштейна-Барр. Цитокины и воспаление 2012, 11 (3), 9

**INFECTIOUS MONONUCLEOSIS OF EPSTEIN-BARR VIRUS  
AETIOLOGY AND FAUCES MICROBIOTA: ETIOPATHOGENETIC ASPECTS,  
CLINICO-IMMUNOLOGIC FEATURES****E. N. Simovanyan, G. G. Kharseyeva, M. A. Kim***Rostov state medical university Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia*

The research objective was a definition of the microbes-associants role in the clinical and immunologic features formation of infectious mononucleosis of Epstein-Barr virus aetiology. 75 patients aged from 3 to 15 years were undergone to the examination. During the work qualitatively-quantity indicators of fauces mucous membrane microflorae, cytokine blood profile were studied; clinico-immunologic and microbiological comparisons were carried out. The most expressed clinico-immunologic shifts were noted to be marked at the association of Epstein-Barr virus and Streptococcus pyogenes. Thus, the important role of microbes-associants was revealed in deepening of immunosuppression with the subsequent formation of the severe and complicated forms of the disease.

**ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭПШТЕЙНА-  
БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ****Симованьян Э. Н., Денисенко В. Б., Григорян А. В.***ГОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет»,  
Ростов-на-Дону, Россия*

Обследованы 48 пациентов в возрасте от 3 до 6 лет из группы часто болеющих детей с активной формой хронической Эпштейна-Барр вирусной инфекции. Методом случайной выборки больные были распределены на две сопоставимые группы. Стандартное лечение назначали 24 детям, сочетание стандартной терапии с инозином пранобекс (изопринозином) – 24 пациентам. До начала лечения у больных обеих групп выявлена полиорганная патология, включавшая респираторный синдром (100%), лимфопролиферативный синдром (100%), церебральный синдром (54,2%), гастроинтестинальный синдром (54,2%), кардиальный синдром (36,9%), артралгический синдром (27,1%). Отмечалось снижение содержания интерферона- $\gamma$  и интерлейкина-4 в крови. Через три месяца после начала лечения инозином пранобекс (изопринозином) наблюдалась более существенная положительная динамика респираторного, лимфопролиферативного, кардиального и артралгического синдромов по сравнению со стандартной терапией, быстрое исчезновение серологических маркеров репликации вируса Эпштейна-Барр, нормализация содержания интерферона- $\gamma$  и интерлейкина-4 в крови. При катамнестическом наблюдении в течение 12 месяцев установлено более значительное снижение заболеваемости и продолжительности острых респираторных инфекций, частоты осложнений в группе детей, получавших инозин пранобекс (изопринозин).

*Ключевые слова:* часто болеющие дети, хроническая Эпштейна-Барр вирусная инфекция, инозин пранобекс

Проблема часто болеющих детей (ЧБД) является одной из наиболее актуальных в современной педиатрии. Это определяется не только высокой долей ЧБД популяции детского населения нашей страны, но и неблагоприятными последствиями, к которым приводят повторные острые респираторные инфекции (ОРИ) для здоровья ребенка, его семьи и всего общества [1, 2]. Установлено, что у ЧБД нарушаются процессы роста, развития, созревания функциональных систем организма, происходит формирование хронической патологии ЛОР-органов, легких, почек, желудочно-кишечного тракта, ЦНС, аллергических заболеваний [3-5]. Помимо медицинских аспектов проблема ЧБД имеет и серьезные социально-экономические последствия. Достаточно часто возникает социальная дисадаптация больного, снижается школьная успеваемость, нарушается качество жизни ребенка и членов его семьи. Очень высок экономический ущерб для государства и общества в целом, связанный с прямыми и косвенными материальными затратами [3].

В настоящее время интенсивно изучается роль возбудителей оппортунистических инфекций, в том числе вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), в формировании группы ЧБД [6-8]. Установлено, что у детей с хронической Эпштейна-Барр вирусной инфекцией (ХЭБВИ) развивается вторичное иммунодефицитное состояние (ИДС), обусловленное прямым инфицированием иммунокомпетентных клеток (В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов, естественных киллерных клеток, нейтрофилов, макрофагов) и запуском вторичных иммунопатологических процессов [9, 10]. Возникающая иммуносупрессия является причиной присоединения повторных ОРИ, в результате чего пациенты переходят в группу ЧБД [6-8].

Значимость проблемы ХЭБВИ и индуцированного ВЭБ вторичного ИДС у пациентов из группы ЧБД диктует необходимость разработки новых подходов к лечению. Перспективным направлением повышения эффективности терапии представляется использование препаратов с комплексной противовирусной и иммуномодулирующей активностью, в частности, инозина пранобекс (изопринозина – ИП). За счет изменения стереохимической структуры рибосом ИП подавляет синтез вирусных белков и тормозит репликацию широкого спектра ДНК- и РНК-содержащих

вирусов [11]. Препарат обладает иммунокорригирующей активностью – модулирует иммунный ответ по клеточному типу, стимулирует продукцию антител, цитокинов, интерферона (ИФН), повышает функциональную активность макрофагов, нейтрофилов и естественный киллерных клеток [12-15].

**Цель работы** – совершенствование программы лечения хронической Эпштейна-Барр вирусной инфекции у часто болеющих детей с использованием инозина пранобекс (изопринозина).

**Материалы и методы исследования.** Обследованы 48 детей в возрасте от 3 до 6 лет. Критериями включения в исследование являлись соответствие пациентов критериям группы ЧБД и наличие клинико-лабораторных маркеров активной формы ХЭБВИ. От родителей пациентов было получено информированное согласие на проведение данного исследования. Протокол включал клиническое, серологическое обследование, изучение цитокинового статуса до начала лечения и через три месяца. Катамнестическое наблюдение осуществляли в течение 12 месяцев.

Методом случайной выборки дети были распределены на две группы, оказавшиеся сопоставимыми по клинико-лабораторным показателям на момент начала лечения. В комплексную терапию 24 больных был включен ИП в дозе 50 мг/кг/сут в 3-4 приема внутрь. Проводили три курса лечения по 10 дней с интервалом 10 дней. Пациенты контрольной группы (24 ребенка) получали общепринятое лечение.

Клиническое обследование включало изучение анамнеза, медицинской документации и клинический осмотр. Инфекционный индекс (ИИ) и индекс острой заболеваемости (ИОЗ) высчитывали по следующим формулам:

$$\text{ИИ} = \frac{\text{Количество эпизодов ОРИ в год}}{\text{Возраст ребенка (лет)}};$$

$$\text{ИОЗ} = \frac{\text{Количество эпизодов ОРИ}}{\text{Количество месяцев наблюдения}}.$$

Антитела классов IgM к VCA-, IgG к EA- и EBNA-антигенам ВЭБ определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА, тест-системы “Вектор-Бест”, Россия). Коэффициент позитивности (КП) IgG вычисляли по формуле:

$$\text{КП} = \frac{\text{ОП сыв.}}{\text{ОП контр.}}, \text{ где}$$

ОП сыв. – оптическая плотность лунки с сывороткой крови,

ОП контр. – оптическая плотность контрольной лунки.

Исследование цитокинового статуса включало определение содержания ИФН $\gamma$  и интерлейкина-4 (ИЛ-4) в крови методом ИФА (тест-системы “Вектор-Бест”, Россия). В качестве контроля обследованы 15 детей первой группы здоровья аналогичного возраста.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы “Open Office. Calc”. В связи с тем, что вариационные ряды абсолютных показателей соответствовали нормальному распределению по критерию Шапиро-Уилка, для представления результатов использовали показатели средней арифметической (M) и среднего квадратического отклонения (s). Достоверность различий показателей оценивали с помощью критерия Стьюдента для абсолютных величин и теста Мак-Немара для относительных величин. Достоверными считали различия показателей при  $P < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Изучение анамнестических данных выявило наличие отягощенного преморбидного фона у всех обследованных больных. У 50% матерей имел место отягощенный акушерский анамнез за счет гестоза (27,1%), угрозы прерывания беременности (35,4%), хронической внутриутробной гипоксии плода (25%), анемии (29,2%), инфекционных заболеваний во время беременности (45,8%), патологии периода родов (18,8%). У всех детей в постнатальном периоде выявлены фоновые состояния и перенесенные заболевания. У 10,4% пациентов диагностирована асфиксия в родах, у 20,8% – затянувшаяся желтуха в периоде новорожденности, у 58,3% – перинатальное поражение ЦНС. Аллергическими заболеваниями страдали 12,5% пациентов.

У всех детей имел место инфекционный синдром. Эпизоды ОРИ регистрировались с частотой  $10,9 \pm 3,5$  раз в год и продолжались в среднем  $12,3 \pm 3,1$  дней. Показатель ИИ составлял  $2,2 \pm 0,8$ , показатель ИОЗ –  $0,9 \pm 0,3$ . У 50% больных развились острый простой бронхит, острый обструктивный бронхит, у 20,8% – пневмония, у 33,3% – острые кишечные инфекции. У 41,7% детей в анамнезе выявлены указания на перенесенный острый инфекционный мононуклеоз, у 12,5% – на клинически манифестные формы инфекции простого герпеса, у 25% – на ветряную оспу. При первичном клиническом обследовании у 79,2% боль-

ных выявлен интоксикационный синдром. У всех детей имел место респираторный синдром в виде симптоматики острого ринофарингита (20,8%), фаринготонзиллита (79,2%), аденоидита (45,8%), острого простого бронхита, острого обструктивного бронхита (10,4%). Осложнения (отит, синусит, пиелонефрит, анемия, дисбактериоз кишечника) диагностированы у 35,4% пациентов.

Кроме того, при клиническом обследовании у всех детей обнаружена разнообразная полиорганная патология. Так, у 100% больных выявлен лимфопролиферативный синдром, включавших генерализованную лимфаденопатию (ГЛАП, 100%), гипертрофию небных миндалин (100%), глоточной миндалины (70,8%), гепатомегалию (66,7%), спленомегалию (45,8%). У 54,2% детей диагностирована патология ЦНС, в том числе гипертензионно-гидроцефальный (22,9%), судорожный (25%), вегето-висцеральный синдромы (39,6%), синдром дефицита внимания с гиперактивностью (30,2%). У 54,2% пациентов регистрировалось поражение органов пищеварения: аномалии развития (25%), хронический гастрит (50%), дискинезия желчевыводящих путей (22,9%). У 21,7% больных выявлен артралгический синдром, у 39,6% детей – симптоматика кардиального синдрома (боли в области сердца, сердцебиение, нарушение ритма).

Серологическое обследование до начала лечения показало, что у всех детей регистрировались маркеры активной формы ХЭБВИ – IgM к VCA – (100%) и IgG к EA – (93,8%), IgG к EBNA-антигенам ВЭБ (100%, КП  $7,5 \pm 1,4$  ед.). При исследовании цитокинового статуса обнаружено снижение содержания ИФН $\gamma$  ( $8,5 \pm 3,7$  пг/мл) и ИЛ-4 ( $1,3 \pm 0,7$  пг/мл) по сравнению с нормативными показателями ( $15,7 \pm 4,4$  пг/мл и  $5,8 \pm 2,4$  пг/мл, соответственно,  $P < 0,05$ ).

Сопоставление клинической картины с учетом схемы терапии показало, что на фоне лечения ИП имела место отчетливая положительная динамика симптоматики. Регистрировалось снижение частоты интоксикационного и респираторного синдромов. Отмечалось уменьшение выраженности проявлений лимфопролиферативного синдрома – ГЛАП, гипертрофии небных и глоточной миндалин 2-3 степени, гепатомегалии, спленомегалии. Кроме того, наблюдалось уменьшение частоты артралгического и кардиального синдромов. На фоне стандартной терапии положительная

динамика клинической симптоматики отсутствовала.

При анализе серологических показателей установлено, что в группе больных, получавших ИП, отмечалось уменьшение маркеров активности ВЭБ-антител класса IgM к VCA- и IgG к EA-антигенам вируса. Кроме того, происходило уменьшение показателя КП IgG к EBNA с  $7,8 \pm 1,3$  ед. до  $3,2 \pm 0,8$  ед. ( $P < 0,05$ ). На фоне стандартной терапии происходило снижение лишь частоты IgM к VCA-антигену ВЭБ, а показатель КП IgG к EBNA практически не изменялся ( $7,2 \pm 1,5$  ед. и  $6,8 \pm 1,3$  ед.;  $P > 0,05$ ).

Повторное исследование цитокинового статуса показало, что в группе детей, получавших ИП, происходило восстановление до уровня возрастной нормы содержания ИФН $\gamma$  и ИЛ-4 в крови. При стандартной терапии показатели цитокинового статуса не претерпевали существенной динамики.

Катамнестическое наблюдение в течение 12 месяцев показало, что у детей, получавших лечение ИП, частота эпизодов ОРИ снижалась с  $10,5 \pm 3,6$  раз в год до  $3,2 \pm 1,2$  раз в год ( $P < 0,05$ ), что приводило к уменьшению показателей ИИ (с  $2,3 \pm 0,9$  до  $1,1 \pm 0,3$ ;  $P < 0,05$ ) и ИОЗ (с  $1 \pm 0,3$  до  $0,3 \pm 0,1$ ;  $P < 0,05$ ). Продолжительность эпизодов ОРИ снижалась с  $12,3 \pm 3,1$  дней до  $5,6 \pm 1,2$  дней;  $P < 0,05$ ). Кроме того, отмечалось уменьшение частоты осложнений с 33,3% до 4,2% ( $P < 0,05$ ).

У детей, получавших стандартную терапию, динамика клинических показателей в катамнезе была менее существенной. Частота эпизодов ОРИ снижалась с  $11,7 \pm 2,7$  до  $5,6 \pm 3,3$  раз в год ( $P < 0,05$ ). Наблюдалось уменьшение показателей ИИ с  $2,2 \pm 0,8$  до  $1,4 \pm 0,6$  ( $P < 0,05$ ) и ИОЗ с  $0,8 \pm 0,2$  до  $0,5 \pm 0,2$  ( $P < 0,05$ ). Продолжительность эпизодов ОРИ уменьшалась с  $12,4 \pm 3,2$  до  $8,8 \pm 3,3$  дней ( $P < 0,05$ ). Частота осложнений имела лишь тенденцию к снижению (с 37,5% до 25%;  $P > 0,05$ ).

Побочные эффекты при назначении ИП отсутствовали.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о высокой частоте групп риска у детей с ХЭБВИ. Можно полагать, что неблагоприятные фоновые состояния способствуют формированию вторичного ИДС, что приводит к длительной активной репликации ВЭБ и углублению иммунологических нарушений [6, 8]. Так, у обследованных детей выявлено снижение содержания ИФН $\gamma$  и ИЛ-4

в крови, свидетельствующее о дисбалансе функциональной активности Т-хелперов 1-го и 2-го типов [9]. В результате ребенок переходит в группу ЧБД – развивается инфекционный синдром, который манифестируется частыми ОРИ и другой инфекционной патологией. Кроме того, у ЧБД с ХЭБВИ возникает полиорганная патология, включающая лимфопролиферативный синдром (ГЛАП, гипертрофию небных и глоточной миндалин, гепатоспленомегалию), симптоматику поражения ЦНС, органов пищеварения, сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата.

При назначении ЧБД с активной формой ХЭБВИ препарата ИП происходит подавление репликации ВЭБ, что документировано быстрым исчезновением серологических маркеров активности вируса. Кроме того, благодаря широкому спектру противовирусного действия ИП подавляет размножение вирусов, являющихся этиологическими агентами ОРИ [14, 15]. Не менее важной является иммуномодулирующая активность препарата, подтвержденная нормализацией содержания ИФН $\gamma$  и ИЛ-4 в крови. В результате отмечается более существенная, чем на фоне стандартной терапии, положительная динамика клинических показателей. Назначение ИП способствует снижению частоты и продолжительности эпизодов ОРИ, осложнений, уменьшению выраженности полиорганной патологии. Препарат обладает хорошей переносимостью.

#### Выводы.

1. У ЧБД с активной формой ХЭБВИ возникают нарушения иммунного статуса, что приводит к развитию инфекционного синдрома и полиорганной патологии, включающей лимфопролиферативный, церебральный, артралгический и кардиальный синдромы.

2. Комплексная противовирусная и иммуномодулирующая активность ИП способствует уменьшению выраженности инфекционного, лимфопролиферативного артралгического и кардиального синдромов.

3. Высокая эффективность и безопасность ИП позволяют рекомендовать включение этого препарата в протокол лечения ЧБД с ХЭБВИ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альбицкий В. Ю., Баранов А. А., Камаев И. А., Огнева М. Л. Часто болеющие дети. – Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 2003. – 180 с.

2. Намазова Л. С., Ботвиньева В. В., Торшхоева Р. М. и др. Лечение и профилактика острых респираторных инфекций у часто болеющих детей, проживающих в мегаполисах // *Детские инфекции*. – 2007. – № 2. – С. 49-52.
3. Самсыгина Г. А., Коваль Г. С. Часто болеющие дети: проблемы диагностики, патогенеза и терапии // *Лечащий врач*. – 2009. – № 1. – С. 10-15.
4. Нестерова И. В. Проблемы лечения вирусно-бактериальных респираторных инфекций у “часто и длительно болеющих” иммунокомпромитированных детей // *Лечащий врач*. – 2009. – № 6. – С. 26-29.
5. Учайкин В. Ф. Рецидивирующие респираторные инфекции у детей: применение иммуномодуляторов для лечения и профилактики // *Педиатрия*. – 2009. – № 1. – С. 127-132.
6. Иванова В. В., Шилова И. В., Симованьян Э. Н. и др. Новые данные об инфекционном мононуклеозе у детей // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2006. – № 6. – С. 44-51.
7. Бабаченко И. В., Левина А. С., Седенко О. В. и др. Эффективность различных методов этиологической диагностики у часто болеющих детей с хронической Эпштейна-Барр и цитомегаловирусной инфекциями // *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. – 2009. – № 2. – С. 13-15.
8. Сарычев А. М. Особенности клинических проявлений и иммунопатогенеза хронической Эпштейна-Барр вирусной инфекции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Ростов-на-Дону, 2004. – 26 с.
9. Боковой А. Г. Герпесвирусные инфекции у детей. – М.: Макс-Пресс, 2008. – 144 с.
10. Краснова Е. И., Васюнин А. В. Инфекционный мононуклеоз у детей: Руководство. – Новосибирск, 2007. – 95 с.
11. Исаков В. А., Архипова Е. И., Исаков Д. В. Герпесвирусные инфекции человека. – СПб.: Спецлит, 2006. – 303 с.
12. Бадальянц Э. Е. Клинико-иммунологическая характеристика респираторных инфекций у часто болеющих детей и эффективность иммунокорригирующей терапии // Автореф. дисс. ... канд. наук. – Ростов-на-Дону, 2009. – 24 с.
13. Булгакова В. А., Балаболкин И. И., Ханова Н. И. и др. Применение изопринозина (инозин пранобекс) для профилактики и лечения респираторных инфекций у детей. – М., 2010. – 19 с.
14. Осидак Л. В., Зарубаев В. В., Образцова Е. В. и др. Изопринозин в терапии ОРВИ у часто болеющих детей // *Детские инфекции*. – 2008. – № 4. – С. 35-41.
15. Эрман Е. С. Оценка клинико-эпидемической эффективности новых средств для профилактики гриппа и ОРИ другой этиологии у часто болеющих детей // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – 24 с.

## OPTIMIZATION OF CHRONIC EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION TREATMENT IN FREQUENTLY ILL CHILDREN

E.N. Simovanyan, V.B. Denisenko, A.V. Grigoryan

The study included 48 children aged 3 to 6 years with active form of chronic Epstein-Barr virus infection. The patients were randomized and divided into two matched groups. Standard treatment was administered to 24 children, the combination of standard therapy with inosine pranobex (izoprinozin) to another 24 patients. Before the start of treatment in both groups multiple organ pathologies were seen including: respiratory syndrome (100%), lymphoproliferative syndrome (100%), cerebral syndrome (54.2%), gastrointestinal syndrome (54.2%), cardiac syndrome (36,9%), artralgy syndrome (27.1%) and reduced levels of interferon- $\gamma$  and IL-4 in the blood. Three months after the beginning of izoprinozin a significant positive dynamics of respiratory, lymphoproliferative, cardiac and artralgy syndromes, the rapid disappearance of serological markers of Epstein-Barr virus replication, normalization of interferon- $\gamma$  and IL-4 levels were observed compared with standard therapy group. At 12 months follow-up a significant reduction in the incidence and duration of the acute respiratory infections, incidence of complications in the group of children treated with inosine pranobex (izoprinozin) were found.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕАБИЛИТАЦИИ ОНКОПАТОЛОГИИ КРАНИОФАЦИАЛЬНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Слетов А. А., Михальченко Д. В., Жидовинов А. В.,  
Матвеев С. В., Панченко Д. В.

*ГБОУ ВПО «Волгоградский Государственный медицинский университет»,  
Волгоград, Россия*

Реабилитация (фр. rehabilitation от лат. re вновь + habilis удобный, приспособленный) в медицине – комплекс медицинских, психологических, педагогических, профессиональных и юридических мер по восстановлению автономности, трудоспособности и здоровья лиц с ограниченными физическими и психическими. Говоря, о реабилитации на современном этапе развития медицинской науки, необходимо иметь в виду, что основным вопросом является повышение уровня качества жизни больных. Мониторинг критериев качества жизни в период диспансерного наблюдения имеет принципиальное значение, наибольший интерес из которых представляют показатели иммунного статуса. Актуальным направлением является изучение мониторинг иммунного статуса у пациентов с выраженным иммунодефицитом и хронической иммунодепрессией. Актуальность данного направления обоснована необходимостью поиска универсального критерия оценки, как физиологических показателей, так и состояния основных функций человека: физической, психологической, социальной и духовной. Наиболее перспективным направлением является междисциплинарный подход направленный на коррекцию конкретного этапа лечебного процесса и реабилитацию пациента в целом, с целью повышения уровня качества жизни.

*Ключевые слова:* реабилитация, иммунологический статус, онкопатология

В настоящее время вопросы онкопатологии вышли за пределы строго медицинской проблемы, приобретя масштабы интеллектуального вызова человечеству.

Начиная с 50-х годов в развитых странах мира наметилась отчетливая тенденция к повышению заболеваемости злокачественными новообразованиями [1, 2, 3]. Процесс этот имеет устойчивый характер. Он не сводим ни к постарению популяции, ни к улучшению диагностики рака [4].

Реабилитация (фр. rehabilitation от лат. re вновь + habilis удобный, приспособленный) в медицине – комплекс медицинских, психологических, педагогических, профессиональных и юридических мер по восстановлению автономности, трудоспособности и здоровья лиц с ограниченными физическими и психическими. Реабилитация – это система лечебно-педагогических мероприятий, направленных на предупреждение и лечение патологических состояний, которые могут привести к временной или стойкой утрате трудоспособности.

Необходимо понимать, что о реабилитации следует говорить тогда, когда пациент уже имел опыт общественной жизни и деятельности. Реабилитация предусматривает комплексную лечебно-педагогическую коррекцию двигательной, психической и речевой сферы пациентов. Говоря, о реабилитации, как о комплексном подходе, мы имеем ввиду повышение качества жизни больных и их возврату к привычной жизни в новом качестве.

Исследования качества жизни в медицине в последние годы приобретают все большую актуальность. Развитие данного направления вызвано тем, что медициной длительное время осуществлялся активный поиск универсального критерия для оценки состояния основных функций человека: физической, психологической, социальной и духовной. Качество жизни – восприятие индивидуумом положения в жизни в контексте культуры и систем ценностей, в которых он живет, в соответствии с его собственными целями, ожиданиями, стандартами и заботами (ВОЗ, 1999). Эксперты Меж-

национального центра исследования качества жизни определяют это понятие, как интегральную характеристику физического, психологического, эмоционального и социального функционирования больного, основанную на его субъективном восприятии.

Для пациента возможность вернуться к привычной жизни в социальном аспекте является наиболее важной, в этой связи изучение качества жизни представляется весьма важным с позиции психосоматического благополучия человека.

Нерешенность вопросов патогенеза и механизмов канцерогенеза, отсутствие достоверных диагностических тестов, эффективных методов лечения поздних стадий онкологических процессов привели к несоответствию возрастающего арсенала методов и средств лечения и их эффективности. Большинство научных исследований посвящены поиску хирургических способов решения проблемы, в то время, как клиничко-организационные вопросы ортопедической реабилитацией пациентов изучены не достаточно, что связано с отсутствием преемственности в работе челюстно-лицевых хирургов, онкологов, стоматологов ортопедов. В связи с чем проведение реабилитационных мероприятий, в большинстве случаев не имеющих единых принципов, проводящихся без учёта современных достижений ортопедической стоматологии, реконструктивной краниофациальной хирургии, иммунологии, биоматериаловедения, не имеют возможности быть реализованными. С учётом необходимости более широкого развития стоматологических способов реабилитации онко-стоматологических больных, ряд исследований направлены на конструирование иммуноинертных челюстно-лицевых протезов.

Коллективом авторов разработаны методы реабилитации больных с дефектами верхней и нижней челюсти: немедленное протезирование в ранний послеоперационный период разобщающей хирургической пластинкой, с последующей заменой на формирующий зубочелюстной протез-обтуратор (патент РФ на изобретение № 2426517), которые в настоящее время проходят апробацию у пациентов с онкологической патологией челюстно-лицевой области. Кроме того у пациентов с хроническим иммунным дефицитом на фоне проводимого курса химиотерапии, для завершающего этапа лечения предложен стоматологический под-

кладочный (эластичный) материал (патенты РФ на изобретения № 2198648) и разработаны протезы-обтураторы из полиуретана (патент РФ на изобретение № 2402993), полая конструкция обтуратора (патент РФ на изобретение № 2404723) и эластичная полая конструкция обтуратора, позволяющие повысить эффективность проводимых реабилитационных мероприятий, снизив риск развития явлений локального воспалительного процесса.

#### **Заключение.**

Исходя из существующих современных методов лечения и обзореваемой литературы установлено, что реабилитация онко-стоматологических больных невозможна без учёта иммунного статуса и комплексного подхода смежных специалистов направленного на лечение и профилактику временной или стойкой нетрудоспособности.

Очевидно, что данное направление реабилитации невозможно без междисциплинарного подхода, взаимоосведомленностью специалистов и реализации современных возможностей стоматологического биоматериаловедения и исследования иммунологического состояния полости рта после проведенного лечения.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Слетов А. А. Экспериментальное определение регенераторного потенциала клеток костного мозга/Слетов А. А., Переверзев Р. В., Ибрагимов И. М., Кодзоков Б. А., Сирак С. В. // Стоматология для всех. – 2012. – № 2. – С. 29-31.
2. Слетов А. А., Елисеев В. В., Панченко Д. В., Можейко Р. А., Давыдов А. Б., Слетова А. Р. Хирургическое лечение опухолей краниовертебральной локализации // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3.
3. Сирак С. В. Влияние пористого титана на остеогенный потенциал клеток костного мозга *in vitro* /Сирак С. В., Слетов А. А., Ибрагимов И. М., Кодзоков Б. А. // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2012. – Т. 27. – № 3. – С. 22-25.
4. Mikhalchenko D. V. Influence of transcranial electrostimulation on the osseointegration of dental implant in the experiment/Mikhalchenko D. V., Poroshin A. V., Mikhalchenko V. F., Firsova I. V., Sirak S. V. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2014. – Т. 5. – № 5. – С. 705-711.
5. Sirak S. V. Clinical and morphological substantiation of treatment of odontogenic cysts of the maxilla/Sirak S. V., Arutyunov A. V., Shchetinin E. V., Sirak A. G., Akkalaev A. B., Mikhalchenko D. V. // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2014. – Т. 5. – № 5. С. – 682-690.

## IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF THE REHABILITATION IN CRANIOFACIAL CANCER PATHOLOGY

Sletov A.A., Mihalchenko D.V., Zhidovinov A.V.,  
Matveev S.V., Panchenko D.V.

Rehabilitation (fr. Rehabilitation from Lat. Re re + habilis convenient adapted) in medicine – a set of medical, psychological, educational, professional and legal measures to restore autonomy, disability and health of persons with physical and mental. Talking about the rehabilitation at the present stage of development of medical science, it is necessary to bear in mind that the main issue is to improve the quality of life of patients. Monitoring of quality of life measures in the period of follow-up is essential, the most interesting of which are indicators of immune status. Actual direction is the study of monitoring the immune status of patients with severe immune deficiency and chronic immunosuppression. The relevance of this line proved the need to find a universal evaluation criteria as physiological parameters, and the state of the basic functions of the person: physical, psychological, social and spiritual. The most promising direction is a multidisciplinary approach aimed at correcting a particular stage of the treatment process and rehabilitation of the patient as a whole, in order to improve the quality of life.

*Key words:* rehabilitation, immunological status, oncopathology

---

---

## ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ И HUMAN DISCOIDIN DOMAIN RECEPTORS 1 ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ У ДЕТЕЙ

Слободян Е. И., Каладзе Н. Н., Говдалюк А. Л.,  
Боднарюк И. В.

*Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Россия*

Целью исследования явилось определение цитокинового профиля и уровня DDR1 сыворотки крови при различных клинических формах ХП. Обследовано 110 детей в возрасте от 6 до 16 лет, страдающих ХП. Определяли уровни DDR1, TGF- $\beta$ 1, EGF, IGF-1 сыворотки крови. В результате, даже при отсутствии клинико-лабораторных проявлений активности заболевания, имеются значимые изменения цитокинового профиля и рецепторов коллагена сыворотки крови. Они наиболее выражены при обструктивном ХП, особенно на фоне пузырно-мочеточникового рефлюкса.

В настоящее время хронический пиелонефрит (ХП) занимает ведущее место в структуре нефрологической патологии. В ответ на механическое и инфекционное повреждение клетки тубулоинтерстиция вырабатывают комплекс про- и противовоспалительных цитокинов, ответственных за экспансию экстрацеллюлярного матрикса и исход воспалительного процесса [1, 2].

За ремоделирование внеклеточного матрикса также ответственны discoidin domain

receptors (DDR), которые при взаимодействии с ним проявляют себя как рецепторы коллагена. DDR1 находятся преимущественно в эпителиальных клетках почек, где представлены главным образом две из пяти главных изоформ – DDR1b и DDR1a. Активацию DDR1 индуцирует ангиотензин II, но возможна и локальная его активация, когда дополнительный стимул не обязателен, а связь между воспалением, коллагеном, фиброзом и DDR1 становится самоподдерживающимся процессом [3, 4, 5].

**Целью исследования** явилось определение цитокинового профиля и уровня DDR1 сыворотки крови при различных клинических формах ХП.

**Пациенты и методы исследования.** В проспективном исследовании участвовало 110 детей в возрасте от 6 до 16 лет, страдающих ХП. Обструктивным пиелонефритом страдало 93 (84,55%), необструктивным – 17 (15,45%) обследованных. 19 (20,43%) пациентов в анамнезе имели пузырно-мочеточниковый рефлюкс (ПМР). Группу контроля составили 20 условно здоровых детей аналогичного возраста.

Комплекс лабораторных исследований включал определение в сыворотке крови трансформирующего фактора роста (TGF- $\beta$ 1), инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) с помощью стандартных наборов «DRG int., Inc», USA. Эпидермального фактора роста (EGF) посредством стандартного набора eBioscience (Bender MedSystems GmbH, Austria). Human Discoidin Domain Receptors (DDR1) с помощью стандартного набора (TSZ Eliza, USA). Исследования проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа. В исследовании использовали полуавтоматический анализатор Stat Fax 2100 производства USA.

Статистический анализ результатов проведен с использованием стандартного пакета прикладных программ «Statistica v. 6.0» (StatSoft Inc., USA).

**Результаты и обсуждение.** При рассмотрении исследуемых факторов, нами были выявлены значимые различия уровней их показателей в зависимости от клинической формы заболевания. Так, уровень основного профиброгенного цитокина TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови, усиливающего синтез и угнетающего разрушение почечного соединительнотканного матрикса, у пациентов с необструктивной формой ХП составил  $382,07 \pm 26,79$  пг/мл, что не имело статистических отличий от значения, условно принятого за норму –  $369,12 \pm 26,76$  пг/мл. У больных обструктивным ХП уровень TGF- $\beta$ 1 значительно выше нормального значения, однако без достижения уровня значимости при сравнении с контрольной группой ( $p=0,08$ ) –  $423,99 \pm 12,83$  пг/мл. Выявлена обратная корреляционная связь TGF- $\beta$ 1 с IGF-1, играющим немаловажную роль в различных формах компенсационного почечного роста ( $r = -0,26$ ;  $p < 0,05$ ). Это позволяет предположить противовоспалительный, антиапоп-

тоидный и репаративный потенциал IGF-1 у больных ХП, наиболее выраженный у пациентов с необструктивной формой –  $311,07 \pm 20,49$  нг/мл,  $p < 0,001$  по сравнению со значением здоровых детей, составившем  $212,17 \pm 13,31$  нг/мл, что можно рассматривать в качестве активации репаративных механизмов при необструктивном ХП и, возможно, обратимости патологических изменений, происходящих в тубулоинтерстиции. У детей с обструктивной формой ХП значение IGF-1 составило  $209,41 \pm 10,52$  нг/мл и отличий от показателя условной нормы не имело, однако имело достоверную разницу с уровнем IGF-1 при необструктивном ХП,  $p < 0,001$ .

Положительная корреляционная связь ( $r = 0,37$ ;  $p < 0,01$ ) IGF-1 с EGF сыворотки крови свидетельствует об однонаправленных изменениях рассматриваемых показателей, однако в случае с EGF – без значимых отличий от условной нормы, составившей  $162,92 \pm 11,86$  пг/мл, как при обструктивном, так и при необструктивном ХП.

Уровень DDR1 сыворотки крови был достоверно повышен в случае обструктивного ХП и составил  $96,33 \pm 7,28$  пг/мл,  $p < 0,01$  по отношению к значению контрольной группы, составившего  $74,60 \pm 3,83$  пг/мл. Имел сильную корреляционную связь со значением TGF- $\beta$ 1 ( $r = 0,56$ ;  $p < 0,001$ , что подтверждает участие DDR1 в поддержании хронического воспалительного процесса в качестве провоспалительного и профиброгенного медиатора.

В структуре обструктивного ХП 19 (20,43%) детей имели в анамнезе ПМР. Несмотря на то, что всем детям до настоящего обследования была проведена его коррекция, изучаемые показатели данной категории пациентов имели наиболее выраженные патологические изменения. Были получены значимо высокие значения провоспалительных, профиброгенных показателей. Так, уровень TGF- $\beta$ 1 составил  $509,48 \pm 19,81$  пг/мл,  $p < 0,01$  по отношению к контрольной группе и  $p < 0,001$  по отношению к значению при ХП на фоне других обструктивных уропатий. DDR1 –  $112,12 \pm 8,99$  пг/мл,  $p < 0,0001$  и  $p < 0,001$ , соответственно. Реакция же со стороны цитокинов, ответственных за активацию репаративных механизмов, обладающих противовоспалительным и антиапоптоидным потенциалом, отсутствовала: значение EGF без отличий от показателя условной нормы –  $176,53 \pm 22,96$  пг/мл. Более того, уровень

IGF-1 составил  $164,78 \pm 21,35$  нг/мл и был значительно снижен, как по отношению к показателю контрольной группы,  $p < 0,05$ , так и по отношению к значению IGF-1 пациентов с обструктивным ХП без ПМР,  $p < 0,05$ . Полученные данные свидетельствуют о прогрессировании заболевания, несмотря на ликвидацию ПМР, с возможным развитием в дальнейшем у данной категории пациентов рефлюкс-нефропатии.

**Выводы.** Несмотря на предварительно верифицированную клинико-лабораторную ремиссию ХП, проведенное исследование позволило выявить значительные сдвиги уровней цитокинов и рецепторов коллагена сыворотки крови. Наибольшие изменения, свидетельствующие об активности процессов воспаления, пролиферации и фиброгенеза, с одной стороны и снижении репаративных механизмов с другой, выявлены у пациентов, страдающих обструктивным ХП, особенно на фоне ПМР в анамнезе. Полученные данные позволяют рекомендовать определение уровней TGF- $\beta$ 1, IGF-1, EGF и рецепторов коллагена DDR1 сыворотки крови с целью мониторинго-

вания глубины клинико-лабораторной ремиссии и определения дальнейшей терапевтической тактики.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дранник Г.Н., Дриянская В.Е., Гайсенюк Ф.З. и др. Факторы межклеточной кооперации в иммуногенезе пиелонефрита. Иммунология, Аллергология, Инфектология 2013; 1: 13-19.
2. Морозов Д.А., Моррисон В.В., Морозова О.Л. и др. Патогенетические основы и современные возможности ранней диагностики нефросклероза у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом. Саратовский научно-медицинский журнал 2011; 7 (1): 151-157.
3. Meyer zum Gottesberge A.M., Gross O., Becker-Lendzian U. Inner ear defects and hearing loss in mice lacking the collagen receptor DDR1. Laboratory investigation. Journal of technical methods and pathology 2008; 88 (1): 27-37.
4. Yi-Chun Yeh, Chia-Ching Wu, Yang-Kao Wang et al. DDR1 triggers epithelial cell differentiation by promoting cell adhesion through stabilization of E-cadherin. Mol Biol Cell. 2011; 22 (7): 940-953.
5. Chatziantoniou C., Dussaule J-C. Is Kidney injury a reversible process? Current Opinion in Nephrology and Hypertension 2008; 17: 76-81.

### CYTOKINE PROFILE AND HUMAN DISCOIDIN DOMAIN RECEPTORS 1 IN CHILDREN WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS

E.I. Slobodian, N.N. Kaladze, A.L. Govdalyuk,  
I.V. Bodnaryuk

*Medical Academy named after S.I. Georgievskogo FSAAE HE «V.I. Vernadsky  
Crimean Federal University», Simferopol, Russia*

The aim of the study was to investigate the level of DDR1 serum in different clinical forms of chronic pyelonephritis (CP) and its connection with the pro- and anti-inflammatory cytokines. The study involved 110 children with CP aged 6 to 16 years. The levels of DDR1, TGF- $\beta$ 1, EGF, IGF-1 were determined in serum. As a result, even in the absence of clinical and laboratory findings of disease activity, there are significant changes in cytokine profile and collagen receptors serum. They are most pronounced in obstructive CP, especially against the background of vesicoureteral reflux.

## ЭФФЕКТ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТРИТЕРПЕНОИДА МИЛИАЦИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Смолягин А. И.<sup>1</sup>, Фролов Б. А.<sup>1</sup>, Филиппова Ю. В.<sup>1</sup>,  
Чайникова И. Н.<sup>2</sup>, Панфилова Т. В.<sup>1</sup>, Железнова А. Д.<sup>1</sup>,  
Сарычева Ю. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Минздрава РФ;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» УрО РАН,  
Оренбург, Россия

Проведен анализ влияния милиацина при экспериментальной сальмонеллезной инфекции у мышей. В основе защитного действия милиацина лежит: снижение выраженности эндотоксинемии, активация Th-1-зависимого иммунного ответа, стимуляция продукции ИЛ-10, ограничение синтеза ИЛ-17 и его мембранопротекторная активность.

В настоящее время оправданным и достаточно эффективным оказалось использование тритерпеноидов, обладающих широким спектром биологического действия в качестве иммунокорректоров. К числу тритерпеноидов относится милиацин, для которого показана способность к повышению гуморального и клеточного иммунного ответа, а также к иммунопротекции в условиях стрессорного воздействия и применения препаратов с иммунодепрессивным эффектом [1, 2, 3].

В настоящей работе обобщены данные по влиянию милиацина на иммунологические и микробиологические показатели мышей при экспериментальной сальмонеллезной инфекции. Эксперименты выполнены на мышам-самцах (СВАхС<sub>57</sub>В1<sub>6</sub>)F<sub>1</sub> на модели внутрибрюшинного заражения животных штаммом *Salmonella enteritidis* в дозе 2x10<sup>6</sup> бактерий на мышь. Милиацин вводили трехкратно в/бр. с интервалами в 3 дня между введениями в разовой дозе 2 мг/кг. Заражение животных проводили через 24 часа после последнего введения тритерпеноида. Всего использовано 4 группы животных: I – интактные; II – зараженные; III – зараженные после предварительного трехкратного введения растворителя для милиацина: твин 21 (1,6x10<sup>-7</sup> моль/кг); IV – зараженные после предварительного введения милиацина.

Оценку влияния милиацина осуществляли по летальности животных, микробной обсе-

менности органов, массе и количеству кариоцитов в тимусе и селезенке, содержанию миелокариоцитов в бедренной кости. У мышей также проводилась оценка способности спленоцитов к спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов с определением их содержания в супернатантах двухсуточных культур клеток методом ИФА («Bender MedSystems»). Эндотоксин в плазме крови мышей определяли хромогенным LAL-тестом («Nycult biotech»). Показателем мобилизации нейроэндокринной регуляции на эндотоксин являлся уровень в крови кортикостерона («Immunodiagnostic Systems»). Влияние милиацина на рост сальмонелл и определение минимальной подавляющей концентрации было проведено методом серийных микроразведений. В результате проведенных исследований установлено, что милиацин в серийных концентрациях от 0,098 до 200,0 мкг/мл не вызывал подавление роста *S. enteritidis*. Это касается и концентрации милиацина 50 мкг/мл, которая создается в организме экспериментальных животных при используемой модели заражения. Заражение животных вызывало развитие инфекции, сопровождающейся гибелью 37,5% мышей, предварительное введение растворителя не оказало существенного влияния на летальность, а введение милиацина снижало гибель мышей до 25,0%. На всех сроках после заражения показатель микробной обсемененности для селезенки у мышей опытной группы

(IV) был достоверно ниже по сравнению с таковым, у только зараженных животных (II).

Инфекция приводила к существенному падению содержания миелокариоцитов в костном мозге уже на 5 сутки после заражения. Аналогичная направленность изменений отмечена также у животных III и IV групп. Однако если у мышей III группы интенсивность этого падения соответствовала II группе, то у мышей IV группы она была значительно менее выражена. Наряду с опустошением красного костного мозга сальмонеллезная инфекция приводила к гипоплазии тимуса во всех исследуемых группах мышей. Выраженность этой гипоплазии, оцениваемой по массе органа, среди животных различных групп существенно не отличалась, хотя в IV группе на всех сроках инфекции она была несколько менее выражена. Аналогичная зависимость отмечалась и при определении содержания тимоцитов. У зараженных мышей II и III групп отмечался прирост массы селезенки, тогда как у животных IV группы прирост массы органа в указанные сроки был менее выражен. Сходная динамика обнаруживалась и для показателя содержания спленоцитов. Определение титров антител показало, что применение милиацина не только не способствовало увеличению их содержания в сыворотке крови зараженных животных, но сопровождалось даже их некоторым снижением. У мышей II группы по сравнению с I группой выявлено значительное увеличение спонтанной продукции ИЛ-6, ИФН- $\gamma$ , ИЛ-12 и ИЛ-18. Предварительное введение растворителя перед заражением (III группа) значимо не отражалось на спонтанной продукции указанных цитокинов. Введение милиацина (группа IV) увеличивало нестимулированную секрецию ИЛ-12 и ИФН- $\gamma$  по сравнению с аналогичными показателями у зараженных мышей. Вместе с тем, милиацин оказывал стимулирующее воздействие на спонтанную продукцию и противовоспалительного цитокина – ИЛ-10 по отношению к зараженным животным. Исследование стимулированной продукции цитокинов выявило многократное повышение уровня ИФН- $\gamma$ , ИЛ-17, ИЛ-12, ИЛ-10 у мышей II и III групп относительно тех же показателей у интактных животных. Милиацин оказывал дифференцированное влияние на индуцированную продукцию цитокинов: стимулирующий эффект для ИЛ-10, ИЛ-12 и супрессирующий – в отно-

шении ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-17 у мышей IV группы по сравнению с зараженными животными.

Установлено, что сальмонеллезная инфекция обуславливает значимое возрастание содержания эндотоксина в плазме крови зараженных мышей. Использование растворителя, предшествовавшее заражению, не оказало влияния на выраженность эндотоксинемии. Предварительное введение милиацина, напротив, обеспечивало существенное снижение эндотоксинемии по отношению к другим группам зараженных животных. Снижение содержания эндотоксина под влиянием милиацина приводило к менее выраженному проявлению общего адаптационного синдрома. Отсутствие значительного роста уровня кортикостерона в крови инфицированных животных, получавших милиацин, свидетельствует о том, что милиацин не ослаблял выраженность мобилизации одной из ведущих стресс-реализующих систем организма: гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной. Содержание ТБК-реагирующих продуктов в сыворотке крови было достоверно увеличено у зараженных мышей и снижено в группе с милиацином по сравнению с контролем. К 21-м суткам милиацин снижал содержание ТБК-реагирующих продуктов более выражено, чем у мышей II и III групп.

Полученные данные свидетельствовали о том, что протективные эффекты милиацина при экспериментальной сальмонеллезной инфекции не связаны с прямым его влиянием на рост *S. enteritidis*. Можно полагать, что эффекты тритерпеноида опосредуются стимуляцией им механизмов клеточного иммунитета, антиоксидантной и мембранопротекторной активностью [2, 3]. Снижение выраженности эндотоксинемии у инфицированных животных под влиянием милиацина может отражать один из значимых механизмов его защитного действия. Наиболее очевидным объяснением такого эффекта тритерпеноида является снижение бактериальной нагрузки в виде уменьшения микробной обсемененности внутренних органов у животных IV группы по отношению к животным III и II групп сравнения. В основе защитного действия милиацина лежит: снижение выраженности эндотоксинемии, активация Th-1-зависимого иммунного ответа, стимуляция продукции ИЛ-10, ограничение синтеза ИЛ-17 и его мембранопротекторная активность.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Железнова А.Д., Панфилова Т.В., Смолягин А.И., Чайникова И.Н., Штиль А.А. и др. Иммунология, 2009, 5, 298-302.
2. Панфилова Т.В. Штиль А.А., Фролов Б.А. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2006, 141 (6): 633-635.
3. Фролов Б.А., Кириллова А.В. Российский аллергол. журнал. 2011, 4 (1): 402-403.

**THE EFFECT OF THE TRITERPENOID MILIACIN'S IMPACT  
IN THE EXPERIMENTAL SALMONELLA INFECTION**

**Smolyagin A. I., Frolov B. A., Filippova Y. V., Chainikova I. N.,  
Panfilova T. V., Zheleznova A. D., Sarycheva Y. A.**

The miliacin's impact in the experimental Salmonella infection in mice has been carried out. The basis of the protective action of miliacin are: the reducing of the severity of endotoxemia, the activation of Th-1-dependent immune response, the stimulating of the IL-10's production, the limitation of the synthesis of IL-17 and its membrane-protective activity.

---

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ  
И МЕЛАТОНИНПРОДУЦИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ  
ЭПИФИЗА У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ  
В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

**Соболева Е. М., Бабак М. Л., Юрьева А. В.,  
Мурадосилова Л. И., Морозова Е. Н., Кутузова Л. А.**

*ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского»  
Медицинская академия имени С. И. Георгиевского, Симферополь, Россия*

Обследовано 119 детей с бронхиальной астмой в различные периоды заболевания. Изучались показатели состояния иммунной системы (клеточное и гуморальное звено) и мелатонинпродуцирующая функция эпифиза. Выявлены изменения в иммунном статусе, связанные с депрессией клеточного звена, за исключением В-лимфоцитов и гиперпродукцией IgE. Установлено нарушение мелатонинпродуцирующей функции эпифиза, выражающейся в снижении суточного содержания данного гормона и инверсией его ритма. Выявлены взаимосвязи, подтверждающие иммунорегуляторную функцию мелатонина.

Бронхиальная астма (БА) является распространенной патологией детского возраста. Продолжающийся рост заболеваемости астмой диктует необходимость уточнения участия различных факторов в развитии и прогрессировании данного заболевания [3].

Несмотря на успехи современной медицины в расшифровке иммунного механизма хронического воспалительного процесса при БА [5], недостаточно изученными остаются вопросы взаимосвязей эндокринной системы с иммунным статусом. В последние годы получены новые данные о механизмах, обе-

спечивающих комплексное взаимодействие между данными системами [1]. Предполагается, что интегратором этого взаимодействия является эпифиз. Его основной гормон, мелатонин, участвует в регуляции деятельности центральной и вегетативной нервной систем, эндокринных органов и иммунной системы [2, 4].

**Цель исследования** – выявить взаимосвязи между показателями иммунного статуса и мелатонинпродуцирующей функцией эпифиза у детей с бронхиальной астмой в различные периоды заболевания.

**Материалы и методы исследования.** Обследовано 119 детей в возрасте 7-14 лет, страдающих БА. Из них – 70 пациентов, обследовались в постприступном периоде заболевания, средняя продолжительность которого составила  $5,1 \pm 0,4$  дня. В фазе клинической ремиссии БА (средняя продолжительность которой составляла  $3,24 \pm 0,21$  месяца), было обследовано 49 пациентов. Контрольную группу составили здоровые сверстники – 21 человек.

О содержании в организме мелатонина и ритме его секреции судили по концентрации его основного метаболита 6-сульфатоксимелатонина (6-COMT) в моче. В последующем, методом иммуноферментного анализа (тест-система «IBL» Hamburg Germany), определялось количество 6-COMT в дневной и ночной пробе мочи.

Исследование клеточного звена включало определение абсолютного и относительного количества субпопуляций лимфоцитов, несущих на своей поверхности следующие рецепторы: CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, а так же вычисления индекса иммунорегуляции (CD4/CD8). Использовался метод постановки непрямой реакции поверхностной иммунофлюоресценции (РИФ) с моноклональными антителами. Исследование гуморального звена иммунитета (количественное определение сывороточных иммуноглобулинов классов А и Е) проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа (тест-системы ЗАО «Вектор-Бест» г. Новосибирск) с применением моноклональных антител.

Полученные данные обрабатывались методом математической статистики с использованием сертифицированного компьютерного пакета обработки данных «STATISTICA-6». Проверка гипотез о равенстве двух средних производилась с использованием непараметрических методов статистики. Для оценки степени взаимосвязей проводился корреляционный анализ с вычислением парных коэффициентов корреляции (r) Спирмена.

**Полученные результаты.** Проведенное нами исследование показало, что у детей с БА имеются изменения в иммунном статусе. При оценке субпопуляционного состава Т-лимфоцитов отмечалось статистически значимое снижение абсолютных показателей CD3 ( $p < 0,001$ ), CD4 ( $p < 0,001$ ), CD8 ( $p < 0,001$ ), CD16 ( $p < 0,001$ ) – в фазе обострения заболевания, и относительных (CD3 ( $p < 0,001$ ), CD4 ( $p < 0,01$ ),

CD8 ( $p < 0,05$ ), CD16 ( $p < 0,001$ )) – в фазе ремиссии (по сравнению с контролем). Исключение составили В-лимфоциты CD22, абсолютное (в обострении – ( $p < 0,001$ )) и относительное (в ремиссии ( $p < 0,05$ )) содержание которых, было выше, чем в группе контроля. При оценке гуморального звена иммунитета выявлено повышение уровня общего IgE ( $p < 0,001$ ) на фоне снижения концентрации сывороточного IgA.

При БА у детей, как в фазу обострения, так и в ремиссии, выявлена инверсия ритма секреции мелатонина, с высокими показателями дневной и сниженными показателями ночной концентрации данного гормона. Были выявлены взаимосвязи между дневной концентрацией мелатонина, с одной стороны, и степенью тяжести ( $r = -0,660$ ;  $p < 0,001$ ) и длительностью заболевания ( $r = -0,593$ ;  $p < 0,01$ ), с другой.

При анализе межсистемных связей нами было выявлено, что в обострении заболевания сниженные показатели ночной концентрации мелатонина ассоциировались с повышенным уровнем IgE ( $r = -0,875$ ;  $p < 0,05$ ). В фазе ремиссии нами было выявлено наибольшее количество корреляционных связей. Изменения как ночной, так и дневной концентрации мелатонина отражались на состоянии иммунной системы, причем данные изменения в основном затрагивали клеточное звено иммунитета. Общее количество CD3 – лимфоцитов находилось в прямой зависимости от дневной ( $r = 0,882$ ;  $p < 0,01$ ) и ночной ( $r = 0,955$ ;  $p < 0,001$ ) концентрации мелатонина. В тоже время, относительное содержание таких субпопуляций лимфоцитов как CD16 ( $r = 0,812$ ;  $p < 0,001$ ), CD8 ( $r = 0,783$ ;  $p < 0,01$ ), CD22 ( $r = -0,841$ ;  $p < 0,01$ ), а также ИРИ ( $r = -0,662$ ;  $p < 0,01$ ), было сопряжено с измененной ночной концентрацией данного гормона.

#### **Выводы.**

1. Снижение суточной концентрации мелатонина и инверсия его ритма, имеющие место при БА, сопряжены как с течением самого заболевания, так и с изменениями в иммунном статусе, при этом наибольшее влияние на показатели иммунного статуса имели высокие концентрации данного гормона (отмечающиеся в дневное время).

2. При обострении БА высокие показатели дневной концентрации мелатонина были сопряжены с показателями гуморального звена иммунитета (увеличение IgE и снижение IgA), а в фазе ремиссии – с относительным количеством CD8, ИРИ и уровнем IgE.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акмаев, И. Г. От нейроэндокринологии к нейроиммуноэндокринологии/ И. Г. Акмаев, В. В. Гриневич// Бюл экспер. биол. и мед.– 2001.–№ 1– С. 22-32.
2. Ковальзон, В. М. Мелатонин без чудес / В. М. Ковальзон // Человек и его здоровье – 2007.– № 2.– С. 16-17
3. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» (4-е издание, исправленное и дополненное). 2012. 182 с.
4. Патогенетическое обоснование и эффективность применения мелатонина у больных бронхиальной астмой/ Г.И. Литвиненко [и др.] // Медицинская иммунология.–2012–Т. 14, №6.– С. 533-540
5. Современная концепция бронхиальной астмы у детей/Балаболкин, И.И. [и др.] //Иммунология, аллергология, инфектология.–2006.–№ 1.– С.26-35

### INTERRELATION IMMUNE DISORDERS AND EPIPHYSIS MELATONIN- PRODUCING FUNCTION IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA AT THE DIFFERENT PERIODS OF DISEASE

E. M. Soboleva, M. L. Babak, A. V. Yurieva, L. I. Muradosilova,  
E. N. Morozova, L. A. Kutuzova

Were examined 119 children with bronchial asthma during the various periods the disease. Were studied indicators of of the immune system (cellular and humoral links) and the epiphysis melatonin- producing function. Revealed changes in the immune status associated with depression cellular link, except B-lymphocytes and hyperproduction IgE. Found a violation of melatonin – producing epiphysis function, which is expressed in lowering of the daily contents of this hormone and inverse rhythm. The relationships confirming immunoregulatory function of melatonin.

---

### ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ БОЛЬНЫХ С АТИПИЧНЫМИ КЛИНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ РИНОСИНУСИТА

Стагниева И. В.<sup>1</sup>, Симбирцев А. С.<sup>2</sup>, Волков А. Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет  
Минздрава России, Ростов-на-Дону; <sup>2</sup>ФГУП Государственный НИИ  
особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Атипичные формы риносинусита протекают с отсутствием болевого симптома или со значительной лицевой болью. Результаты современных исследований свидетельствуют об участии нейро-иммунных механизмов на всех этапах патогенеза болевого симптома. Целью исследования является определение роли цитокинов в патогенезе болевого симптома при риносинуситах. Обследовано 380 больных риносинуситом: было выполнено клиническое обследование, а также исследование уровня цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , INF $\gamma$  и субстанции P (SP) в сыворотке крови. Нарушения иммунной реактивности в виде дисрегуляции цитокин-опосредованных механизмов проявляются атипичным болевым симптомом: его отсутствием или значительной болью.

*Ключевые слова:* цитокины, риносинусит, лицевая боль

Клинические формы риносинусита претерпевают изменения, появляются стертые, латентные формы заболевания, так ведущий клинический симптом риносинусита – локаль-

ная боль у значительной части больных может отсутствовать [1, 2]. В последнее время также встречаются формы риносинусита, сопровождающиеся сильной лицевой болью, а вос-

палительный процесс в слизистой оболочке носа и околоносовых пазух не выражен [2]. Результаты современных исследований свидетельствуют об участии нейро-иммунных механизмов на всех этапах патогенеза болевого симптома [3]. Нейромедиатор боли – субстанция P является одновременно и медиатором воспаления. Межклеточные взаимодействия на уровне нейропептидов и цитокинов лежат в основе развития и исхода воспаления и гипералгезии. В связи с этим представляется весьма актуальным оценить роль цитокинов при атипичных формах риносинуситов с учетом выраженности болевого симптома.

**Целью исследования** является определение роли цитокинов в патогенезе болевого симптома при риносинуситах.

**Материалы и методы.** Было обследовано 380 больных риносинуситом, находившихся на лечении в базовых отделениях кафедры болезни уха, горла, носа РостГМУ. Критериями включения были больные риносинуситом с различной выраженностью болевого симптома. Критериями исключения стали аллергические риносинуситы; внутричерепные и орбитальные риногенные осложнения; сопутствующие хронические заболевания. Возраст обследуемых составил от 15 до 81 года. Среди них мужчин было 206 (54,2%), женщин – 174 (45,8%). Оценка болевого симптома выполнялась с помощью «Многомерного вербально-цветового болевого теста» [4]. Всем больным проведено исследование уровня субстанции P (SP) в плазме крови. Уровень SP в сыворотке крови пациентов определяли методом ИФА наборами Peninsula Laboratories, LLC фирмы Bachem Group (USA), Cat. No. S-1153. Всем больным было выполнено полное клинико-лабораторное обследование, включающее сбор жалоб и анамнеза, эндоскопию ЛОР органов и компьютерную томографию околоносовых пазух. Уровень цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , INF $\gamma$  определяли методом иммуноферментного анализа наборами реактивов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Контрольную группу составили здоровые молодые люди в возрасте 20-32 года, не страдающие хроническими заболеваниями.

**Результаты и обсуждение.** Интенсивный болевой симптом встречался как при тяжелых синуситах, так и при отсутствии гнойного процесса в пазухе. Отсутствие боли нередко сопровождало выраженный гнойный панси-

нусит. Субстанция P *in vitro* стимулирует хемотаксис полиморфноядерных лимфоцитов человека и стимулирует гуморальный иммунный ответ [3]. Исходя из вышесказанного, изменение уровня субстанции P в сыворотке крови больных нами было расценено как маркер нарушения нейро-иммунных взаимодействий. Для проверки этой гипотезы с помощью ROC-анализа был найден уровень SP, который свидетельствует о том, что имеются нейро-иммунные нарушения, а в воспалительный процесс включаются нейрогенные механизмы. Уровня субстанции P в сыворотке крови больного в пределах 100-2000 пг/мл свидетельствует о нормальном нейро-иммунном взаимодействии, соответствующем воспалительному процессу. По выраженности болевого симптома больные были разделены на 4 группы: 1 группа – пациенты с отсутствием болевого симптома: суммарный показатель болевого симптома по МвцБТ до 20%, уровень SP менее 100 пг/мл; 2 группа – пациенты с умеренной болью: суммарный показатель болевого симптома по МвцБТ от 21 до 60%, уровень SP 100-2000 пг/мл; 3 группа – с выраженной болью: суммарный показатель болевого симптома по МвцБТ более 60%, уровень SP более 2000 пг/мл. В 1-й группе больных с уровнем SP менее 100 пг/мл показатели иммунитета выявили комбинированный иммунодефицит. У этих больных цитокиновый баланс смещен в сторону противовоспалительных цитокинов (IL-10 – 46,919 $\pm$ 0,571 пг/мл), концентрации провоспалительных цитокинов резко снижены: IL-1 $\beta$  – 2,013 $\pm$ 0,525 пг/мл, IL-6 – 5,984 $\pm$ 0,917 пг/мл, IL-8 – 10,065 $\pm$ 1,438 пг/мл, INF $\gamma$  – 2,367 $\pm$ 0,716 пг/мл). Низкие концентрации IL-1 $\beta$  нарушают процессы презентации антигена и не запускают иммунный ответ. Высокие концентрации IL-10 (46,919 $\pm$ 0,571 пг/мл) активируя супрессорные клетки, останавливают воспалительный процесс, который еще не справился с инфекцией [5]. В результате имеется тяжелое течение гнойного воспалительного процесса на фоне функциональной несостоятельности иммунной системы. Низкие концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и INF $\gamma$  не индуцируют синтез субстанции P, а высокие концентрации IL-10 – блокируют рецепторы субстанции P – болевого симптома нет.

Во 2-й группе с уровнем SP 100-2000 пг/мл цитокиновый баланс смещен в сторону провоспалительных цитокинов, причем концентрации

противовоспалительных цитокинов не отличались от контрольной группы. Достоверно увеличена концентрация IL-1 $\beta$  – 34,07 $\pm$ 0,521 пг/мл и IL-6 – 32,56 $\pm$ 3,456 пг/мл. Напряженность клеточного и гуморального звена иммунитета в данной группе пациентов подтверждается активацией Th-2-опосредованного иммунного механизма. Болевой симптом соответствует тяжести течения воспалительного процесса.

В 4-й группе больных с уровнем SP более 2000 пг/мл имеются высокие концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  – 52,38 $\pm$ 2,311 пг/мл, IL-6 – 37,11 $\pm$ 2,015 пг/мл, IL-8 – 46,67 $\pm$ 3,006 пг/мл и TNF $\alpha$  – 19,12 $\pm$ 1,035 пг/мл. Концентрация противовоспалительных цитокинов резко снижена IL-4 – 1,12 $\pm$ 0,114 пг/мл, IL-10 – 0,91 $\pm$ 0,028 пг/мл. Это привело к дисрегуляции цитокиноопосредованных механизмов кооперации Т-лимфоцитов, недостаточности гуморального ответа и пролонгировании болевого симптома.

**Выводы.** Адекватный ответ иммунной системы, когда цитокиновый профиль пациента

соответствует тяжести течения воспалительного процесса при риносинусите проявляется умеренным болевым симптомом.

Нарушения иммунной реактивности в виде дисрегуляции цитокин-опосредованных механизмов проявляются атипичным болевым симптомом: его отсутствием или значительной болью, не характерными для риносинусита.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойко Н. В., Стагниева И. В. Дифференциальная диагностика лицевых болей. Российская ринология 2012; 4: 39-41.
2. Стагниева И. В., Гукасян Е. Л. Оценка болевого симптома при заболеваниях носа и околоносовых пазух. Мед вестник Юга России. 2012; 2:70-73.
3. Ren K., Dubner R. Interactions between the immune and nervous systems in pain. Nat Med 2010; 16 (11):1267-1276.
4. Адашинская Г. А., Мейзеров Е. Е. Многомерный вербально-цветовой тест. Боль 2005; 1 (6): 26-33.
5. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2008. 552 с.

### CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH ATYPICAL FORMS RHINOSINUSITIS

Stagnieva I. V.<sup>1</sup>, Simbirtsev A. S.<sup>2</sup>, Volkov A. G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Rostov State Medical University, Rostov-on-Don; <sup>2</sup>Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia

Atypical forms rhinosinusitis proceed with the absence of pain or symptoms with significant facial pain. The results of current research evidence about the participation of neuro-immune mechanisms at all stages of pathogenesis of pain symptoms. The aim of the study is to determine the role cytokines in the pathogenesis of pain symptoms in rhinosinusitis. The study involved 380 patients with rhinosinusitis: a clinical examination was carried out and a study of cytokines IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , INF $\gamma$  and substance P (SP) in the blood serum. Disorders of the immune reactivity of a dysregulation of cytokine-oposredovnyh mechanisms manifest atypical pain symptoms: his absence or significant pain.

*Key words:* cytokines, rhinosinusitis, facial pain

## ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ЭКСПРЕССИИ Е-КАДГЕРИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ АМИКСИНОМ МНОЖЕСТВЕННЫХ ПАПИЛЛОМ КОЖИ

Степанова О. В., Писклакова Т. П.

*ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский университет,  
Челябинск, Россия*

Морфометрическое исследование биоптатов папиллом кожи после приема Амиксина показало увеличение числа лимфоцитов, плазмоцитов, экспрессии Е-кадгерина в эпителиальных клетках, снижение фиброцитов, что отражает позитивное влияние препарата на адгезивную способность эпителия, интенсификацию иммунных процессов, антителообразования, свидетельствующее о выраженном эффекте препарата.

Папилломы кожи, или плоскоклеточные кератозы являются одними из часто встречающихся дерматозов и относятся к доброкачественным опухолям, гистогенетически связанным с эпидермисом. Хронический, рецидивирующий характер течения заболевания, необходимость повторной деструкции опухолевых образований, заставляет искать новые патогенетически обоснованные подходы к терапии множественных папиллом кожи. Перспективным направлением исследований является иммуногистохимический метод, позволяющий оценить биологическую активность новообразования, ее структуру, пролиферативный потенциал, возможность инвазии, связанную с адгезивным аппаратом клетки. Особое внимание в литературе уделено изучению Е-кадгерина в эпителиальных опухолях кожи [1]. Отмечено, что при доброкачественных новообразованиях, таких, как себорейный кератоз, актинический кератоз, вульгарные бородавки, экспрессия Е-кадгерина аналогична экспрессии в нормальном эпидермисе.

Применение иммунокорректирующих препаратов в комплексной терапии множественных папиллом кожи малоизученно [2].

Целью исследования явилось изучение морфометрических характеристик множественных папиллом кожи и уровня экспрессии Е-кадгерина на фоне лечения Амиксином.

**Материалы и методы исследования.** В исследование включены 32 пациента с множественными папилломами кожи, средний возраст составил  $44,2 \pm 3,7$  (исходная группа). Диагноз верифицирован на основании ги-

стологического исследования. Всем пациентам производилась деструкция элементов методом электрокоагуляции. Сразу же после деструкции элементов назначен один курс препарата Амиксин (Тилорон) – обладающего противовирусным действием с иммуномодулирующей активностью. Препарат назначался в дозе 125 мг/сут в течение первых 2 дней, затем по 125 мг через день в течение 2 месяцев. Курсовая доза – 2,5 г. Статистическая обработка проводилась с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows vers. 6.0.

Материалом для исследования служили биоптаты папиллом взятые до и после приема Амиксина. Материал для гистологических исследований забирали в 10%-ный раствор нейтрального формалина, заливали в парафин по обычной методике. Морфометрические исследования проводились на микроскопе DMRXA фирмы «Leica» (Германия). Документирование результатов осуществляли с помощью компьютерной программы анализа изображения «ДиаМорф Cito-W» (Россия), совмещенной с микроскопом. Площадь клеточного инфильтрата определяли с помощью сетки Вайбеля, результаты выражали в процентах. В препаратах оценивали площадь клеточного инфильтрата в стромах образования, клеточный состав, процентное соотношение положительно окрашенных и неокрашенных клеток отдельно в эпителии и стромах образований на условной площади среза.

Имуногистохимическое исследование экспрессии Е-кадгерина проводили на парафиновых срезах толщиной 3-4 микрона с антителами фирмы DAKO в разведении 1:100 для

Е-кадгерина, в соответствии со стандартным протоколом. Для визуализации продуктов иммунной реакции использовали стрептавидин-биотиновый пероксидазный метод (Dako, LSAB Kit, HRP), в качестве хромогенного субстрата применяли раствор диаминобензидина (Dako, Liquid DAB). Положительным результатом иммуногистохимической реакции считали наличие специфического окрашивания тканевых антигенов в исследуемом образце и позитивном контроле в произвольно взятых 3 полях зрения.

**Результаты и обсуждение.** Морфометрическое исследование биоптатов папиллом до начала лечения показало, что удаленные образования представляли собой разрастания с папилломатозной поверхностью, покрытые роговым слоем, с выраженным гиперкератозом и паракератозом. Мальпигиев и зернистый слои имели неравномерную толщину и составляли от 3-4 слоев до 15-20, с группами вакуолизированных клеток. Базальная мембрана эпителия ровная, сосуды дермы представлены в основном мелкими артериолами и капиллярами, местами вены расширены, заполнены эритроцитами. Во всех препаратах отмечался периваскулярный инфильтрат разных размеров: от 1-2 рядов клеток до 8-12, придатков кожи в препаратах не выявлено. Площадь клеточного инфильтрата составляла 44,3%. В инфильтратах доминировали клетки-гистиоциты, на фоне равномерного распределения лимфоцитов и фиброцитов. После лечения Амиксином отмечалось наличие скудных периваскулярных инфильтратов, с количеством рядов клеток, не превышающих 3-4. Изменений в строении эпителиального слоя не отмечено. После лечения площадь клеточного инфильтрата уменьшилась до 29,4%. В клеточном инфильтрате произошло увеличение массовой доли лимфоцитов в 1,7 раза и уменьшением массовой доли гистиоцитов и фиброцитов, появились нейтрофилы.

По составу клеточного инфильтрата до лечения/после лечения распределение клеток было следующим: гистиоциты 69,1%/54,8%; лимфоциты 15%/25,7%; фиброциты 15%/8,7%; эозинофилы 0,7%/0,9%; плазмоциты 0,2%/1,2%; нейтрофилы 0%/0,4%; макрофаги 0%/0,2%. Наиболее значимым после приема Амиксина оказалось увеличение в 1,7 раза числа лимфоцитов, в 6 раз количества плазмоцитов и снижение в 1,7 раза фиброцитов, что в целом отражает интенсификацию иммунных процессов, антителообразования, что свидетель-

ствует о выраженном иммуномодулирующем эффекте препарата.

Функциональная активность любой ткани, в том числе эпителиальной зависит от интенсивности процессов межклеточных коммуникаций, важнейшим аспектом которых является способность клеток к адгезии. Особенности экспрессии молекул адгезии на клетках стромы опухоли, в частности молекул семейства кадгеринов могут служить дополнительным критерием прогрессии процесса, определять склонность к инвазивному росту. При нарушении морфоархитектоники ткани, вызванной вирусной или опухолевой трансформацией возникают патологические изменения Е-кадгерин-связанной межклеточной адгезии, изменения регуляции активности протеина клеточного цикла p53, что приводит к активации пролиферации клеток и прогрессии опухоли. Произведенный нами подсчет клеток с позитивной реакцией на Е-кадгерин в эпителиальных клетках и строме опухолевой ткани до и после лечения препаратом Амиксин, показал, что экспрессия Е-кадгерина в эпителиальных клетках до лечения составила 3,5% (34 позитивных (окрашенных) клеток из 962 взятых со всех срезов), после лечения показатель экспрессии Е-кадгерина увеличился в 1,5 раза и составил 5,3% (64 позитивных клетки из 1206). В клетках стромы экспрессия Е-кадгерина до лечения составила 17,3% (124 позитивных клетки из 715) и осталась неизменной после курсового приема противовирусного препарата Амиксин. Измененная экспрессия Е-кадгерина описана при ряде дерматозов. Так у больных вульгарной пузырчаткой в прямой реакции иммунофлуоресценции в неизменной коже отмечается нормальная экспрессия Е-кадгерина, в то время как в участках акантолиза описывают редуцированную экспрессию.

В данном случае можно отметить положительное влияние Амиксина на адгезивную способность клеток эпителия, возможно связанную со снижением вирусной нагрузки и снижением цитопатогенного воздействия вируса на пермиссивные эпителиальные ткани.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабиченко И. И., Ковязин В. А. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста: Учеб. Пособие. – М.: РУДН, 2008. – 109 с.
2. Баткаев Э. А., Кицак В. Я., Корсунская И. М., Липова Е. В. Вирусные заболевания кожи и слизистых. – М.: Пульс. – 2001. – С. 45-50.

## CHANGE MORPHOMETRIC PARAMETERS AND EXPRESSION OF E-CADHERIN IN THE TREATMENT OF MULTIPLE AMIKSIN SKIN PAPILOMAS

Stepanova O. V., Pisklakova T. P.

*Medical University of South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia*

Morphometric study of biopsy specimens of skin papillomas after taking Amiksina showed an increase in the number of lymphocytes, plasma cells, the expression of E-cadherin in epithelial cells, fibroblasts decrease, reflecting the positive impact of the drug on the ability agezivnyu epithelium, the intensification of immune processes, antibody, indicating a pronounced effect preratata.

## ОСОБЕННОСТИ ИММУННОЙ РЕГУЛЯЦИИ У РАБОТНИКОВ ХИМИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

Старкова К. Г.<sup>1</sup>, Кривцов А. В.<sup>1</sup>, Бубнова О. А.<sup>1,2</sup>, Дианова Д. Г.<sup>1</sup>,  
Пирогова Е. А.<sup>1</sup>, Вдовина Н. А.<sup>1</sup>, Лучникова В. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия

Проведена оценка показателя иммунной регуляции у работающих на химическом производстве резиновых изделий. Установлено повышение фагоцитарной активности, уменьшение продукции сывороточных иммуноглобулинов IgG и IgM и экспрессии CD25 и CD95 T-клеточных рецепторов, угнетение процесса апоптоза, ассоциированное с нарушением его запуска через Fas-рецептор.

Сохранение здоровья трудоспособного населения требует своевременного выявления негативных тенденций в функционировании, в первую очередь, регуляторных систем, обеспечивающих адаптивный резерв организма, и разработки системы маркерных показателей, которые отражают степень и специфику воздействия на уровне факторов производственной среды [2, 3]. Мониторинг изменений параметров иммунной регуляции обеспечит существенный вклад в решение задачи своевременного выявления патогенетических предпосылок возникающих заболеваний и проведения адекватных профилактических мероприятий [1, 4, 5].

**Цель работы** – оценить показатели иммунной регуляции у работающих на химическом производстве резиновых изделий.

**Материалы и методы.** Обследовали работников предприятия, трудовая деятельность которых связана с изготовлением и обработкой резинотехнических изделий, 40 человек (25 мужчин и 15 женщин), средний возраст 37,81±1,5 лет, средний стаж работы 7,8±2,4 лет.

Условия труда работников основной группы определялись сочетанным воздействием производственного шума и химического фактора с превышением установленных нормативов по шуму на 3,7-27,5%, по содержанию на рабочих местах оксида углерода и оксидов азота в 1,3 раза, при этом также отмечено присутствие паров формальдегида, бензола, углеводородов алифатических предельных.

Группу сравнения составили 52 человека (23 мужчины и 29 женщин), представленные инженерно-техническими специалистами производства, которые работают вне условий воздействия производственных факторов. Средний возраст 37,36±1,5 лет, средний стаж работы 12,85±2,3 лет.

Определение фагоцитарной активности проводили с использованием в качестве объектов фагоцитоза формализированных эритроцитов барана. Содержание сывороточных иммуноглобулинов классов А, М и G (IgG, IgM, IgA) исследовали методом радиальной иммунодиффузии по Манчини.

Для выявления популяций и субпопуляций лимфоцитов по CD-маркерам, а также клеток, экспрессирующих маркеры апоптоза белок p53, рецептор к TNF $\alpha$  (TNFR1<sup>+</sup>) использовали проточную цитометрию и метод мембранной иммунофлуоресценции с применением меченых моноклональных антител, суммарно регистрируя не менее 10000 событий. Уровень апоптоза оценивали по экспрессии на мембране фосфатидилсерина с помощью меченого Аннексина V (Annexin V-FITC) и фрагментации ДНК красителем 7-AAD (7-amino-actinomycin D).

Статистический анализ полученных данных проводили методом вариационной статистики с расчетом средней арифметической и её стандартной ошибки и t-критерия Стьюдента. Различия между группами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** Проведенные клинико-лабораторные исследования выявили изменения функциональной активности иммунной системы у обследованной группы. Так, отмечены преимущественно угнетающие эффекты на содержание сывороточных иммуноглобулинов, которое достоверно отличалось от референтного диапазона в большинстве случаев дефицитом IgG (64,5% проб) и IgM (80,6% проб). Также показано снижение уровня IgG, IgM и IgA ( $10,595 \pm 0,685$  г/дм<sup>3</sup>,  $1,397 \pm 0,124$  г/дм<sup>3</sup> и  $1,442 \pm 0,10^9$  г/дм<sup>3</sup>) относительно группы сравнения ( $11,6 \pm 0,545$  г/дм<sup>3</sup>,  $1,792 \pm 0,122$  г/дм<sup>3</sup> и  $1,725 \pm 0,132$  г/дм<sup>3</sup>) в 1,1, 1,3 и 1,2 раза соответственно ( $p < 0,05$ ).

Установлено повышение фагоцитарной активности при сравнении с физиологической нормой по критерию фагоцитарного индекса у 45,2% обследованных и достоверное увеличение показателей абсолютного фагоцитоза, фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса ( $2,577 \pm 0,56$  10<sup>9</sup>/дм<sup>3</sup>,  $0,9 \pm 0,12$  у.е. и  $1,9 \pm 0,10$  у.е.) в 1,4, 1,2 и 1,1 раза соответственно по сравнению с контрольными значениями ( $1,847 \pm 0,18$  10<sup>9</sup>/дм<sup>3</sup>,  $0,7 \pm 0,09$  у.е. и  $1,7 \pm 0,08$  у.е.) ( $p < 0,05$ ).

Параметры CD-иммунограммы по основным показателям достоверных отклонений от референтного интервала не проявляли, за исключением содержания активационного маркера CD25 ( $3,3 \pm 1,0\%$ ; референтный интервал 13-24%), а также CD95 ( $20,5 \pm 6,9\%$ ; референтный интервал 39-49%) у большинства обследованных ( $p < 0,05$ ).

Особенности изменения маркеров регуляции процесса апоптоза наряду со снижением

экспрессии Fas-рецептора (CD95) указывают на существование негативных тенденций на уровне поддержания клеточного гомеостаза. На фоне снижения количества Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup> клеток, вступивших в апоптоз, в среднем в 1,4 раза ( $0,84 \pm 0,4\%$ ; референтный интервал 1,5-2,5%;  $p < 0,05$ ), уровень экспрессии рецептора TNFR1<sup>+</sup> достоверно не отличался от референтного диапазона, в то время как у 40% обследованных наблюдалось уменьшение клеток с экспрессией белка p53, запускающего процесс апоптоза ( $1,3 \pm 0,9\%$ ; референтный интервал 1,2-1,8%). Последующий анализ выявил выраженную положительную коррелятивную взаимосвязь между количеством Annexin V-FITC<sup>+</sup>7AAD<sup>-</sup> клеток, вступивших в апоптоз, и уровнем экспрессии Fas-рецептора ( $r = 0,825$ ;  $p < 0,05$ ).

Таким образом, в результате выполненного обследования работающих на химическом производстве показаны существенные функциональные изменения со стороны иммунной системы, которые проявились повышением фагоцитарной активности, уменьшением продукции сывороточных иммуноглобулинов и экспрессии T-клеточных рецепторов, а также угнетением процесса апоптоза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дианова Д. Г., Харахорина Р. А., Ланин Д. В. Показатели иммунного статуса женщин, работающих в условиях воздействия бенз (а) пирена. Российский иммунологический журнал. 2012; 6 (14): 47-48.
2. Долгих О. В., Кривцов А. В., Гугович А. М., Харахорина Р. А., Ланин Д. В., Лыхина Т. С., М. А. Сафонова. Иммунологические и генетические маркеры воздействия ароматических углеводородов на работающих. Медицина труда и промышленная экология. 2012; 12: 30-33.
3. Долгих О. В., Кривцов А. В., Горшкова К. Г., Ланин Д. В., Бубнова О. А., Дианова Д. Г., Лыхина Т. С., Вдовина Н. А. Генетические и иммунологические маркеры чувствительности и эффекта у работников калийного производства в условиях комбинированного воздействия факторов риска. Анализ риска здоровью. 2014; 3: 71-76.
4. Зайцева Н. В., Дианова Д. Г., Долгих О. В. Особенности апоптоза у детей при хроническом аэрогенном воздействии фенола. Фундаментальные исследования. 2014. № 2. С. 56-59.
5. Dolgikh O., Zaitseva N., Dianova D., Krivtsov A. Molecular markers of apoptosis in industrial workers. In vivo: International Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research. 2011; 25 (3): 523-524.

## THE CHARACTERISTICS OF IMMUNE REGULATION IN WORKERS OF CHEMICAL MANUFACTURING

K.G. Starkova<sup>1</sup>, A.V. Krivtsov<sup>1</sup>, O.A. Bubnova<sup>1,2</sup>, D.G. Dianova<sup>1</sup>,  
E.A. Pirogova<sup>1</sup>, N.A. Vdovina<sup>1</sup>, V.A. Luchnikova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies";

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Perm State National Research University", Perm, Russia

The features of immune regulation changes in workers at chemical manufacturing of rubber products were investigated. We showed increase in phagocytic activity, reducing production of serum immunoglobulins IgG and IgM, downregulation of CD25 and CD95 T-cell receptor, decrease in the intensity of apoptosis which perhaps associated with damage of running process through the Fas-receptor.

## АКТИВНОСТЬ Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ЖЕНСКОГО ПЕРСОНАЛА СТАНЦИИ ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ Г. ВОЛОГДА

Стирманова А. Ю., Поповская Е. В., Шашкова Е. Ю.,  
Щёголева А. С.

ФГБУН Институт физиологии природных адаптаций Уральского отделения  
Российской академии наук, Архангельск, Россия

В работе представлены результаты обследования в лаборатории физиологии иммунокомпетентных клеток 44 практически здоровых женщин, трудоспособного возраста 21-68 лет, работающих на станции переливания крови в городе Вологда. Повышенная активность клеточного иммунитета у женского персонала станции переливания крови в г. Вологда определяется высокими концентрациями и большой частотой распространённости клеток с рецепторами к антигенам гистосовместимости 2 класса (HLA-DR<sup>+</sup>; CD8<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup>: соответственно,  $0,51 \pm 0,04 \cdot 10^9$  кл/л;  $0,45 \pm 0,03 \cdot 10^9$  кл/л и Т-киллеров (CD16<sup>+</sup>)  $0,52 \pm 0,04 \cdot 10^9$  кл/л) на фоне активизации процессов апоптоза.

Работа на станции переливания крови предъявляет высокие требования к персоналу: на данный момент отмечается наличие организационных проблем в работе станций, высокий уровень тревожности персонала, что предопределяет необходимость оптимизации не только системы управления службой крови, но профилактических мер по улучшению состояния здоровья. Современную медицину невозможно представить без применения донорской крови. В связи с ростом числа травм (в т.ч. в условиях локальных военных конфликтов, техногенных катастроф и стихийных бедствий), развитием высокотехнологичных и высокоинвазивных методов лечения потребность в донорской крови за последние

годы возросла на 10%, что повлекло увеличение нагрузки на персонал. Работа с кровью сопряжена с риском заражения гемотрансмиссивными инфекциями. В целом большинство сотрудников удовлетворены средствами защиты для безопасной работы с донорами, кровью и ее компонентами, однако более 30% медицинских работников испытывают тревогу из-за опасности заражения и находятся в группе риска [1, 2, 3].

**Цель** – оценить состояние Т-клеточного иммунитета у персонала станции переливания крови.

**Материалы и методы.** В работе представлены результаты обследования в лаборатории физиологии иммунокомпетентных кле-

ток 44 практически здоровых женщин, трудоспособного возраста 21-68 лет, работающих на станции переливания крови в городе Вологда.

Кровь для исследования брали из локтевой вены в объеме 6 мл в 9-10 часов утра, натощак. Забор крови осуществляли в вакутайнеры с литий-гепарином фирмы «IMPROVACUTER».

Комплекс иммунологических исследований крови включал изучение гемограммы, фагоцитарной активности нейтрофилов, определение фенотипов лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>, CD5<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>). Фенотипирование лимфоцитов проводили с использованием непрямой иммунопероксидазной реакции с применением моноклональных антител (НПЦ «МедБиоСпектр» и ООО «Сорбент», г. Москва) на препаратах лимфоцитов типа «высушенная капля».

Для оценки полученных данных манипулировали методами описательной статистики с определением средней арифметической величины (M), величины средней ошибки (m), минимальных и максимальных значений, а также стандартного отклонения. Статистическую значимость различий между выборками выявляли при помощи t критерия Стьюдента и с использованием непараметрических методов – Kruskal-Wallis и Manna-Whitney; различия сравниваемых показателей принимались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05-0,001$ .

Общее содержание лейкоцитов в пределах физиологических норм  $5,13 \pm 0,20 \cdot 10^9$  кл/л. Содержание лимфоцитов составило  $2,01 \pm 0,12 \cdot 10^9$  кл/л. Таким образом, у женщин проживающих в городе Вологда, лейкопении и лимфопении регистрируются в 18,18% и 31,81%, соответственно. Следует отметить, что лейкоцитозов выявлено не было, лимфоцитозы встречались в 2,27% случаев. Общее количество моноцитов ( $0,37 \pm 0,03 \cdot 10^9$  кл/л), эозинофилов ( $0,10 \pm 0,01 \cdot 10^9$  кл/л) и общее количество нейтрофилов ( $2,68 \pm 0,15 \cdot 10^9$  кл/л) в среднем не велико. Повышенное значение содержания моноцитов и эозинофилов выявлено у 13,6 и 28,0%, соответственно; в то же время дефицит нейтрофильного ряда составляет 11,36%.

Анализ показал – в среднем фагоцитарное число у женщин проживающих в городе Вологда составляет  $4,14 \pm 0,14$ . При этом % активных фагоцитов у женщин в среднем составил 52,31%. Кроме того следует отметить,

что снижение % активных фагоцитов не компенсировано ростом фагоцитарного числа в 29,54% [4, 5].

Согласно полученным данным, установлено, что у женщин, работающих на станции переливания крови концентрации лимфоцитов CD3<sup>+</sup> и CD5<sup>+</sup> составила  $0,57 \pm 0,04$ ,  $0,55 \pm 0,04 \cdot 10^9$  кл/л, соответственно, что ниже общепринятых физиологических норм. Содержание цитотоксических лимфоцитов Т-супрессоров (CD8<sup>+</sup>) составило  $0,45 \pm 0,03 \cdot 10^9$  кл/л и Т-киллеров (CD16<sup>+</sup>)  $0,52 \pm 0,04 \cdot 10^9$  кл/л. Повышенные значения указанных параметров встречались в 50,0% и 49,0% соответственно.

Анализируя уровень содержания клеток-маркеров апоптоза (CD95<sup>+</sup>) выявили, что содержание указанного иммунологического параметра составляет  $0,49 \pm 0,03 \cdot 10^9$  кл/л; лимфоцитов с антигенным маркером HLA-DR<sup>+</sup> –  $0,51 \pm 0,04 \cdot 10^9$  кл/л.

Таким образом, повышенная активность клеточного иммунитета у женского персонала станции переливания крови в г. Вологда определяется высокими концентрациями и большей частотой распространённости (в среднем у 65,00% обследуемых) клеток с рецепторами к антигенам гистосовместимости 2 класса (HLA-DR<sup>+</sup>; CD8<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup>: соответственно,  $0,51 \pm 0,04 \cdot 10^9$  кл/л;  $0,45 \pm 0,03 \cdot 10^9$  кл/л и Т-киллеров (CD16<sup>+</sup>)  $0,52 \pm 0,04 \cdot 10^9$  кл/л) на фоне активизации процессов апоптоза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вахитов Ш. М., Гапоненко В. А. Семейная медицина: маркетинговый подход // Казанский государственный медицинский университет, Казанский городской кардиологический диспансер. Казань: Медицина, 2006. 76 с.
2. Двойников С. И., Лапик С. В., Павлов Ю. И. Управление изменениями // Главная медицинская сестра. 2007. № 11. С. 39-63.
3. Павлов Ю. И., Трахтенберг И. Н. Медсестра с высшим образованием как организатор диспансеризации // Главная медицинская сестра. 2008. № 2. С. 30-48.
4. Щёголева Л. С. Иммунные реакции у взрослых – северян в условиях стандартной антигенной нагрузки / Л. С. Щёголева // Экология человека. – 2010. – № 5. – С.11-16.
5. Щёголева Л. С. Соотношение иммуно-гормональных реакций у лиц разных профессий в приполярном регионе / Л. С. Щёголева, М. В. Меньшикова, Е. Ю. Шашкова // Экология человека. – 2009. – № 7. – С.7-10.

## THE ACTIVITY OF T-CELL IMMUNITY IN FEMALE STAFF OF BLOOD TRANSFUSION STATIONS VOLOGDA

A. Y. Stirmanova, E. V. Popovskaya, E. Y. Shashkova, L. S. Shchegoleva

The results of the survey in the laboratory of physiology of immune cells 44 healthy women of working age 21-68 years, working at the blood transfusion station in the city of Vologda. Increased activity of cellular immunity in female staff in the blood transfusion station Vologda is determined by high concentration and the prevalence of high frequency of cells with receptors for the histocompatibility antigens of Class 2 (HLA-DR<sup>+</sup>; CD8<sup>+</sup> and CD16<sup>+</sup>: respectively,  $0,51 \pm 0,04 \cdot 10^9$  cells/l;  $0,45 \pm 0,03 \cdot 10^9$  cells/l and T – killer cells (CD16<sup>+</sup>)  $0,52 \pm 0,04 \cdot 10^9$  cells/l) due to activation of apoptosis.

---

---

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОВЕРХНОСТНЫХ МАРКЕРОВ КЛОНОВ НК-КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Стрельцова М. А., Ерохина С. А., Каневский Л. М.,  
Коваленко Е. И.

*Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина  
и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия*

В работе изучены изменения поверхностных маркеров НК-клонов, связанных с процессами дифференцировки НК-клеток при культивировании с использованием IL-2 и модифицированных клеток K562, экспрессирующих на своей поверхности мембраносвязанную форму IL-21 (K562-mbIL21).

*Ключевые слова:* НК-клетки, клоны, дифференцировка, фенотип

**Введение.** НК-клетки – клетки врожденного иммунитета, цитотоксические лимфоциты, которые способны распознавать и уничтожать стрессированные, инфицированные и опухолевые клетки. На различных стадиях дифференцировки НК-клетки проявляют разный уровень цитотоксической активности и продукции антител. В отличие от Т-клеток, НК-клетки не обладают значительным клональным различием поверхностных маркеров, но могут иметь различный набор активизирующих и ингибирующих рецепторов, а также других молекул, участвующих во взаимодействии с клетками-мишенями и их киллинге. В зависимости от этого набора часть НК-клеток может обладать более высокой противоопухолевой активностью и пролиферативной способностью в ответ на определенные стимулы. Однако, фенотипические характеристики НК-клеток, ассоциированные с их противоопухолевой эффективностью, полностью не определены. Существует очень мало

данных об индукции экспрессии рецепторов на поверхности НК-клеток. В процессе точной дифференцировки экспрессия многих молекул изменяется, и под действием различных стимулов НК-клетки способны, например, экспрессировать на своей поверхности такие не характерные для них молекулы как HLA-DR. Одним из инструментов изучения механизмов процесса дифференцировки НК-клеток может служить анализ поверхностных маркеров индивидуальных клонов этих клеток.

**Целью** данной работы являлось изучение различий в экспрессии поверхностных маркеров НК-клонов человека, полученных при их стимуляции с помощью модифицированных клеток K562, экспрессирующих мембраносвязанный IL-21 (K562-mbIL21), в комбинации с IL-2.

**Материалы и методы.** НК-клетки выделяли из периферических мононуклеаров здоровых добровольцев с помощью метода магнитной сепарации на колонках Miltenyi Biotec. Клоны НК-клеток получали путем лимитирующих

разведений в лунки 96-луночного планшета на клеточном сортировщике FACSVantage DiVa (Becton Dickinson). Для индукции роста клонов применяли способ стимуляции с использованием IL-2 (100 ед./мл) и модифицированных фидерных клеток K562-mbIL21 (любезно предоставлены доктором Dean Lee, США), которые были предварительно облучены дозой радиации 100 Гр. Фидерные клетки добавляли в концентрации 2 тыс./лунку. Через 3, 4, 5, 6 недель и более определяли фенотипические особенности клонов в культурах, а именно, экспрессию CD56, CD3, CD16, CD57, NKG2D, NKG2C, NKG2A, KIR2DL2/DL3, HLA-DR оценивали методом иммунофлуоресценции с помощью проточной цитометрии.

**Результаты и обсуждение.** В процессе работы было получено 6 коллекций клонов NK-клеток. Как правило, через три недели культивирования количество клеток в клональных клеточных культурах оказывалось достаточным для иммунофлуоресцентного окрашивания. По фенотипу CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> была доказана принадлежность клонов к NK-клеткам. Среди полученных клонов 80% имели фенотип CD56<sup>bright</sup>. Клетки с таким фенотипом слабо дифференцированы и имеют большой пролиферативный потенциал, что соотносится с более высокой, по сравнению с клетками CD56<sup>dim</sup> активностью теломеразы [1]. В то же время, 20% клонов имели низкую экспрессию CD56<sup>dim</sup>, что характерно для зрелых, дифференцированных NK-клеток. В процессе культивирования экспрессия CD56 в клонах с фенотипом CD56<sup>dim</sup> увеличивалась, свидетельствуя об активации NK-клеток [2]. Динамика изменения экспрессии CD56 в клонах с фенотипом CD56<sup>bright</sup> была более сложной. Через 5 недель уровень CD56 на клеточной поверхности закономерно снижался, клоны приобретали фенотип CD56<sup>dim</sup>, что свидетельствует о дифференцировке NK-клеток. Затем, к 6-7 неделе культивирования, экспрессия CD56 на клетках за счет их активации снова возрастала.

Во всех полученных коллекциях клонов, кроме одной, клоны оказались негативными по маркеру конечной дифференцировки лимфоцитов CD57 либо имели невысокую долю CD57<sup>+</sup>-клеток, что также свидетельствовало в пользу их высокой пролиферативной способности [3]. Ранее нами было показано, что CD57-положительные клетки обладают также сниженной функциональной активностью, в частности, слабо продуцируют цитокины [4]. Все клоны

демонстрировали высокий уровень экспрессии NKG2D. В процессе культивирования в течение 6 недель уровень экспрессии NKG2D неуклонно повышался. Около 70% клонов через три недели культивирования экспрессировали ингибирующий рецептор NKG2A. Экспрессия рецептора NKG2A не исчезала в клетках и через 6 недель культивирования в том случае, если экспрессия маркера конечной дифференцировки CD57 в этих клетках была низкой.

Через 3 недели клоны демонстрировали низкий уровень экспрессии рецептора антител-зависимой клеточной цитотоксичности CD16, тогда как к 6 неделе культивации во всех клонных экспрессия этого рецептора увеличивалась. Среди охарактеризованных клонов только 20% экспрессировали активирующий рецептор NKG2C. Интересно, что около 50% этих клонов имело высокую экспрессию CD56, что может быть вызвано активацией под действием IL-2. В одной из коллекций были обнаружены клоны, которые экспрессировали сразу и маркер ранней стадии дифференцировки NKG2A, и активирующий рецептор NKG2C, экспрессия которого характерна для более поздних стадий дифференцировки. Через три недели измерения на поверхности 70% клеток была зарегистрирована низкая экспрессия маркера дегрануляции CD107a. К 6 неделям культивирования экспрессия CD107a увеличивалась. У половины клонов через 3 недели не было найдено на клеточной поверхности α-цепи рецептора к IL-2 (CD25). В этих клонах маркер CD25 не выявлялся и на более поздних сроках культивирования. В начале культивирования все клоны были негативны по маркеру CD8, тогда как через 6 недель часть клонов начинала экспрессировать молекулу CD8 – ко-рецептор комплекса распознавания МНС класса I.

Через 3-4 недели культивирования все клоны NK-клеток начинали экспрессировать молекулу МНС класса II – HLA-DR. В то же время, только часть нестимулированных NK-клеток человека (1-5%) несет на поверхности молекулы HLA-DR. Таким образом, экспрессия HLA-DR не является маркером отдельной субпопуляции NK-клеток, а индуцируется в процессе активации. Ранее было показано, что IL-2 стимулирует пролиферацию NK-клеток, экспрессирующих HLA-DR [5]. Высокая экспрессия этой молекулы характерна для антиген-презентирующих клеток, однако функциональная значимость экспрессии HLA-DR в NK-клетках, так же, как

и физиологическая роль HLA-DR-позитивных НК-клеток, не совсем ясны и нуждаются в более детальном изучении. В некоторых клонах в процессе культивирования регистрировалась экспрессия ингибирующих рецепторов KIR2DL2/DL3. Все проанализированные клоны через 3-4 недели культивирования приобрели фенотип активированных клеток CD69<sup>+</sup>.

Наиболее долгоживущие клоны (14 недель и более) имели фенотип CD56<sup>+</sup>NKG2A<sup>+</sup>NKG2C<sup>-</sup>CD57<sup>-</sup>KIR2DL2/DL3<sup>-</sup>.

**Заключение.** Можно заключить, что при получении клонов выживают слабо дифференцированные клоны с фенотипом CD56<sup>bright</sup>NKG2A<sup>+</sup>NKG2D<sup>+</sup>CD25<sup>±</sup>, которые в процессе культивирования постепенно приобретают такие маркеры как NKG2C, KIR2DL2/DL3, CD69, CD57.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 14-04-01842).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Qin Ouyang et al. Telomere Length in Human Natural Killer Cell Subsets. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1106: 240-252 (2007).
2. Todd A. Fehniger. CD56<sup>bright</sup> natural killer cells are present in human lymph nodes and are activated by T cell-derived IL-2: a potential new link between adaptive and innate immunity. *Blood*: 101 (8) April 15, 2003.
3. Bjorkstrom et al. Expression patterns of NKG2A, KIR, and CD57 define a process of CD56dim NK-cell differentiation uncoupled from NK-cell education blood, 11 november 2010 volume 116, number 19.
4. Kanevskiy L. M., Erokhina S. A., Streltsova M. A., Telford W. G., Sapozhnikov A. M., Kovalenko E. I. (2014). Bacterial lipopolysaccharide activates CD57-negative human NK cells. *Biochemistry Mosc.* 79 (12), 1339-48.
5. J. Henry Evans et al. A distinct subset of human NK cells expressing HLA-DR expand in response to IL-2 and can aid immune responses to BCG. *Eur. J. Immunol.* 2011. 41: 1924-1933.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF SURFACE MARKERS NK CELL CLONING

M. A. Streltsova, S. A. Erokhina, L. M. Kanevskiy, E. I. Kovalenko

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia*

This paper presents a changes of surface markers NK cell clones, associated with the processes of differentiation of NK-cells. For obtaining NK cell clones using IL-2 and K562 cells modified with membrane bound form of IL-21 (K562-mbIL21).

*Key words:* NK-cells, clones, differentiation, phenotype

## ИММУННЫЙ СТАТУС ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИИ АССОЦИИРОВАННОЙ С РАННИМИ ФОРМАМИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ МОЗГА

Строева В. С.<sup>1</sup>, Давыдова Е. В.<sup>1</sup>, Василенко Т. М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский университет;

<sup>2</sup>ГБУЗ Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь ветеранов войн, Челябинск, Россия

Изучение иммунных показателей у пациентов с артериальной гипертензией I стадии ассоциированной с ранними формами хронической ишемии мозга показало активацию иммуногенеза, высокий пролиферативный потенциал иммуноцитов при начальных проявлениях недостаточности кровоснабжения мозга. При прогрессировании церебральной сосудистой патологии, напротив, отмечено угнетение центральных механизмов иммуногенеза, пролиферативного потенциала клеток, усиление процессов апоптоза, что можно рассматривать как механизм, направленный на предотвращение иммунной аутоагрессии в отношении тканей головного мозга.

Артериальная гипертензия (АГ) является основным фактором риска развития ишемической болезни сердца и мозгового инсульта, которые ухудшают показатели инвалидизации и смертности у трудоспособного населения Российской Федерации. Получены данные о роли иммунной системы как части единого гомеостатического нейро-эндокрино-иммунного комплекса, являющейся важнейшей регуляторной системой организма формирующей адаптивный и врожденный иммунитет [2]. Тем не менее, недостаточно изучен вопрос о трактовке нарушений иммунного статуса при I стадии АГ, ассоциированной с ранними формами хронической ишемии мозга.

**Целью исследования** явилось изучение показателей врожденного и адаптивного иммунитета при АГ I стадии ассоциированной с ранними формами хронической ишемии мозга.

**Материалы и методы.** На базе ГБУЗ «Челябинский областной клинический терапевтический госпиталь для ветеранов войн» амбулаторно обследовано 184 пациента, из них 147 с АГ I стадии и 37 практически здоровых лиц с нормальным АД. Диагноз АГ I стадии установлен при уровне АД более 140/90 мм рт. ст., отсутствию клинических признаков поражения сердца по данным ЭКГ, ЭхоКГ, отсутствие [1]. К ранним формам хронической ишемии мозга относятся начальные проявления недостаточности кровоснабжения мозга (НПНКМ) и дисциркуляторная энцефалопатия I стадии (ДЭП-1) в соответствии с критериями отечественной классификации сосудистых поражений головного и спинного мозга [3]. Сформировано 3 группы: первую группу «А» составили 45 мужчин, ср. возраст  $39,24 \pm 0,81$  года, с АГ I стадии без признаков поражения органов-мишеней; во вторую группу «В» вошли 74 мужчины, ср. возраст  $41,4 \pm 0,68$  года с АГ I стадии в сочетании с НПНКМ; третью группу «С» составили 28 мужчин ср. возраст  $49,64 \pm 0,92$  года с АГ I стадии в сочетании с ДЭП I стадии. В контрольную группу «К» включили 37 мужчин, ср. возраст  $37,75 \pm 0,78$  года с нормальными цифрами АД, отсутствием НПНКМ, ДЭП I и соматической патологии.

Материалом для иммунологического исследования служила венозная кровь, взятая натощак. Иммунологические методы обследования включали определение: популяционного состава лимфоцитов методом иммунофенотипирования (НИИ «Препарат» Н. Новгород);

внутриклеточного белка bcl-2 (EPICS XL Beckman Coulter (USA); иммуноглобулинов А, М, G проводилось методом радиальной иммунодиффузии; общей активности комплемента по 50% гемолизу; компонентов комплемента С3, С5 (НПО «Контур» (Санкт-Петербург); циркулирующих иммунных комплексов (ЦИКов) проводили методом преципитации. Статистическую обработку материала проводили с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows vers. 6.0. фирмы StatSoft Inc. (США).

**Результаты и обсуждение.** Клеточный компартмент иммунной системы в группе «А» в сравнении с группой контроля показал: снижение в крови числа абсолютных и относительных значений CD16<sup>+</sup> клеток ( $14,6 \pm 3,12\%$ ;  $0,31 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$ ), относящихся к эффекторам врожденного иммунитета; лимфоцитов с маркерами негативной активации (CD95<sup>+</sup>) и готовности к Fas-зависимому апоптозу ( $14,71 \pm 2,8\%$ ;  $0,28 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ); роста уровня клеток с маркерами ранней позитивной активации CD25<sup>+</sup> ( $15,01 \pm 3,4\%$ ;  $0,27 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ ) и лимфоцитов «наивного фенотипа» (CD45RA  $0,62 \pm 0,08 \times 10^9/\text{л}$ ) Данные изменения можно рассматривать с позиций формирования нового регуляторного контура иммунной регуляции в условиях формирования начальных стадий артериальной гипертензии. Изменения иммунных показателей в группе «В» в сравнении с группой «К» характеризовались тенденцией к повышению числа основных популяций Т-лимфоцитов CD3 ( $58,7 \pm 2,19\%$ ;  $1,27 \pm 0,08 \times 10^9/\text{л}$ ), лимфоцитов с мембранной изоформой рецептора являющегося маркером «наивных» лимфоцитов CD45RA<sup>+</sup> ( $0,62 \pm 0,08 \times 10^9/\text{л}$ ), клеток с маркерами ранней позитивной (CD25<sup>+</sup>) и негативной активации CD95<sup>+</sup> ( $12,26 \pm 1,61\%$ ;  $0,48 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ), достоверное повышение экспрессии антиапоптозного протеина bcl-2. Это в совокупности отражает интенсификацию процессов иммуногенеза, кроме того наличие большого числа клеток с экспрессией рецептора к интерлейкину-2 отражает высокий пролиферативный потенциал иммунных клеток, реализуемый в условиях формирования самых ранних форм хронической ишемии мозга. В то же время, снижение в кровотоке относительно содержания хелперной популяции может свидетельствовать о наличии миграционных процессов, связанных с перераспределением данной популяции в ткани. При изучении

иммунных показателей группы «С» в сравнении с параметрами группы «В», отмечено достоверное снижение абсолютного количества CD3<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, повышение процентного содержания CD95<sup>+</sup> клеток и лимфоцитов с морфологическими признаками апоптоза. Полученные данные позволяют сделать заключение о снижении интенсивности иммунопоэза на уровне центральных органов, снижении пролиферативного потенциала и об усилении готовности клеток лимфоидного ряда к реализации Fas-зависимого апоптоза, что можно рассматривать как механизм направленный на предотвращение иммунной аутоагрессии в отношении тканей головного мозга в условиях прогрессирования хронической ишемии мозга ассоциированной с артериальной гипертензией. Изучение показателей гуморального иммунитета в группе «А» показало повышение уровня IgM, снижение IgG и активности компонентов комплемента C2 и C5, что в целом отражает реализацию первичного иммунного ответа. В группе «В» отмечено снижение уровней IgA и IgG, гемолитической активности комплемента и компонентов C1-C5, повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов, в совокупности отражающее формирование эндотелиальной дисфункции в результате прикрепления циркулирующих иммунных комплексов к эндотелию и ферментативную агрессию со стороны эффекторных систем, работающих по принципу ограниченного протеолиза. В группе «С» снижается содержание IgM и IgG, изменено соотношение C1-C5, тенденция к понижению гемолитиче-

ской активности комплемента, активности C1, C3, C5, повышения уровня циркулирующих иммунных комплексов. Явления дискплементемии, роста ЦИКов на стадии прогрессии ранних форм хронической ишемии могут быть ответственны за развитие ранних форм атеросклероза церебральных сосудов.

Таким образом, артериальная гипертензия I стадии ассоциированная с начальными проявлениями недостаточности кровоснабжения мозга сопровождается активацией иммуногенеза, высоким пролиферативным потенциалом иммунных клеток. Прогрессирование хронической ишемии мозга в виде дисциркуляторной энцефалопатии I стадии приводит к угнетению центральных механизмов иммуногенеза, пролиферативного потенциала клеток, усилению процессов апоптоза, дискплементемии, росту циркулирующих иммунных комплексов, что можно рассматривать как защитный механизм, направленный на предотвращение иммунной аутоагрессии в отношении тканей головного мозга.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (четвертый пересмотр). Российское медицинское общество по АГ. ВНОК. Media Medica. Москва. М. 2010. 33 с.
2. Калев О.Ф., Строева В.С., Калева Н.Г. Ранняя диагностика и профилактика артериальной гипертензии. – М.: «Практика», 2011. – 216с.
3. Шмидт Е.В. Классификация сосудистых поражений головного и спинного мозга //Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. – 1985. – № 9. – С.1281-1288.

### IMMUNE STATUS IN ASSOCIATED ARTERIAL HYPERTENSION WITH EARLY CHRONIC BRAIN ISCHEMIA

Stroeva V. S.<sup>1</sup>, Davydova E. V.<sup>1</sup>, Vasilenko T. M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>South Ural State Medical University; <sup>2</sup>Chelyabinsk Regional Clinical Hospital for War Veterans therapeutic, Chelyabinsk, Russia

The study of immune parameters in patients with arterial hypertension stage I associated with early forms of chronic brain ischemia showed activation immunogenesis, high proliferative potential of immune cells in the initial manifestations of insufficient blood supply to the brain. With the progression of cerebral vascular disease, on the contrary, the central mechanisms of inhibition observed immunogenesis, the proliferative capacity of cells, increased apoptosis, that should be viewed as a mechanism to prevent immune autoaggression against brain tissue.

## ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ НА ПОВРЕЖДЕНИЕ И РЕПАРАЦИЮ ДНК ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Теуцкая Е. Е., Василиади Р. В., Храмцова А. А.

ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет», Краснодар, Россия

В работе изучено повреждающее воздействие СВЧ- и гамма излучений на ДНК лимфоцитов периферической крови, а также влияние воды с пониженным относительно природного содержанием дейтерия (40 ppm) на их репаративные системы. Количество однонитевых разрывов ДНК в лизатах лимфоцитов оценивали по отношению величин флуоресценции контрольных и экспериментальных образцов. Установлено, что инкубация в растворах с пониженным содержанием дейтерия лимфоцитов, полученных из крови больных с врожденными пороками развития челюстно-лицевой области, снижает количество однонитевых разрывов ДНК на 21-24%.

Однонитевые разрывы (ОР) в молекуле ДНК являются самым многочисленным типом повреждения ДНК, который, наряду с двунитевыми разрывами, возникает либо при физиологических условиях в лимфоцитах, либо при патологических процессах, при окислительном стрессе, ионизирующем излучении, нарушении функционирования ферментов клеточного ядра. Отмечается, что ОР ДНК способны индуцировать апоптоз в ряде клеток [1]. Таким образом, можно рассматривать определение количества ОР ДНК как возможный инструмент изучения взаимосвязи механизмов репарации и апоптоза, а также влияния различных факторов окружающей среды на иммунокомпетентные клетки.

Целью данной работы являлось исследование зависимости количества однонитевых разрывов ДНК клеток крови при воздействии гамма-, СВЧ-излучений на лимфоциты периферической крови человека и при их инкубировании в среде с различным изотопным D/H составом.

Выделение чистой взвеси лимфоцитов из донорской крови проводили в градиенте плотности фиколла-урографина (плотность 1,077 г/мл), как описано в работе [2]. Лимфоциты трехкратно отмывались и часть из них инкубировалась в физиологическом растворе, приготовленном на воде с пониженным содержанием дейтерия ( $40 \pm 2$  ppm) при комнатной температуре в течение от 1 до 24 ча-

сов, другая часть облучалась СВЧ-излучением в течение 10 минут на частотах 3,5 ГГц, 50 ГГц, 70 ГГц при мощности 3мВт. Часть лимфоцитов подвергалась гамма-излучению препарата  $^{137}\text{Cs}$ , активностью 0,104 МБк в течение 30, 60 и 90 минут. После этого клетки лизировали 4,5 М раствором мочевины в течение 10 мин при температуре 24 °С, подвергались щелочной обработке в течение 30 мин при 0°С, а затем интенсивно встряхивали на Вортексе в течение 15 сек. Контрольные образцы щелочной обработке не подвергали и использовали для определения фоновой флуоресценции. После щелочной обработки лизатов и добавления бромистого этидия измеряли интенсивность флуоресценции полученных образцов в кварцевой кювете на флуоресцентном спектрофотометре Hitachi F-2700 при  $\lambda_{\text{полл}}$   $610 \pm 5$  нм под прямым углом к направлению возбуждающего света. Количество однонитевых разрывов ДНК оценивали по отношению величин флуоресценции контрольных и экспериментальных образцов. Результаты представляли в виде процентного соотношения количества щелочнолабильных сайтов ДНК, содержащих однонитевые разрывы к общему количеству ДНК. При индукции апоптоза использовали рекомбинантный человеческий фактор некроза (hTNF $\alpha$ ), при этом в среде создавали концентрацию hTNF $\alpha$  равную 10 нг/мл, которая гарантированно инициировала апоптоз лимфоцитов. Воду с пониженным содержани-

ем дейтерия производили на разработанной в Кубанском государственном университете установке ЛВ-1. Определение концентрации дейтерия в полученной воде были проведены на импульсном ЯМР спектрометре JEOL JNM-ECA 400MHz [3].

Полученные данные анализировали в пакете статистического анализа Statistica 6.0. Сравнение групп по количественным признакам проводили с использованием двухвыборочно-го t-критерия Стьюдента.

После облучения образцов и обработки результатов были получены следующие результаты: в лимфоцитах при воздействии СВЧ-излучения в течение 10 минут с частотой 3,5 ГГц ОР ДНК больше на 32,31%, с частотой 50 ГГц на 40,02%, с частотой 70 ГГц на 49,77%, чем в контрольном образце. Из полученных данных следует, что СВЧ-излучение оказывает разрушающее действие на молекулу ДНК, увеличивающее количество однонитевых разрывов, которое растет с увеличением частоты излучения. В лимфоцитах при воздействии гамма-излучения  $^{137}\text{Cs}$  с активностью 0,104 МБк в течение 30 минут ОР ДНК больше на 44,34%, 60 минут на 56,54%, 90 минут на 68,26%, чем в контрольном образце. При квазипостоянной активности радиоактивного препарата  $^{137}\text{Cs}$  0,104 МБк количество ОР ДНК увеличивалось в зависимости от времени обработки.

Обнаружено, что инкубация лимфоцитов в 0,9% растворе хлорида натрия, приготовленном на воде с содержанием дейтерия 40 ppm, за 16 часов уменьшает количество однонитевых разрывов ДНК по сравнению с контролем с 59-62% до 36-40%. Увеличение времени инкубирования до 24 час существенно не влияло на полученные значения. При аналогичной обработке лимфоцитов, полученных из крови здоровых доноров, количество однонитевых разрывов ДНК было существенно меньше, мало зависело от среды инкубирования и составляло  $2,5 \pm 0,2\%$ . Это свидетельствует, о том, что ДНК лимфоцитов здоровых доноров менее подвержены повреждениям по сравнению с ДНК лимфоцитов больных с ВПР ЧЛО, в которых наблюдаются мутации SNP двух генов FOXE1 и MHFTR [4].

Для выяснения предположения о том, является ли вода с пониженным содержанием дейтерия ингибитором апоптоза иммунокомпетентных клеток, либо активирует их

ДНК-репарирующие системы, были проведены эксперименты с использованием рекомбинантного человеческого фактора некроза опухоли hTNF $\alpha$ . При использовании обычной воды действие фактора некроза hTNF $\alpha$  приводит к прогрессивному накоплению однонитевых разрывов ДНК в клетках. Уже через 3 часа инкубации количество однонитевых разрывов ДНК в лимфоцитах здоровых доноров составляло  $21,3 \pm 3,1\%$ , а больных с ВПР ЧЛО –  $70,3 \pm 5,2\%$ . При использовании воды с содержанием дейтерия 40 ppm количество однонитевых разрывов в лимфоцитах достигало максимума через 2 часа инкубации, а затем резко снижалось. Такое поведение клеток в воде с пониженным содержанием дейтерия, возможно, связано с тем, что наряду с возникновением однонитевых разрывов в клетках активируются системы ее репарации, ликвидирующие эти разрывы. Появлению однонитевых разрывов ДНК предшествует ее фрагментация, которая наблюдается при вхождении клеток в стадию апоптоза. Вода с пониженным содержанием дейтерия, по-видимому, делает обратимым этот процесс. Это открывает перспективы для использования такой воды при некоторых заболеваниях с целью предотвращения неконтролируемой массовой гибели иммунокомпетентных клеток [5].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yoshida K. Three asparagine synthetase genes of *Bacillus subtilis* // *Journal Bacteriol.*– 1999.– № 181.– P. 6081-6091.
2. Текуцкая Е. Е., Васильев Ю. А., Храмова А. А. Исследование воздействия электромагнитного излучения низкой частоты на активность лимфоцитов // *Российский иммунологический журнал*, 2014. Т. 8 (17), № 3, С. 466-468
3. Лисицын А. Б., Барышев М. Г., Басов А. А. и др. Воздействие воды со сниженным содержанием дейтерия на организм лабораторных животных при различном функциональном состоянии неспецифических защитных систем // *Биофизика*. 2014. № 4. Т. 59. С. 757-765
4. Текуцкая Е. Е., Гусарук Л. Р. Мониторинг врожденных пороков развития челюстно-лицевой области в условиях неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды // *Экология человека*. 2013, № 5. С. 18-23.
5. Текуцкая Е. Е., Лупаш Н. П., Майорова А. В. Особенности заболеваний органов пищеварения у населения в экологически загрязненных районах Краснодарского края // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2012. № 5. С. 41

## INFLUENCE OF EXTERNAL FACTORS ON DAMAGE AND REPARATION OF DNA LYMPHOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD OF THE PERSON

Tekutskaya E. E., Vasiliadi R. V., Hramtsova A. A.

In work influence of the microwave oven – and scale radiation on damage of DNA, and also influence of water with the maintenance of a deuterium (40 ppm) lowered rather natural on recovery systems of lymphocytes of peripheral blood is studied. The quantity of ruptures of DNA in lysates of lymphocytes was estimated on the relation of sizes of fluorescence of control and experimental samples. According to experiment it is established that the incubation in solutions with the lowered maintenance of a deuterium of the lymphocytes received from blood of patients with congenital malformations of maxillofacial area reduces quantity of ruptures of DNA by 21–24%.

---

---

## БРОНХИАЛЬНАЯ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬ И ВОСПАЛЕНИЕ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Трофименко И. Н., Черняк Б. А.

*ГБОУ ДПО Иркутская государственная медицинская академия  
последипломного образования, Иркутск, Россия*

Цель исследования – сравнить выраженность воспаления у больных ХОБЛ в зависимости от уровня бронхиальной реактивности. У 42 больных ХОБЛ, стратифицированных на 2 группы, проанализированы цитология индуцированной мокроты (ИМ) и концентрация в крови цитокинов воспаления. В 1-ю группу вошли 22 больных ХОБЛ с бронхиальной гиперреактивностью (БГР), во 2-ю – 20 пациентов без БГР. Больные с БГР характеризовались большей степенью выраженности воспаления по показателям ИМ ( $p < 0,05$ ) и концентрации системных цитокинов ( $p < 0,05$ ). БГР у больных ХОБЛ можно рассматривать в качестве индикатора выраженности локального воспаления и его системных проявлений.

Бронхиальная гиперреактивность (БГР) является высоко чувствительным признаком бронхиальной астмы и рассматривается в качестве косвенного маркера выраженности воспаления, степени тяжести и уровня контроля над заболеванием. Однако результаты эпидемиологических исследований показали, что БГР нередко ассоциируется с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Распространенность БГР среди больных ХОБЛ по данным современных исследований составляет 55-87% [1,4]. В ряде исследований показано неблагоприятное влияние БГР на течение ХОБЛ. В частности, у больных с данным фенотипом заболевания отмечается больший темп снижения легочной функции, более выраженная одышка, меньшая толерантность к физической нагрузке, снижение качества жизни, неблагоприятный прогноз и повышен-

ная летальность по сравнению с пациентами без БГР [1-3].

Патогенетические механизмы БГР при ХОБЛ остаются недостаточно изученными, но вероятнее всего, как и при астме, являются многокомпонентными. Среди наиболее вероятных механизмов указывают на воспаление, ремоделирование дыхательных путей и структурные изменения легочной паренхимы.

В связи со сказанным, целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка выраженности воспаления дыхательных путей и концентрации биомаркеров воспаления в сыворотке крови больных ХОБЛ в зависимости от клинико-функциональных особенностей заболевания.

**Материалы и методы.** В исследование включены 42 амбулаторных больных ХОБЛ средней степени тяжести. Возраст больных

ХОБЛ (36 мужчин и 6 женщин) варьировал в диапазоне 44-78 ( $56,9 \pm 6,7$ ;  $M \pm SD$ ) лет. Диагностика ХОБЛ осуществлялась на основании критериев GOLD 2009. Все пациенты, в том числе экс-курильщики, имели индекс курения более 10 пачка/лет и для лечения ХОБЛ, как минимум в течение трех последних месяцев, использовали только короткодействующие бронходилататоры. Интенсивность респираторных симптомов оценивалась с использованием стандартизованных шкал: кашель по 5-балльной аналоговой шкале, одышка по 4-балльной шкале MRC.

Цитологическая характеристика воспаления дыхательных путей оценивалась на основании цитогаммы индуцированной мокроты (ИМ). Выраженность системного воспаления определялась по концентрации биомаркеров в сыворотке крови: интерлейкинов (ИЛ-6, ИЛ-8) и фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) с использованием твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на основе ИФА-реагентов («Вектор-Бест», Россия) согласно рекомендациям производителя. Для оценки уровня С-реактивного белка (СРБ) использовался слайд-тест («Human», Германия).

У всех пациентов проведено исследование реактивности бронхов в ингаляционном тесте с метахолином («Pari Provotest 2», Германия). БГР определялась на основании значения кумулятивной дозы метахолина (провокационная доза – ПД<sub>20</sub>). По результатам метахолинового теста пациенты стратифицированы на 2 группы: в 1-ю группу (БГР «+») включены 22 человека с положительным тестом (ПД<sub>20</sub>  $\leq 0,471$  мг), во 2-ю группу (БГР «-») вошли 20 пациентов с отрицательным тестом (ПД<sub>20</sub>  $> 0,471$  мг). Статистическая обработка результатов проводилась при помощи общепринятых в медицине методов вариационной статистики. Для сравнительного анализа использовался критерий Манна-Уитни.

**Результаты исследования.** Феномен БГР обуславливает существенные различия между больными ХОБЛ по большинству показателей в сравниваемых группах. Выраженность респираторных симптомов (одышка и кашель) на 0,7-1,0 балл выше у больных с фенотипом БГР ( $p \leq 0,01$ ). Существенные различия отмечены при анализе частоты обострений: при ХОБЛ с БГР обострения были в 1,9 раз чаще, чем у пациентов 2-й группы ( $p < 0,05$ ). Анализ индекса массы тела (ИМТ) выявил существенные меж-

групповые различия: среднее значение ИМТ больных с синдромом БГР было значительно выше по сравнению с пациентами без БГР. Следует подчеркнуть, что показатели ОФВ<sub>1</sub> были сопоставимы в обеих группах больных ХОБЛ.

Сравнительный цитологический анализ ИМ, характеризующий особенности локального воспаления, выявил существенные: общее количество клеток (общий цитоз) в ИМ у пациентов с БГР в среднем в 2,2 раза выше по сравнению с больными 2-группы ( $p = 0,01$ ). Еще в большей степени различались сравниваемые группы больных по количеству макрофагов: при ХОБЛ с БГР абсолютное число этих клеток было выше в 3,5 раза ( $p = 0,0005$ ). Значительные межгрупповые различия обнаружены так же для лимфоцитов ( $p < 0,05$ ). Количество нейтрофилов у больных в зависимости от уровня бронхиальной реактивности не выявило существенных различий.

Наличие взаимосвязи между уровнем БГР и цитогаммой воспаления подтверждается и результатами корреляционного анализа, коэффициент корреляции ( $\rho$ ) между ПД<sub>20</sub> и общим цитозом у больных с БГР составляет  $-0,47$  и  $-0,44$  ( $p < 0,05$ ) между ПД<sub>20</sub> и количеством макрофагов.

Уровень концентрации системных биомаркеров у больных ХОБЛ существенно варьировал в зависимости от уровня бронхиальной реактивности, хорошо коррелируя с особенностями локального воспаления. Содержание ИЛ-6 и ИЛ-8 у больных с БГР было в 2,2 и 1,4 раза, соответственно, выше по сравнению с пациентами без БГР ( $p < 0,05$ ). Аналогичная тенденция наблюдалась в отношении СРБ и ФНО- $\alpha$ , уровень которых был так же выше у больных ХОБЛ с БГР, но не достиг статистически значимых различий. Вместе с тем, единственная статистически значимая корреляционная связь определена между ПД<sub>20</sub> и концентрацией СРБ ( $\rho = -0,46$ ;  $p < 0,05$ ).

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о взаимосвязи уровня реактивности дыхательных путей и выраженности воспалительного процесса у больных ХОБЛ. Оценка уровней биомаркеров системного воспаления позволяет предположить определенное влияние на формирование БГР не только локального, но и системного воспаления. Все вышесказанное позволяет рассматривать БГР в качестве индикатора выраженности воспалительной реакции дыхательных путей и ее

системных проявлений. Кроме того, наличие БГР у больных ХОБЛ является дополнительным патогенетическим обоснованием необходимости противовоспалительной терапии у данной категории больных.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Трофименко И. Н., Черняк Б. А. Бронхиальная гиперреактивность как фенотипическая характеристика хронической обструктивной болезни легких // Пульмонология. 2011. № 4. С. 49-53.
2. Brutsche M. H., Downs S. H., Schindler C. et al. Bronchial hyper-responsiveness and the development of asthma and COPD in asymptomatic individuals: SAPALDIA Cohort Study // *Thorax*. 2006. № 61. P. 671-677.
3. Hospers J. J., Postma D. S., Rijcken B. et al. Histamine airway hyper-responsiveness and mortality from chronic obstructive pulmonary disease: a cohort study // *Lancet*. 2000. № 356. P. 1313-1317.
4. Torok S. S., Leuppi J. D. Bronchial hyper-responsiveness and exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease // *Swiss. Med. Wkly*. 2007. Vol. 137. P. 385-391.

### BRONCHIAL HYPERRESPONSIVENESS AND INFLAMMATION IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE PATIENTS

I. N. Trofimenko, Chernyak B. A.

*State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk, Russia*

The aim of the study was to compare local and systemic inflammation intensity in COPD patients depending on a bronchial reactivity level. At 42 COPD outpatients induced sputum samples and serum concentrations of inflammatory cytokines were analyzed. Patients were divided in 2 groups: 22 patients with bronchial hyperresponsiveness (BHR) and 20 patients without BHR. COPD patients with BHR had significantly higher number of cells in induced sputum ( $p < 0,05$ ) and serum IL-6 and IL-8 than COPD patients without BHR ( $p < 0,05$ ). Thus, BHR in COPD is associated with more intensive local airway and systemic inflammation.

---

### ПРОБЛЕМЫ ГИПЕРДИАГНОСТИКИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ АЛЛЕРГИИ В РУТИННОЙ ПРАКТИКЕ АЛЛЕРГОЛОГА-ИММУНОЛОГА

Уханова О. П., Саламова М. А., Эбзеева И. И.

*ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница»,  
Медицинский научный центр ООО «АРСВИТЭ», Ставрополь, Россия*

Проблема гипердиагностики лекарственной аллергии (ЛА) встречается повсеместно и является основной в рутинной практике врача аллерголога-иммунолога. Данная статья отражает особенности приема пациентов с отсутствием лекарственной аллергии по типу анафилаксии. К сожалению, врачи-специалисты (стоматологи, гинекологи, хирурги, анестезиологи-реаниматологи, рентгенологи и др.) ориентируются в выборе лекарственных препаратов для лечения основного заболевания на лабораторные данные (не стандартизированных методов исследования лекарственной непереносимости). К таким методам относятся: определение IgG и/или IgG4, циркулирующих иммунных комплексов к лекарственным препаратам, иммунограммы, изучение воздействия гальваническими токами, которые не относятся I типу аллергических реакций, вызывающих опасения у специалистов при лечении основного заболевания [1, 3].

**Цель работы:** привлечение внимания специалистов к переоценке «сомнительных» лабораторных тестов и объективной интерпретации стандартных методов диагностики

лекарственной аллергии *in vivo* и *in vitro* в рутинной практике, развивающейся по I типу аллергической реакции.

**Материалы исследования:** мы сравнивали результаты различных «сомнительных», «не стандартизированных» лабораторных исследований, достаточно противоречивых в своих заключениях, подтверждающих лекарственную аллергию документально при отсутствии отягощенного аллергологического анамнеза (в частности атопии) у пациента.

**Методы исследования:** 1. С 2009 года проведен детальный сбор жалоб, анамнеза у 154 пациентов с диагнозом лекарственная аллергия на местные анестетики (92 человека – 59,7%), антибактериальные препараты (44 чел. – 28,5%), Rg-контрастные вещества (11 чел. – 7,2%), НПВП (5 чел. – 3,2%), инсулины (2 чел. – 1,3%).

2. диагностика пациентов *in vivo*: полоскательный тест по А. Д. Адо, patch-test, prick-test, в/к пробы [2].

3. диагностика пациентов *in vitro* к лекарственным аллергенам с помощью технологии ImmunoCAP и метод проточной цитометрии – тест дегрануляции базофилов на аппарате Cytomics FC500 [4].

4. мы отслеживали дальнейшее лечение основного заболевания у пациентов после опровержения диагноза ЛА к обозначенному (ным) лабораторией препаратов.

**Результаты исследования:** за период работы с такими пациентами были отмечены некоторые закономерности:

1. 90% обратившихся – женщины в возрасте 35-65 лет

2. Из неполной семьи (и/или одинокие)

3. Интеллектуальных профессий (иногда домохозяйки)

4. Аллергологический анамнез, как правило, не отягощен

5. 5-12 обращений за медицинской помощью в год по различным поводам (профилактическое обследование, госпитализация, амбулаторное лечение, физиотерапия и т.д.)

6. Имеют истероидную структуру личности, метаболический синдром

7. Наличие коморбидных состояний, как правило, хронических

8. Редко страдают инфекционными заболеваниями

9. Привержены к приему большого количества лекарственных препаратов различных групп, принимаемых в режиме off-label

10. Имеют большое кол-во различных обследований на лекарственную аллергию до приема врача аллерголога-иммунолога

11. Консультируются у нескольких специалистов одного и того же профиля параллельно

12. Часто являются «жалобщиками», т.к. редко удовлетворены консультацией квалифицированного аллерголога-иммунолога, опровергающего наличие ЛА у пациента.

У 100% вышеперечисленных пациентов с лекарственной непереносимостью местных анестетиков не было выявлено сенсибилизации I-го типа. Из них 44 пациента (47,8%) с коморбидными состояниями имели осложнения со стороны сердечнососудистой системы, ЦНС при введении эпинефрина, в комплексе с местным анестетиком. 38 пациентов (41,3%) с металлокерамическими изделиями в ротовой полости были сенсибилизированы к никеля сульфату, кобальта хлориду, хрому и палладию (моно- или поливалентно). Развитие контактного аллергического гингивита (стоматита) у данной категории пациентов обусловлено развитием IV-го типа аллергической реакции на низкомолекулярные вещества (гаптены). Особенностью этого заболевания является хронизация асептического воспалительного процесса, влияющего на качество жизни пациента. 10 пациентов (10,9%) страдали латексной аллергией (возможно занесение аллергена резиновыми турундами, перчатками и из карпулы).

Из 44 пациентов, с подозрением на ЛА к антибактериальным препаратам истинная сенсибилизация (к препарату одноименной группы) была выявлена только у 3-х пациентов. Однако этим пациентам *in vivo* была подобрана альтернативная группа антибиотиков для лечения основного заболевания.

Сенсибилизация к Rg-контрастным веществам была выявлена *in vivo* у одного пациента из 11. По жизненным показаниям (трещина верхней глазной вены справа после ДТП), на фоне премедикации был введен низкомолекулярный Rg-контрастный препарат и пациент был успешно оперирован. Сенсибилизацию к НПВП у 5 пациентов, вызывающих разные виды лекарственной непереносимости, безуспешно выявляли всеми методами исследования, используя только ибупрофен и диклофенак. На инсулины также не было выявлено ЛА.

**Выводы.** Большинство пациентов не страдали I типом аллергических реакций на лекарственные препараты в принципе.

Лечение основного заболевания препаратами, рекомендованными аллергологом, после доказанной безопасности, проводилось успешно, т.е. без местных и системных аллергических реакций.

**Заключение.** Нами было уделено большое количество времени на консультацию, дополнительное обследование этих пациентов, но больше всего времени было потрачено на убеждение пациентов в том, что у них лекарственной аллергии по типу анафилаксии нет. С результатами «сомнительных» лабораторных анализов, пациент всегда остается со своей проблемой наедине. Получив положительный результат исследования, и предоставив его врачу-специалисту, например стоматологу, последний не может взять на себя ответственность введения «подозреваемого» препарата, к тому же документально подтвержденного.

Получив отрицательный результат анализа, а также отсутствие какой-либо ответственности за интерпретацию результатов исследования со стороны лаборантов, пациент продолжает поиск причиннозначимого аллергена, следовательно, упускает время для своевременного лечения основного заболевания [2].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батулин В.А., Грудина Е.В. Диагностика лекарственной аллергии. Методическое пособие. Ставрополь, – 2006. 17 с.
2. Горячкина Л.А., Кашкин К.П. Клиническая аллергология и иммунология. Руководство для практических врачей. М. «Миклош». 2009. 430 С.
3. www.eurolab.ua
4. Особенности диагностики лекарственной аллергии. Лабораторные методы исследования. «PRO Аллергодиагностика». № 1., СПб. – 2015, С. 1-3.

### THE PROBLEM OF THE OVER-DIAGNOSIS OF DRUG ALLERGY IN ROUTINE PRACTICE OF THE ALLERGIIST-IMMUNOLOGIST

O. P. Ukhanova, M. A. Salamova, I. I. Ebzeeva

*Stavropol regional clinical hospital, Medical scientific center «ARSVITAE», Stavropol, Russia*

The problem of the over-diagnosis of drug allergy (DA) is found everywhere and is the principal one in routine practice of the allergist-immunologist. This article reflects the characteristics of patients with no drug allergy. Unfortunately, medical specialists (dentists, gynecologists, surgeons, anesthesiologists-resuscitators, radiologists, etc.) are guided by laboratory data (not standardized methods of research of drug intolerance) in a choice of medicines for treatment of the main disease. These methods include: the determination of IgG and/or IgG4, circulating immune complexes to medicines, immunograms, the study of the effect of the galvanic current which doesn't belong to the I type of the allergic reactions causing concern among experts in the treatment of the underlying disease.

---

### КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ С МУКОВИСЦИДОЗОМ

Файзуллаева Н. Я., Мусаходжаева Д. А., Шамсиев Ф. М.

*Институт иммунологии АН РУз, РСНПМЦ Педиатрии,  
Ташкент, Узбекистан*

Было проведено обследование 36 детей с муковисцидозом (МВ). Из них у 21 ребенка в фазе обострения и 15 – в фазе ремиссии. Проведенные иммунологические исследования показали, что в фазе обострения усугубляется иммунодефицитное состояние детей с МВ. У этих детей был достоверно сниженным уровень Т-лимфоцитов и субпопуляций Т-лимфоцитов – CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-клеток. В то время как уровень В-лимфоцитов был повышенным.

*Ключевые слова:* муковисцидоз, дети, иммунитет

Муковисцидоз – одно из наиболее часто встречающихся наследственных заболеваний, имеющих аутосомно-рецессивный тип наследования. Наиболее выраженные изменения при муковисцидозе происходят в слизеобразующих железах, поскольку продуцируемый ими вязкий секрет закупоривает выводные протоки, вызывая их расширение и последующее кистозное перерождение. Отсюда название: *mucus* – слизь, *viscous* – клейкий, вязкий [1]. Структура потовых, слезных и слюнных желез у больных муковисцидозом не изменяется, но увеличивается концентрация электролитов в их секретах. Значительно повышается уровень свободного и связанного с белком кальция в подчелюстной железе, а уровень натрия и хлоридов в плазме снижается. Основной механизм, приводящий к развитию муковисцидоза, не ясен. Предполагается, что заболевание вызвано генерализованным нарушением транспорта электролитов и воды сквозь ткань экзокринных желез [2]. У больных часто наблюдаются положительные аллергологические диагностические пробы кожные с аллергенами по аллергической реакции немедленного типа – до 50% случаев, часто – положительные пробы с аспергиллезным аллергеном [2].

**Целью исследования** явилось изучение особенности состояния клеточного и гуморального иммунитета у детей, больных муковисцидозом.

**Материалы и методы исследования.** На базе Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра (РСНПМЦ) Педиатрии были обследованы 36 детей, больных муковисцидозом, в возрасте от 4 до 8 лет. В состав обследованных вошли 26 (72,2%) детей с легочной формой, 4 (11,1%) ребенка со смешанной формой и 6 (16,7%) детей с кишечной формой. Обследование проводилось как в фазе обострения у 21 (58,3%) больного, так и в фазе ремиссии – у 15 (48,3%) пациентов. Контрольную группу составляли 17 детей соответствующего возраста. Основанием для постановки диагноза муковисцидоз явились: жалобы, данные анамнеза, результаты общеклинических, биохимических и функциональных методов исследований.

Иммунологические исследования проводились изучением количественного опреде-

ления лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD20 с помощью моноклональных антител серии LT (Институт иммунологии, ТОО «Сорбент», Москва, Россия) в периферической крови в реакции поверхностной иммунофлюоресценции. Концентрацию IgG, IgA и IgM определяли в сыворотке крови по Manchini. Фагоцитарная активность определялась по способности нейтрофилов поглощать латексные частицы.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением прикладных программ для статистической обработки данных Statistica® версии 6.0. Достоверность различий между сравниваемыми группами оценивали по критериям Стьюдента. Различия сравниваемых величин признавали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В анамнезе больных детей зафиксированы перенесенные в прошлом частые простудные заболевания (ОРВИ, грипп), воспалительные заболевания верхних дыхательных путей (острые бронхиты, острые пневмонии, заболевания ЛОР-органов).

Анализ полученных результатов показал, что при муковисцидозе иммунологические показатели отличаются от параметров контрольной группы.

Сравнительная характеристика относительного содержания Т-лимфоцитов у детей с МВ выявила достоверное их снижение ( $45,8 \pm 0,8\%$  против  $50,6 \pm 1,0\%$  в контроле,  $P < 0,05$ ), но наиболее глубокий дефицит наблюдается при обострении ( $42,9 \pm 0,9\%$ ,  $P < 0,01$ ). Анализ результатов изучения субпопуляционного состава лимфоцитов показал, что при МВ наблюдается снижение уровня Т-хелперов/индукторов ( $27,4 \pm 0,6\%$  против  $32,3 \pm 0,8\%$  в контроле,  $P < 0,05$ ) и тенденция к снижению Т-супрессоров/цитотоксических лимфоцитов. При обострении у детей с МВ число CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов снизилось в 1,3 раза, составляя в среднем  $24,5 \pm 0,4\%$  ( $P < 0,01$ ). Супрессорная активность была достоверно сниженной ( $15,6 \pm 0,5\%$ ,  $P < 0,05$ ). CD4<sup>+</sup>-лимфоциты, выполняя свою хелперную функцию, помогают, во-первых, В-клеткам превращаться в антителопродуцирующую плазматическую клетку; во-вторых, CD8<sup>+</sup>-лимфоцитам – в зрелую цитотоксическую Т-клетку; в третьих, макрофагам осуществлять эффекты гиперчувствительности.

Указанные функции Т-лимфоцитов/хелперов реализуются за счет того, что они в свою очередь распределяются на две субпопуляции – Th1 и Th2 типов, выполняющие разные хелперные функции за счет продукции разных цитокинов-интерлейкинов [4].

Цитотоксический иммунный ответ играет важную роль в защите организма от внутриклеточных патогенов и включает неспецифическое звено – NK-клетки, и антигенспецифическое звено адаптивного иммунного ответа – ЦТЛ [3]. Достоверно низкая экспрессия антигенов CD16 на лимфоцитах у обследованных нами больных детей ( $6,8 \pm 0,8\%$  во время ремиссии и  $7,8 \pm 0,7\%$  во время обострения,  $P < 0,05$ ) по сравнению с контролем ( $11,6 \pm 0,8\%$ ) может свидетельствовать о слабой резистентности организма.

При изучении неспецифического фактора защиты было выявлено, что у больных детей широко распространена функциональная недостаточность фагоцитов ( $44,9 \pm 0,8\%$  при ремиссии,  $42,3 \pm 0,8\%$  при обострении, против  $49,4 \pm 1,4\%$  в контроле,  $P < 0,01$ ). Фагоцитарная реакция инициирует иммунный ответ: снижение активности фагоцитарной защиты, естественно, обеспечивает низкий уровень иммунного ответа, в том числе гуморального, задержку продуктов ассимиляции, нарушения баланса и толерантности к аутоантигенам [3,4]. В-система представлена количественным содержанием В-лимфоцитов с молекулой CD20 и уровнем иммуноглобулинов классов IgG, IgA, IgM. CD20+ лимфоциты принимают непосредственное участие в специфических иммунных защитных реакциях организма [3]. Сравнительная характеристика содержания циркулирующих CD20+ клеток показала, что при МВ уровень этих клеток достоверно повышен (в период ремиссии  $28,6 \pm 0,7\%$ ,  $P < 0,05$ ) с максимальным значением во время обострения ( $33,1 \pm 0,8\%$ ,  $P < 0,01$ ). Полученные результаты позволяют считать, что при бронхо-легочных заболеваниях характерна активация В-клеточного звена иммунной системы на фоне дисбаланса в популяции Т-лимфоцитов.

Изучение концентрации основных классов иммуноглобулинов G, A и M показало, что при МВ происходит снижение синтеза IgG ( $538 \pm 8,6$  мг/% против  $765 \pm 6,9$  мг/% в контроле) и IgA ( $67,2 \pm 4,5$  мг/% против  $89,5 \pm 5,3$  мг/%), ( $P < 0,05$ ). Что касается IgM, его содержание ха-

рактеризовалось достоверным повышением при обострении ( $162,8 \pm 7,4$  мг/%), ( $P < 0,01$ ). Как известно, этот тип антител вырабатывается против инфекционных агентов, активирует комплемент и усиливает фагоцитоз [3]. Возможно, повышенный синтез IgM при обострении у детей с МВ, связан с присоединением инфекционного процесса.

Таким образом, проведенные исследования показали, что процесс развития иммунопатологического состояния у детей с муковисцидозом имеет свои характерные черты и в большей степени обусловлен функциональной несостоятельностью иммунокомпетентных клеток. Установлено, что различным клиническим состояниям муковисцидоза соответствуют определенные иммунные нарушения, определяющие тяжесть и степень прогрессирования процесса. Нельзя исключить и важную роль функциональных нарушений со стороны таких эффекторных клеток, как макрофаги, участвующих в процессинге антигена и его представлении наивному Т-хелперному лимфоциту, так как, именно на этом этапе происходит ряд регуляторных событий, определяющих направление иммунного ответа [3]. Сложность патогенеза, каскадность патологических процессов и многообразие механизмов реализации, а также глубина иммунных повреждений указывают на необходимость проведения длительной и интенсивной иммунокорректирующей терапии для достижения стойкой клинико-иммунологической ремиссии. Успешное решение этой проблемы связано с правильным подходом к восстановлению функционирования иммунной системы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Муковисцидоз. Современные достижения и актуальные проблемы. Методич. рекомендации. Издание четвертое переработанное и дополненное / под редакцией Н. И. Капранова, Н. Ю. Каширской. М., 2011. 124 с.
2. Кондратьева Е. И. и др. Генетические и иммунологические маркеры воспалительного процесса при муковисцидозе у детей. Ж. Леч. Врач. – 2008; 1: 78-82
3. Ярилин А. А. Основы иммунологии: Учебник. – М.: Медицина, 1999. – 608 с.
4. Bartlett JR, Friedman KJ, Ling SC, et al. Gene Modifier Study Group. Genetic modifiers of liver disease in cystic fibrosis. JAMA 2009; 302 (10):1076-83.

## THE CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS

Fayzullaeva N. Y., Musakhodzhayeva D. A. Shamsiyev F. M.

*Institute of Immunology of the Academy of Sciences of Uzbekistan,  
RSSPMC of Pediatrics, Tashkent, Uzbekistan*

There were examined 36 children with cystic fibrosis (CF). Of these, 21 children in the acute phase and 15 – in remission. Conducted immunological studies have shown that in acute compounded immunodeficiency children with CF. These children had significantly reduced levels of T-lymphocytes and subsets of T lymphocytes – CD4<sup>+</sup> – and CD8<sup>+</sup> – cells. While the level of B lymphocytes was increased.

*Key words:* cystic fibrosis, children, immunity

## РИСК ОНКОПРОЛИФЕРАЦИИ У ЖЕНЩИН, ПРИНИМАЮЩИХ ОРАЛЬНЫЕ КОНТРАЦЕПТИВЫ

Цигулева О. А.<sup>1</sup>, Мамонова И. П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Алтайский государственный медицинский университет;*

<sup>2</sup>*Краевая клиническая больница скорой медицинской помощи, Барнаул, Россия*

Доказано, что уровни цитокинов И-1 и И-6 достоверно не изменяются от длительности приема оральных контрацептивов, исключая TNF-α, который начинает критически расти и может являться маркером онкопролиферации. Содержание альфа-2-гликопротеина увеличивается в десятки раз, вне зависимости от длительности приема оральных контрацептивов. Уровень альфа-2-макроглобулина значительно снижается при длительном приеме микродозированных контрацептивов. Доказано, что альфа-2-гликопротеин не только маркер беременности, но является маркером «группы риска» для лиц, длительно принимающих оральные контрацептивы.

**Введение.** У женщин, принимающих гормональные препараты в целях контрацепции, повышен риск развития пролиферативных процессов, включая злокачественные [1]. У этой категории лиц в возрасте до 20 лет риск развития рака молочной железы в 20 раз выше, чем у женщин, начавших прием контрацептивов в возрасте за 20 лет и после родов. Известно, что гормональная контрацепция влияет на липидный, минеральный обмены [2], но не ясно, связана ли она с изменениями в иммунной системе?

**Целью** нашей работы было изучение изменений в сыворотке крови ряда цитокинов, содержание которых изменяется при злокачественной пролиферации [3]. Также изучались уровни двух белков семейства макроглобулинов, являющихся основными транспортерами данных цитокинов к клеткам-мишеням, при применении микро- и низкодозированных оральных

контрацептивов. Альфа-2-макроглобулины – универсальные ингибиторы протеиназ и регуляторы межклеточного взаимодействия, осуществляют влияние путем транспорта факторов роста, цитокинов, липидов и других регуляторных субстанций [4]. Альфа-2-гликопротеины – структурные и функциональные аналоги альфа-2-макроглобулина. Известно, что концентрация альфа-2-гликопротеина повышается при беременности, и он является маркером гестации. Однако, последнее время значительное увеличение альфа-2-гликопротеина обнаружено при раке молочной железы и раке яичников [5].

**Материалы и методы.** Нами обследовано 57 женщин, в возрасте 24±0,9 лет, принимавших микро- и низкодозированные оральные контрацептивы в течение года, двух и более двух лет. Из них 36 женщин принимали микродозированные оральные контрацептивы, содер-

жащие 20 мкг этинилэстрадиола: «Новинет», «Линдинет 20», «Джес». 21 женщина принимала низкодозированные оральные контрацептивы, содержащие 30 мкг этинилэстрадиола: «Ригевидон», «Ярина», «Регулон», «Жанин», «Диане 30». Контрольную группу составили 30 практически здоровых женщин в возрасте  $26 \pm 0,4$  лет, не принимавшие оральные контрацептивы.

Содержание альфа-2-макроглобулина и альфа-2-гликопротеина в крови определяли методом количественного ракетного иммуноэлектрофореза. Уровни И-1, И-6, TNF- $\alpha$  исследовали методом твердофазного ИФА при помощи тест-системы «Вектор-Бест». Для статистической обработки результатов использовалась программа биостатистики (Sigma).

**Результаты и обсуждение.** Нами установлено, что уровни иммунорегуляторного И-6, равно как и концентрация И-1 не отличались от контрольных показателей при приеме оральных контрацептивов, вне зависимости от длительности приема препарата и дозы эстрогенового компонента. Уровень И-6 составил в контроле  $3,5 \pm 0,5$  пкг/мл, у лиц, принимавших микродозированные контрацептивы более 2 лет И-6 снижался до  $1,0 \pm 0,7$  пкг/мл. При приеме низкодозированных контрацептивов более 2 лет уровень И-6 – фактически не отличался от нормы –  $3,4 \pm 1,0$  пкг/мл. Уровень И-1 в контроле составил  $3,0 \pm 1,2$  пкг/мл. При приеме микродозированных контрацептивов более 2 лет И-1 составил  $3,2 \pm 1,0$  пкг/мл. При приеме низкодозированных контрацептивов более 2 лет И-1 соответствовал норме –  $3,1 \pm 1,1$  пкг/мл. TNF- $\alpha$  в группе контроля составлял  $4,5 \pm 0,5$  пкг/мл. При приеме микродозированных контрацептивов более 2 лет TNF- $\alpha$  убывал до  $1,0 \pm 0,7$  пкг/мл. При приеме низкодозированных контрацептивов более 2 лет – уровень TNF- $\alpha$  возрастал до  $8,5 \pm 2,5$  пкг/мл;  $p < 0,5$ , что заставляет обратить внимание на этот параметр. Альфа-2-макроглобулин в группе контроля составлял  $2,0 \pm 0,1$  г/л. При приеме микродозированных контрацептивов более 2 лет – практически не изменялся –  $1,9 \pm 0,8$  г/л. При приеме низкодозированных контрацептивов более 2 лет – умеренно возрастал до  $3,4 \pm 0,2$  г/л;  $p < 0,5$ . Альфа-2-гликопротеин в группе контроля составлял  $0,003 \pm 0,001$  г/л. При приеме микродозированных контрацептивов более 2 лет –  $0,120 \pm 0,008$  г/л. При приеме низкодозированных контрацептивов более 2 лет – возрастал до  $0,127 \pm 0,012$  г/л. Уровни альфа-2-гликопротеина после длительного приме-

нения оральных контрацептивов значительно превышали норму у 47 женщин (83%).

Риск онкозаболевания обнаружен у 24 женщин (42%) и включал отягощенную наследственность (наличие онкозаболевания у трех и более родственников, значительный рост TNF- $\alpha$  и альфа-2-гликопротеина). Увеличение альфа-2-гликопротеинов, а также рост TNF- $\alpha$  следует рассматривать, как основание для отмены приема оральных контрацептивов, независимо от дозировки и длительности применения. По нашим данным, цитокины И-6, И-1 не оказывают существенного влияния на развитие онкопролиферации. В то же время, альфа-2-макроглобулин и альфа-2-гликопротеин, дублирующий функцию альфа-2-макроглобулина, позволяют рассматривать их как маркеров онкопролиферации при длительном применении оральных контрацептивов. Известно, что оральные контрацептивы снижают антиоксидантный потенциал крови, а окисление альфа-2-макроглобулина резко изменяет его сродство к цитокинам и факторам роста. Наступает необратимое повреждение молекул альфа-2-макроглобулина, накопление антител к ним. В то же время, альфа-2-гликопротеин не подвержен «оксидантному стрессу» и при длительном применении оральных контрацептивов и повреждении молекул альфа-2-макроглобулина часть функций присущих ему, альфа-2-гликопротеин забирает себе. Поскольку он является активнейшим стимулятором пролиферации, особенно злокачественной, этот механизм, с нашей точки зрения, может быть ключевым в развитии онкопроцессов, на фоне длительного приема гормональных контрацептивов.

**Выводы.** Всем женщинам, применяющим оральные контрацептивы хотя бы в течении года, следует определять альфа-2-макроглобулин, альфа-2-гликопротеин и TNF- $\alpha$ . При подозрении на возможную онкопролиферацию следует немедленно отменить прием оральных контрацептивов и переводить женщину на другой вид контрацепции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зорина В.Н., Промзелева Н.Д., Третьякова Т.Р. и др. Изменение цитокинового профиля, а также уровня белков-транспортеров при пролиферативных заболеваниях придатков матки//Медицинская иммунология.– 2009.– № 11 (2–3).– С. 185-191.

2. Palan P.R., Strube F., Letko J., Sadikovic A., Mikhail M.S. Effects of oral, vaginal and transdermal hormonal contraception on serum levels of coenzyme g (10), vitamin e, and total antioxidant activity // *Obstet Gynecol Int.* – 2010. pii: 925635.
3. Bjelic-Radisic V., Petru E. Hormonal contraception and breast cancer risk // *Wien Med Wochenschr.* – 2010. – Vol 160, № 19-20. P.483-486.
4. Armstrong P.B., Quigley J.P. Alpha-2-macroglobulin: an evolutionary conserved arm of the innate immune system // *Dev. Comp. Immunol.* – 1999. – Vol. 23. – P. 375-390.
5. Petersen C.M. Alpha 2-macroglobulin and pregnancy zone protein/ Serum level, Alpha 2-macroglobuline receptors, cellular synthesis and aspects of function relation to immunology // *Dan. Med. Bull.* – 1993. – Vol. 40. – P. 409-446.

## ONKOPROLIFERATION RISK AT THE WOMEN ACCEPTING ORAL CONTRACEPTIVES

Tsiguleva O. A.<sup>1</sup>, Mamonova I. P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Altai state medical university; <sup>2</sup>Regional clinical hospital of an emergency medical service, Barnaul, Russia

Cytokine Il-1, Il-6 levels does not change depending on the duration of oral contraceptive, besides TNF- $\alpha$ , which increases and can be an onkoproliferation marker. The contents alpha-2-glycoprotein increases in tens times, regardless of the duration of use of oral contraceptives. Level of alpha-2-macroglobulin considerably decreases at long reception of the microdosed contraceptives. It is proved that the alpha-2-glycoprotein is not just a marker of pregnancy, but a marker of group of risk for persons, it is long accepting oral contraceptives.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-9 ПРИ ГЕРПЕТИЧЕСКОМ УРЕТРИТЕ

Чепурнова Н. С., Маркелова Е. В.

*ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, Россия*

Ежегодно в мире регистрируется около 300 000 человек с генитальным герпесом. Увеличение лиц с герпетической инфекцией представляет социально-экономическую проблему для многих стран мира. Существуют единичные данные о негативной роли ММП-9 при герпетическом уретрите, при котором ММП-9 оказывает повреждающее действие на межклеточный матрикс, способствуя расщеплению коллагена, тем самым создавая условия для распространения инфекции.

*Ключевые слова:* генитальный герпес, ММП-9, межклеточный матрикс

Способность к длительному персистированию герпесвирусов обуславливается наличием у них многочисленных механизмов, воздействующих на формирование противовирусной иммунной защиты и проводящих к уклонению патогенов от иммунного надзора [1]. Одним из механизмов персистенции вируса является стимуляция синтеза «неэффективных» IgG-антител, которые супрессируют иммунитет, подавляют НК-клетки, стимулируют и усили-

вают продукцию провоспалительных медиаторов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО $\alpha$ ), которые усиливают продукцию матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9), а избыток ММП-9 играет роль в распространении вируса и прогрессировании болезни [2]. Существуют единичные данные о негативной роли ММП-9 при герпетическом уретрите, при котором ММП-9 оказывает повреждающее действие на межклеточный матрикс, способствуя расщеплению коллагена.

**Цель исследования.** Охарактеризовать уровень MMP-9 у мужчин с хроническим герпетическим уретритом.

**Материалы и методы.** Проведено исследование уровня MMP-9 в сыворотке венозной крови у 20 мужчин с хроническим герпетическим уретритом в стадии обострения. Группу сравнения составили 20 практически здоровых мужчин-добровольцев. Определение уровня MMP-9 в сыворотке крови проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Расчеты проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл. Статистическая обработка материала проводилась методом описательной статистики с применением t-критерия Стьюдента с помощью компьютерной программы «Biostat».

**Результаты исследования.** Анализ показал, что уровень MMP-9 у исследуемой груп-

пы превышал контрольные значения в 2 раза ( $624,52 \pm 28,83$  пг/мл против  $311,91 \pm 25,53$  пг/мл,  $p < 0,001$ ), его концентрация снижалась в период ремиссии, но не достигала контрольных величин ( $460,83 \pm 12,65$  пг/мл).

**Выводы.** При хроническом герпетическом уретрите выявлено существенное увеличение уровня MMP-9, что отражает значительное повреждение межклеточного матрикса и позволяет считать повышение MMP-9 одним из патогенетических механизмов реактивации генитального герпеса.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hagglund R. Role of ICP0 in the strategy of conquest of the host cell by herpes simplex virus 1 / R. Hagglund, B. Roizman // J. Virol. – 2004. – V. 78, № 5. – P. 2169-2178.
2. Higuchi H. Complement receptor type 3 (CR3) – and Fc receptor (FcR) – mediated matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) secretion and their intracellular signalling of bovine neutrophils / H. Higuchi, M. Ishizaka, H. Nagahata // Vet. Res. Commun. – 2007. – V. 31, № 8. – P. 985-991.

## MATRIX METALLOPROTEINASE-9 IN HERPETIC URETHRITIS RESEARCH

N.S. Chepurnova, E.V. Markelova

*“Vladivostok State Medical University” Ministry of Health of the Russian Federation, Vladivostok, Russia*

About 300 000 people with genital herpes are registered in the world annually. The increasing amount of people with herpes infection is a socio-economic problem for many countries. There are isolated data of the negative role of MMP-9 in herpetic urethritis, wherein the MMP-9 has a damaging effect on the intercellular matrix, promoting cleavage of collagen, thereby creating the conditions for infection.

*Key words:* genital herpes, MMP-9, extracellular matrix

## ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ОЦЕНКЕ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ИММУНОХИМИОТЕРАПИИ

Чуксина Ю. Ю., Яздовский В. В., Шевелев С. В.,  
Катаева Е. В., Голенков А. К.

*ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический  
институт им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия*

В статье представлено исследование прогностической значимости иммунофенотипических маркеров клеток опухолевого клона у больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом в динамике проводимой иммуно-химиотерапии – R-FC (Ритуксимаб, Флударабин, Циклофосфан). Экспрессия CD25 на В-лимфоцитах может быть прогностическим маркером качества ремиссии, прогрессирования или рецидива заболевания у больных ХЛЛ.

**Введение.** В последние десятилетия достигнуты значительные успехи в лечении больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ), связанные с применением режимов терапии, содержащих препараты моноклональных антител (МАТ). Одним из современных эффективных иммунотерапевтических режимов признан R-FC, включающий ритуксимаб, флударабин, циклофосфан, позволяющий добиваться более чем у 40% пациентов эрадикации заболевания [4]. Ритуксимаб – химерное МАТ к антигену CD20, который экспрессируется на поверхности клеток-предшественников и зрелых В-лимфоцитов, но не на стволовых клетках, что дает возможность пулу В-клеток после терапии ритуксимабом восстанавливаться за счет нормального гемопоэза [2].

Метод многоцветной проточной цитометрии позволяет быстро и с максимальной точностью оценить наличие или отсутствие минимальной остаточной болезни (МОБ), что определяет качество ремиссии и показания к дальнейшей тактике лечения [1]. Основными известными иммунофенотипическими маркерами прогноза при ХЛЛ являются CD38 и ZAP-70, хотя данные литературы относительно их прогностической значимости противоречивы [3].

Нами была отмечена переменная экспрессия рецептора к ИЛ-2 (CD25) на В-лимфоци-

тах у больных ХЛЛ, поэтому изучение возможной прогностической роли данного маркера у больных ХЛЛ в процессе лечения показалось нам интересным и актуальным.

**Цель исследования:** выявление прогностической значимости иммунофенотипических маркеров клеток В-ХЛЛ при оценке клинической эффективности программы R-FC у первичных и резистентных больных ХЛЛ.

**Материалы и методы:** Иммунофенотипическое исследование проводилось 60 больным ХЛЛ до начала лечения, в процессе и после проведения 6 курсов терапии R-FC. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови (ПК) проводилось методом 4-цветной проточной цитометрии (“Becton Dickinson”, США) с использованием МАТ к антигенам CD3, CD19, CD20, CD22, CD5, CD16, CD56, CD23, CD25, HLA-DR, CD38 (“Becton Dickinson”, США). Клиническую эффективность лечения больных ХЛЛ оценивали по критериям NCI-WG (1996) как полную ремиссию (ПР), частичную ремиссию (ЧР), стабилизацию (СБ) и прогрессирование болезни (ПБ). Иммунофенотипическая диагностика минимальной остаточной болезни проводилась методом 4-цветной проточной цитометрии по стандартизованному европейско-американскому протоколу [1]. Выраженность экспрессии антигенов оценивалась по пара-

метру средней интенсивности флюоресценции (MFI).

**Результаты.** До начала терапии R-FC больные в дебюте заболевания составили 35%, больные с рецидивом заболевания составили 65%. У 50% пациентов выявлена 2 стадия, у 35% пациентов – 3 стадия, у 15% пациентов – 4 стадия ХЛЛ. Высокое содержание CD20<sup>dim</sup> В-лимфоцитов ПК установлено у 99% пациентов в диапазоне от 50 до 96% позитивных клеток.

В процессе проведенного лечения из 60 пациентов СБ отмечалась у 7 пациентов, ПБ зарегистрирована у 7 пациентов, ЧР достигли 15 пациентов после 2-6 курсов, ПР определялась у 31 пациента, из них иммунофенотипическая ремиссия – у 30% к 5-6 курсам терапии.

В процессе достижения клинко-гематологической ремиссии отмечалась нормализация количества CD20<sup>+</sup> лимфоцитов, уровень CD25<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup> клеток достоверно ( $p < 0,001$ ) снижался при достижении больными ЧР ( $11,5 \pm 4,14\%$ ) и ПР ( $0,73 \pm 0,13\%$ ). При ПБ, наоборот, выявлено существенное ( $p < 0,005$ ) увеличение числа CD25<sup>+</sup> В-лимфоцитов ( $46,8 \pm 5,4\%$ ) по сравнению с уровнем до начала лечения ( $23,5 \pm 6,5\%$ ).

При оценке уровня экспрессии известного прогностического фактора – CD38 на В-лимфоцитах больные были разделены на 2 группы: 1-я группа – пациенты, у которых уровень CD38<sup>+</sup> клеток до проведения программы RFC был ниже 20% (диапазон 0,1-18%), во 2-й группе уровень CD38<sup>+</sup> клеток был выше 20% (диапазон 20-88%), В группе с низкой экспрессией CD38<sup>+</sup> общее число ответивших пациентов (достигших ЧР и ПР) было выше (93%), в группе с высокой экспрессией CD38<sup>+</sup> общее число ответивших пациентов оказалось ниже – 73%, но достоверных различий между этими показателями выявлено не было. При достижении ЧР и ПР количество CD38-позитивных клеток достоверно снижалось в обеих группах пациентов и составило  $0,52 \pm 0,04\%$  и  $4,78 \pm 0,09\%$  соответственно. Экспрессия CD38 на В-лимфоцитах коррелирует со снижением общей выживаемости пациентов ХЛЛ и резистентностью к терапии.

Нами обнаружена вариабельная экспрессия CD25<sup>+</sup> на В-лимфоцитах у больных ХЛЛ в дебюте заболевания (диапазон от 0,02% до 87% позитивных клеток). Появление на поверхности В-лимфоцитов R для ИЛ-2 (CD25) свидетельствует об усилении их пролиферации,

индуцируемой с помощью ИЛ-2 преимущественно Th2-лимфоцитами или их предшественниками [5].

Больные ХЛЛ были разделены на группы в зависимости от исходного уровня экспрессии антигенов CD25 на В-лимфоцитах, определяемого на этапе иммунофенотипической диагностики: 1 группа – менее 20% позитивных клеток и 2 группа – более 20% позитивных клеток.

До начала терапии RFC высокое (более 20% позитивных клеток) содержание CD25<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup> лимфоцитов было отмечено у 92% пациентов, вышедших в рецидив после предшествующих курсов терапии, в то время как у пациентов в дебюте заболевания этот показатель составил 37%. При наличии уровня CD25<sup>+</sup> В-лимфоцитов более 20% вероятность возникновения рецидива была достоверно выше, чем при отсутствии экспрессии CD25 на В-клетках ( $p = 0,000013$  по Фишеру; отношение шансов = 19,5). Такой зависимости по экспрессии антигена CD38 на В-лимфоцитах установлено не было.

При сравнительной оценке эффективности терапии больных ХЛЛ в зависимости от исходного уровня CD25<sup>+</sup> В-лимфоцитов было выявлено, что общее число ответивших на терапию (ЧР+ПР) существенно не отличалось в обеих группах пациентов, но прогрессирование болезни (5 пациентов) было зафиксировано только в группе с высоким исходным уровнем CD25<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> лимфоцитов, у пациентов с низким исходным уровнем экспрессии CD25<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> прогрессии заболевания не отмечалось.

При оценке МОБ у пациентов с полной клинко-гематологической ремиссией было обнаружено, что при наличии исходного уровня CD25<sup>+</sup> В-лимфоцитов более 20% вероятность достижения МОБ-негативной ПР была достоверно ниже, а вероятность достижения МОБ-позитивной ПР достоверно выше, чем у больных с отсутствием экспрессии CD25 на В-лимфоцитах ( $p = 0,0377$  по Фишеру, отношение шансов 8,9).

#### **Заключение.**

1. Оценка МОБ позволяет определить качество ремиссии и выбрать индивидуальную тактику терапии;

2. Уровень экспрессии CD25 на В-лимфоцитах при ХЛЛ уже на этапе первичной диагностики может быть маркером высокой

вероятности рефрактерности к проводимому режиму терапии и низкого качества ремиссии заболевания;

3. Уровень экспрессии CD25 на В-лимфоцитах при ХЛЛ может быть прогностическим фактором прогрессирования и рецидива заболевания.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. C. Rawstron, N. Villamor, M. Ritgen, S. Bottcher, P. Ghia, J.L. Zehnder, G. Lozanski, C. Moreno et al. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic. Leukaemia (2007) 21, 956-964
2. Boye J., Elter T., Engert A. An overview of the current clinical use of the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab. Ann. Oncol 2003; 14: 520-535
3. del Poeta G., del Principe M.I., Irno Consalvo M.A., Maurillo L., Buccisano F., Venditti A., et al., The addition of rituximab to fludarabine improves clinical outcome in untreated patients with ZAP-70-negative chronic lymphocytic leukaemia. Cancer, 2005; 104: 2743-2752
4. Hallek V., Fisher K., Fingerle-Rowson G. et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomized, open-label, phase 3 trial. Lancet, 2010; 376 (9747): 1164-74
5. Ярилин А. А. Иммунология- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010, с.453

### PROGNOSTIC SIGNIFICANCE ASSESSMENT IMMUNOPHENOTYPING MARKERS IN MINIMAL RESIDUAL DISEASE IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTING LEUKEMIA AFTER IMMUNOCHEMOTHERAPY

Y. Y. Chuksina, V. V. Yazdovskiy, S. V. Shevelev, E. V. Kataeva, A. K. Golenkov

*State budgetary healthcare institution of Moscow region, Moscow Regional  
Research Institute M. F. Vladimirovskiy's, Moscow, Russia*

The article presents a study of significant immunophenotypic markers in the prognosis of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia in the dynamics of ongoing immunochemotherapy-R-FC (rituximab, fludarabine, cyclo-phosphamide). Expression of CD25 on B-lymphocytes can be a predictor of the quality of remission, progression or recurrence of the disease in patients with CLL.

### Т-КЛЕТОЧНОЕ ЗВЕНО ИММУНИТЕТА КАК ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ ТЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗА ЗАБОЛЕВАНИЯ ПРИ ТЕРАПИИ В-ХЛЛ

Чуксина Ю. Ю., Шевелев С. В.

*ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва*

В статье представлено исследование Т-клеточного звена иммунитета у больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом в динамике проводимой иммуно-химиотерапии – R-FC (Ритуксимаб, Флударабин, Циклофосфан).

**Введение.** В-клеточный хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) развивается при накоплении медленно пролиферирующих, долгоживущих, CD5<sup>+</sup> В-клеток с дефектами апоптоза и характеризуется разнообразием клинической картины. Высокая эффективность иммуно-химиотерапии в лечении больных ХЛЛ пре-

паратами на основе моноклональных антител (МАТ) в различных сочетаниях подтверждена множеством протоколов клинических испытаний. Программа R-FC (Ритуксимаб, Флударабин, Циклофосфан) доказана фактами значительного увеличения беспродвинутой и общей выживаемости пациентов, особенно

с рецидивирующим и рефрактерным характером течения заболевания. [4, 5]. Ритуксимаб не воздействует на Т-клетки, и уровень иммуноглобулинов в плазме остается стабильным. Как следствие, при терапии ритуксимабом редко встречаются оппортунистические инфекции [3]. Несмотря на достигнутые успехи, поиск иммунологических критериев течения и прогноза заболевания при терапии ХЛЛ, остается актуальным.

**Цель:** выявление взаимосвязи между изменением фенотипических характеристик циркулирующих лимфоцитов, отражающих их функциональную гетерогенность (Т-регуляторные клетки, субпопуляции Т-хелперных лимфоцитов, В-лимфоциты, НК-клетки) и клинической эффективностью программы RFC у первичных и резистентных больных ХЛЛ.

**Материалы и методы.** Обследовано 60 больных ХЛЛ, ранее не леченных или резистентных к предшествующим курсам химиотерапии. У 50% пациентов выявлена 2 стадия заболевания, у 50% пациентов – 3 и 4 стадии. Пациенты были обследованы до начала лечения, в процессе и после проведения 6 курсов терапии R-FC. Кратность иммунофенотипических исследований составила от 2 до 7.

Клиническую эффективность лечения больных ХЛЛ оценивали по критериям NCI-WG (1996) как полную ремиссию (ПР), частичную ремиссию (ЧР), стабилизацию (СБ) и прогрессирование болезни (ПБ). Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводилось методом 4-цветной проточной цитометрии («Becton Dickinson», США) по В-, Т-, НК-клеточным антигенам и маркерам их активации. Оценивалась экспрессия CD25, HLA-DR, CD95, CD62L на Т- и В-лимфоцитах, определялось содержание циркулирующих Т-регуляторных клеток (CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>hi</sup>/CD127<sup>-</sup>), Т-хелперных лимфоцитов 2 типа (CD4<sup>+</sup>/CD294<sup>+</sup>), соотношение наивных Т-хелперных лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>) и Т-клеток памяти (CD4<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>). Выраженность экспрессии антигенов оценивалась по параметру средней интенсивности флюоресценции (MFI).

Нами проведен анализ фенотипических характеристик Т- и НК-лимфоцитов, отражающих их функциональную гетерогенность у больных ХЛЛ в процессе терапии. До начала терапии у больных ХЛЛ выявлено выраженное увеличение абсолютного числа Т-лимфоцитов (5046,7±846,3) за счет Т-цитотоксической

(2434,7±471,1), но не Т-хелперной субпопуляции (1995,6±325), снижение содержания НКТ-лимфоцитов (1,28±0,27%) по сравнению с нормальными показателями (5,0±1,2%).

В результате лечения при достижении ЧР и ПР отмечено восстановление до нормы абсолютного числа CD3<sup>+</sup> лимфоцитов, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, НК-клеток (CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) и НКТ-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>) только у 50% пациентов. Даже при достижении ПР у 75% пациентов сохранялось выраженное снижение абсолютного количества CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> лимфоцитов (391,1±0,06) по сравнению с нормальными показателями (895±0,23). При ПБ выявлено усугубление дисбаланса в содержании цитотоксической (CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) и хелперной (CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>) субпопуляций Т-лимфоцитов, рост числа НК-клеток. Содержание Т-регуляторных клеток (CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>hi</sup>CD127<sup>-</sup>) до лечения было снижено (1,9±0,5%) по сравнению с нормой (3,7±2,1%), при достижении ПР отмечалось их увеличение до 4,8±1,4%, что сопровождалось и увеличением активированных Т-лимфоцитов: CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> (30,8±6,7% при норме 6,3±0,7%), CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup> (65,9±5,3% при норме 42,0±2,3%), выраженным преобладанием Т-лимфоцитов памяти (CD4<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>) (32,5±2,15%) над наивными Т-лимфоцитами (CD4<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>) (2,1±0,6%), причем последние были снижены по сравнению с нормой (32,7±5,2%) примерно в 15 раз. Содержание CD3<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> лимфоцитов было снижено у пациентов ХЛЛ при ПР (33,1±2,5%) по сравнению с нормальными значениями (50,0±4,8%). Уровень Т-хелперных лимфоцитов 2 типа (CD4<sup>+</sup>/CD294<sup>+</sup>) в пределах CD3<sup>+</sup>клеток у больных ХЛЛ при достижении ПР составил 15,6±1,3%, что достоверно не отличалось от нормы (15,22±3,9).

Популяция CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>hi</sup> Т-клеток человека гетерогенна по функциональным свойствам и фенотипическим признакам. Она включает в себя популяции пролиферирующих CD4<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup> CD25<sup>low</sup> Т-клеток и «регуляторных» CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> Т-лимфоцитов. Идентификацию этих клеток принято проводить по совокупности параметров экспрессии молекул CD38, CD62L, CD95, HLA-DR [1, 2]. Выявленное снижение абсолютного содержания Т-хелперной субпопуляции лимфоцитов при ПР происходит за счет наивных Т-лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>). Усугубление дисбаланса в содержании цитотоксической и хелперной субпопуляций Т-лимфоцитов,

рост числа НК-клеток может свидетельствовать о ПБ. Выраженная активация Т-лимфоцитов по экспрессии HLA-DR- и CD95-антигенов отражает интенсивность антигенной нагрузки и повышенную готовность к апоптозу.

#### **Заключение.**

1. Выявлено выраженное увеличение абсолютного числа Т-лимфоцитов за счет цитотоксической субпопуляции и резкое снижение уровня Т-хелперной субпопуляции лимфоцитов до начала терапии, который не восстанавливался до нормы даже при достижении полной ремиссии заболевания у 75% пациентов.

2. Обнаружено снижение уровня активированных Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к ИЛ-2 (в том числе, Т-регуляторных клеток CD3/CD4/CD25<sup>hi</sup>CD127<sup>+</sup>) у больных В-ХЛЛ по сравнению со здоровыми лицами.

3. Показателем прогрессирования заболевания служит усугубление дисбаланса в содержании цитотоксической (CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) и хелперной (CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>) субпопуляций Т-лимфоцитов, рост количества НК-клеток.

4. Показателем достижения ремиссии заболевания служит выраженное увеличение

экспрессии HLA-DR<sup>+</sup> антигена на Т-лимфоцитах.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Baecher-Allan C., Brown J. A., Freeman G. J., Hafler D. A. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> regulatory cells in human peripheral blood // J. Immunol. –2001-167 (3) -P1245-1253
2. Johannisson A., Festin R. Phenotype transition of CD4<sup>+</sup> T cells from CD45RA to CD45RO is accompanied by cell activation and proliferation // Cytometry. 1995-19 (4) – P.343-352
3. Kimby E. Tolerability and safety of rituximab (MabThera). Cancer Treat Rev 2005; 31: 456-473.
4. Wierda W. O., Brien S., Wen S., Faderl S., Garcia-Manero G., Thomas D. et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. J. Clin Oncol 2005; 23: 4079-4088
5. Чукурина Ю. Ю., Шевелев С. В., Яздовский В. В., Катаева Е. В., Голенков А. К. Анализ иммунофенотипической гетерогенности лимфоцитов периферической крови при оценке эффективности лечения больных хроническим лимфолейкозом по программе R-FC. Вестник гематологии, том X, № 2, 2014, С. 78-79

### **T-CELL IMMUNITY IMMUNOLOGICAL CRITERIA AS DISEASE COURSE AND PROGNOSIS IN THE TREATMENT OF B-CLL**

**Y. Y. Chuksina, S. V. Shevelev**

*State budgetary healthcare institution of Moscow region, Moscow Regional Research Institute M. F. Vladimirovskiy's, Moscow, Russia*

The article presents a research of the T-cell immunity in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia in the dynamics of ongoing immuno-chemotherapy – R-FC (rituximab, fludarabine, cyclophosphamide).

### **ОПТИМИЗАЦИЯ АЛГОРИТМА СПИРОМЕТРИЧЕСКОЙ ВЕРИФИКАЦИИ ДИАГНОЗА БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ**

**Чурюкина Э. В., Голошубова Е. А.**

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

Спирометрия является методом выбора для оценки выраженности и обратимости бронхиальной обструкции в процессе диагностики и мониторинга бронхиальной астмы (БА). Выявлено, что в 5% случаев отсутствует корреляция верифицированного диагноза БА и его спирометрическое подтверждение; варибельность показателей ФВД зависит от факторов: техники проведения ингаляции, детренированности больных, возраста, комплаентности, времени затраченного на исследование. Рекомендована оптимизация алгоритма ведения больных с бронхиальной астмой.

Бронхиальная астма (БА) представляет собой распространенное и потенциально опасное хроническое заболевание, которое можно эффективно лечить, обеспечивая контроль симптомов и минимизируя риск приступов (обострений) [1, 2]. Верификация диагноза БА проводится на основании 1) документирования жалоб больного, анамнеза заболевания и типичной картины симптомов; 2) физикального обследования; 3) специальных методов диагностики, включающие: исследование функции легких с оценкой обратимости бронхиальной обструкции – спирометрия (СМ); выявление бронхиальной гиперреактивности; определение неинвазивных маркеров воспаления (цитология индуцированной мокроты (ИМ), оксид азота в конденсате выдыхаемого воздуха (NOex) и др); проведение специфического аллергологического обследования [2].

Спирометрия (СМ) является методом выбора для оценки выраженности и обратимости бронхиальной обструкции (БО) в процессе диагностики и мониторинга БА [1] позволяет выявить ограничение скорости воздушного потока на выдохе и повышенную вариабельность показателей функции внешнего дыхания (ФВД). При этом, основными показателями, отражающими степень БО, являются объем форсированного дыхания за одну секунду (ОФВ1) и форсированная жизненная емкость (ФЖЕЛ). Повышенная вариабельность показателей ФВД определяется на основании выявления обратимости БО (т.е. повышение ОФВ1 на > 12% и на >200 мл после ингаляции бронходилататора. На основании собственного опыта, было выявлено, отсутствие корреляции верифицированного диагноза БА и его спирометрическое подтверждение (т.е. гипердиагностика БА), и наоборот, у пациентов со спирометрическими маркерами БА – диагноз выставлен не был (т.е. гиподиагностика БА). Учитывая, что СМ – широко распространенный, чрезвычайно доступный и обязательно используемый в диагностике БА метод оценки ФВД нами была поставлена цель исследования: проанализировать зависимость полученных результатов СМ от особенностей условий и техники ее проведения.

С этой целью был проведен анализ историй больных, их спирограмм и отслежена техника проведения СМ у 92 пациентов с atopической эозинофильной БА легкой и средней степени тяжести, обоих полов, в возрасте от 12 до 65 лет.

Работа проводилась на базе кафедры клинической иммунологии и аллергологии Рост ГМУ, г. Ростова-на-Дону, где для СМ выделен кабинет, в котором соблюдались все необходимые условия (температурные, атмосферного давления и тд) согласно рекомендациям респираторного общества [1]. Для изучения ФВД был использован автоматический спироанализатор «Vitalograph E 2014459». Ежедневно перед исследованием проводилась калибровка прибора. С целью определения фенотипа БА исследовались клеточный состав ИМ, эозинофилия крови и мокроты, NOex (портативный ручной монитор окиси азота NO Breath). Проводилось общеклиническое и аллергологическое (кожно-скарификационное тестирование) обследование больных.

Было выявлено: 1) у 8 (8,7%) пациентов диагноз БА был выставлен на основании эпизода БО, без проведения теста с бронходилататором, при этом у 5 (5,4%) больных не был достигнут прирост ОФВ1 при правильно проведенной методике, отсутствовали другие специфические маркеры БА (т.е. в 5% имела место гипердиагностика); 2) у 13 (12%) пациентов с характерными жалобами, анамнезом, клиникой диагноз БА выставлен не был, несмотря на неоднократные обращения к разным специалистам; при исследовании ФВД у этих больных была выявлена БО разной степени тяжести 8 (61,5% – легкой (74,9±1,92%), 5 (38,5% – средней тяжести (65,7±2,43%)) с обратимостью показателей после проведения пробы с бронхолитиком (т.е. в 12% – гиподиагностика); 3) у 14 (15,2%) больных прирост ОФВ1 >12% был достигнут не после трех, рекомендуемых в рутинных исследованиях, попытках, а лишь после 4-6 маневров (т.е. вариабельность увеличивалась с увеличением числа попыток, и оптимальным диапазоном, позволяющим судить об отсутствии либо наличии вариабельности, является 8 дыхательных маневров); 4) обычно, вариабельность БО исследуется при наличии, собственно, БО (т.е. ОФВ1 <80%), однако, мы обнаружили, что у 11 (11,9%) пациентов отмечался значительный прирост ОФВ1 при его значении равно или более 80% (+12–42% от исходного), свидетельствующего о наличии скрытого бронхоспазма, что говорит о возможности рекомендовать исследование обратимости при ненарушенных параметрах ФВД, особенно в условиях отсутствия других методов верификации диагноза

БА и наличия соответствующих жалоб и клиники. При этом нами было отмечено, что вариабельность показателей ФВД зависела от ряда факторов: 1) техники проведения ингаляции (нарушена была у 23 (25,0%) пациентов), при этом после коррекции недостатков у данных пациентов воспроизводимость маневров достигалась с 1-2 раз; 2) от детренированности больных (более высокие показатели обнаруживались у лиц, занимавшихся спортом ранее или в настоящее время – 18 (19,6%), таким пациентам особенно показана дыхательная гимнастика); 3) возрастных факторов – 21 (22,8%) (с возрастом ухудшалась воспроизводимость); 4) комплаентности – 19 (20,6%) (в том числе эмоциональное состояние пациента, владение русским языком, мотивация к проведению исследования и тд); 5) от времени затраченного на исследование (с учетом обучения правильной техники, что обычно требовало 57 мин.). При проведении пробы с бронходилататором были выявлены особенности: 1) также зависимость от правильности выполнения дыхательного маневра и техники ингаляции (у 23 (25%) больных прирост ОФВ<sub>1</sub> > 12% стал регистрироваться при исправлении дефекта исполнения); 2) получение достоверного и должного прироста ОФВ<sub>1</sub> достигается уже через 10 минут, в последующие 15 и 20 минут результаты не увеличиваются, что дает основание считать это время оптимальным, а высвободившееся время позволяет потратить на предварительное обучение пациента правильной технике исполнения.

## OPTIMIZATION ALGORITHM SPIROMETRIC TO VERIFY THE DIAGNOSIS OF ASTHMA

Churyukina E.V., Goloshubova E.A.

*Rostov state medical University, Rostov-on-Don, Russia*

Spirometry is the method of choice to assess the severity and reversibility of bronchial obstruction in the process of diagnosis and monitoring of asthma. Revealed that 5% of cases, there is no correlation verified diagnosis of asthma and its spirometric confirmation; variability of parameters depends on the factors: techniques for inhalation, not trained patients, age, of compliance, time spent on research. Recommended optimization algorithm for the management of patients with bronchial asthma.

В связи с нашими наблюдениями – рекомендации: 1) коррекция проведения дыхательных маневров и техники ингаляции: учитывать возможные ошибки, как со стороны пациента (недостаточные вдох-выдох, неправильный захват загубника ртом, поза и тд), так и ошибки со стороны медперсонала (отсутствие клипсы на нос, ограничение 1-2 маневрами, нежелание тратить время на обучение пациента правильной технике, немотивированность на старание достигнуть лучшего результата и т.д.); 2) коррекция хронометража проведения сеанса спирометрии (поменять временные акценты, как то: 5-7 мин – обучение технике исполнения; 2 мин – проведение оптимального числа маневров (до 8); 1-2 мин – обучение технике перед тестом с бронхолитиком; 30 сек – ингаляция бронхолитика (4 ингаляции сальбутамола); 10 мин – ожидание броходилатационного ответа; 1-2 мин – проведение оптимального числа маневров (до 4-8)). 3) Для оптимизации времени исследования ФВД рекомендуем перед направлением на СМ (в случае отсутствия острой ситуации) – пациенту пройти обучение технике дыхательных маневров и ингаляции в рамках Астма-школы, то есть изменить алгоритм ведения больных с БА: визит № 1 – Астма-школа – СМ – клиничко-лабораторные обследования – визит № 2 (верификация диагноза).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чучалин А.Г. Респираторная медицина: Руководство. В 2-х т. М.: Гэотар-Медиа, 2007.
2. GINA, 2015 // <http://www.ginasthma.com>

## ВЛИЯНИЕ СОМАТОТРОПНОГО ГОРМОНА И ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА-1 НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ОТВЕТ СПЛЕНОЦИТОВ СТАРЫХ КРЫС

Шилов С. Ю., Шилов Ю. И.

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН,  
Пермь, Россия

Выявлен половой диморфизм действия инсулиноподобного фактора роста-1 на конканавалин А-индуцированный пролиферативный ответ спленоцитов старых крыс в системе *in vitro*, проявляющийся его активацией у самок и угнетением у самцов. Соматотропный гормон практически не влиял на пролиферативный ответ клеток селезенки старых крыс в системе *in vitro*.

**Ключевые слова:** соматотропный гормон, инсулиноподобный фактор роста-1, Т-лимфоциты, старение, половой диморфизм, крысы

**Введение.** Известно, что уровень соматотропного гормона (СТГ) существенно снижается при старении крыс и мышей, что приводит к развитию инволюции тимуса и снижению Т-клеточного иммунного ответа [1, 5]. Имплантация старым крысам сингенных опухолевых клеток аденогипофиза или введение рекомбинантного СТГ способствует восстановлению пролиферативного ответа клеток селезенки на Т-клеточные митогены, что опосредуется усилением дифференцировки дубль-негативных ( $CD4^-CD8^-$ ) тимоцитов в дубль-позитивные ( $CD4^+CD8^+$ ) Т-лимфоциты тимуса [2]. Несмотря на то, что СТГ и инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), который опосредует эффекты СТГ на периферии, продуцируются клетками иммунной системы [3, 4, 5], механизмы их иммуномодулирующего действия при старении изучены недостаточно. Прежде всего остается не ясным, опосредуется стимулирующий эффект этих гормонов на пролиферацию Т-лимфоцитов селезенки старых крыс, ранее описанный для СТГ *in vivo*, через усиление их созревания в тимусе, или он может быть связан с прямым действием на Т-лимфоциты на уровне периферических органов иммунной системы, в частности селезенки, тем более что клетки этого органа способны к продукции обоих гормонов [5]. Для выяснения этого аспекта необходимы исследования в системе *in vitro*.

**Цель работы** – исследование влияния СТГ и IGF-1 в системе *in vitro* на пролиферативный ответ спленоцитов старых крыс.

**Материалы и методы.** Исследования выполнены на старых (возраст более 1,5 лет) самках и самцах белых нелинейных крыс. Животных содержали в стандартных условиях вивария (свободный доступ к воде и пище, 12-часовой световой день). Крыс выводили из эксперимента под эфирным наркозом. Суспензии клеток селезенки получали общепринятыми методами. Пролиферативный ответ клеток селезенки оценивали в культурах с Т-клеточным митогеном конканавалином А (Sigma-Aldrich, США, C0412) в концентрации 5 мкг/мл и в культурах без митогена. Культивирование спленоцитов ( $5 \times 10^5$  клеток/лунку) проводили в 96-луночных круглодонных планшетах (TPP, Швейцария) в среде RPMI-1640 без L-глутамин с добавлением 2 mM GlutaMAX™, 1 mM пирувата натрия, 1% заменимых аминокислот в MEM (все Gibco, Invitrogen), 10 mM HEPES (Sigma-Aldrich, США),  $10^{-5}$  M 2-меркаптоэтанол (Sigma-Aldrich, США) и 10% эмбриональной телячьей сыворотки (SC-Biol, Биолот, Россия). Метил-3Н-тимидин (ОАО «Всероссийское объединение «Изотоп», Москва) вносили по 1 мКи за 24 ч до окончания культивирования. Через 72 ч от начала культивирования содержимое культур переносили на съёмщик со стекловолоконными фильтрами, которые

последовательно промывали 10 мл 0,15 М раствором хлорида натрия, 10 мл охлажденной 5% трихлоруксусной кислотой и 10 мл 0,15 М раствором хлорида натрия. Радиоктивность кислотонерастворимой фракции определяли с использованием сцинтилляционной жидкости ProSafe FC+ (Meridian Biotechnologies Ltd., Великобритания). IGF-1 (Sigma-Aldrich, США, I3769) вносили в культуры в концентрациях  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  и  $10^{-9}$  М, а СТГ (Sigma-Aldrich, США, S4776) – в концентрациях  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  и  $10^{-10}$  М на весь срок культивирования.

Статистический анализ результатов проводили с учетом log-нормального распределения данных. Рассчитывали среднюю арифметическую и ее стандартную ошибку ( $M \pm m$ ) для показателей log<sub>10</sub> имп/мин, среднюю геометрическую имп/мин (антилогарифм из средней арифметической log<sub>10</sub> имп/мин).

Статистическую значимость различий по отношению к контрольным культурам без IGF-1 и СТГ в условиях множественных сравнений между группами оценивали с помощью апостериорного парного LSD-теста и критерия Дункана для парных данных. Различия между группами старых самцов и старых самок оценивали по t-критерию Стьюдента для непарных данных.

**Результаты и обсуждение.** В результате проведенных исследований впервые выявлен половой диморфизм действия IGF-1 на митоген-индуцированную пролиферацию Т-лимфоцитов селезенки старых крыс. У старых самцов IGF-1 статистически значимо снижает, а у старых самок, напротив, статистически значимо активирует пролиферацию Т-лимфоцитов селезенки в сравнении с контрольными культурами. Более того в присутствии IGF-1 уровень пролиферативного ответа Т-клеток селезенки у старых самок статистически значимо выше, чем у старых самцов. С учетом известных данных о большей продолжительности жизни самок млекопитающих в сравнении с самцами, полученные результаты указывают на возможную роль выявленных различий иммуномодулирующего действия IGF-1 в формировании половых различий изменений функций иммунной системы при старении, отмеченных другими авторами.

Хотя, по данным литературы [2, 5], в системе *in vivo* СТГ активирует пролиферативный ответ лимфоцитов на Т-клеточные митогены,

при оценке его действия *in vitro* нами этот эффект не выявлен. Полученные результаты, с одной стороны, указывают на то, что выявленная ранее активация Т-лимфоцитов под действием СТГ в системе *in vivo* может реализоваться за счет действия гормона на стадию внутритимической дифференцировки Т-лимфоцитов, а не за счет прямого действия на зрелые Т-клетки периферических органов иммунной системы. С другой стороны, с учетом вышерассмотренных данных по влиянию IGF-1 на пролиферативный ответ спленоцитов не исключено, что *in vivo* активирующий эффект СТГ может опосредоваться через повышение продукции IGF-1, что нуждается в дополнительном исследовании. Несмотря на отсутствие статистически значимого действия СТГ в сравнении с контрольными культурами без СТГ, выявлен более высокий пролиферативный ответ спленоцитов старых самок в сравнении со старыми самцами в культурах с внесением СТГ в концентрации  $10^{-9}$  М. Однако с учетом данных о регуляции СТГ продукцией IGF-1 клетками селезенки и в условиях *in vitro* [5] необходимо дальнейшее исследование вклада этого фактора в выявленные в настоящей работе изменения.

Таким образом, выявлен половой диморфизм действия инсулиноподобного фактора роста-1 на пролиферативный ответ спленоцитов старых крыс в системе *in vitro*, проявляющийся его активацией у самок и угнетением у самцов. Несмотря на известное выраженное активирующее действие соматотропного гормона на индуцируемую Т-клеточными митогенами пролиферацию спленоцитов *in vivo*, в условиях *in vitro* этот гормон практически не влияет на пролиферативный ответ этих клеток в культурах с конканавалином А.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Austad S. N., Bartke A. Gerontology. 2015, May 6, 1–7. DOI: 10.1159/000381472. <http://www.karger.com/Article/Pdf/381472>. [Epub ahead of print].
2. Kelley K. W., Brief S., Westly H. J., Novakofski J., Bechtel P. J., Simon J., Walker E. B. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1986, 83 (15), 5663–5667.
3. Savino W., Dardenne M. Curr. Opin. Pharmacol. 2010, 10 (4), 434–442.
4. Savino W., Smaniotto S., Mendes-da-Cruz D. A., Dardenne M. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2012, 1261, 49–54.
5. Weigent D. A. Cellular Immunology 2013, 285 (1-2), 118–132.

## INFLUENCE OF GROWTH HORMONE AND INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1 ON PROLIFERATIVE RESPONSE OF SPLENOCYTES OF OLD RATS

S. Ju. Shilov, Ju. I. Shilov

*Institute of Ecology and Genetics of microorganisms UB RAS, Perm, Russia*

The sexual dimorphism of the insulin-like growth factor-1 (IGF-1) action *in vitro* on concanavalin A-induced proliferative response of splenocytes from old rats was identified. This response was stimulated in female rats but was suppressed in male animals. The growth hormone not significantly affect the proliferative response of spleen cells from old rats in a system *in vitro*.

*Key words:* growth hormone, insulin-like growth factor-1, T lymphocytes, aging, sexual dimorphism, rats

---

---

## ОЦЕНКА ЧАСТОТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ СЛУЧАЕВ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ЯДУ ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫХ У БОЛЬНЫХ С СЕНСИБИЛИЗАЦИЕЙ К КЛЕЩАМ ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ

Шабанов Д. В.<sup>1</sup>, Мартынов А. И.<sup>2</sup>, Федоскова Т. Г.<sup>2</sup>,  
Федосеева В. Н.<sup>2</sup>, Миславский О. В.<sup>2</sup>, Гришина Т. И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Минздрава России;

<sup>2</sup>ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА, Москва, Россия

Клинические симптомы гиперчувствительности (ГЧ) при ужалении перепончатокрылых отличаются выраженностью и тяжестью течения. Риск возрастает при наличии сенсibilизации к аллергенам других групп, преимущественно к бытовым аллергенам. Целью исследования явилось осуществление оценки частоты выявления случаев гиперчувствительности к яду перепончатокрылых у лиц с сенсibilизацией к клещам домашней пыли. Обследовано 760 пациентов. Отобрана группа пациентов (n=94, 12,3%) с сенсibilизацией к аллергенам клещей домашней пыли, имеющих в анамнезе указания на возникновение реакций ГЧ при ужалении. По результатам анкетирования у 88,3% (n=94) отмечено наличие выраженных местных реакций, у 11,7% – системных реакций различной степени тяжести. Повышенный уровень специфических IgE к яду ос и пчел (3-4 класс реакции в ИФА) отмечен не только у 45,4% (n=11) лиц с системными реакциями, но и у 7,5% (n=120) пациентов с клещевой сенсibilизацией, не имевших в анамнезе указаний на возникновение реакций ГЧ. Таким образом, сделано предположение, что среди пациентов отобранной группы лиц (n=94) системные клинические проявления истинной IgE- обусловленной инсектной аллергии отмечены у 5,32% лиц, а у 6,38% развитие симптомов имело токсический характер.

С каждым годом проблема инсектной аллергии (ИА) приобретает все большее значение для практической аллергологии. Известно более одного миллиона видов насекомых, при этом представители не менее 12 отрядов обладают способностью вызывать IgE-обусловленные аллергические реакции [1].

Особую значимость представляют гиперергические реакции, развивающиеся при ужалении представителями отряда Перепончатокрылые [2]. Отмечено, что в зависимости от климатических особенностей региона проживания, у 56,6-94,5% лиц взрослого населения, в анамнезе имеется указание на однократное

ужаление жалящим насекомым (ЖН) указанного отряда [3]. На основании классификации предложенной Н. L. Mueller [4] «значимые» местные реакции (LLRs) встречаются в 2,4-26,4% общей популяции, а системные реакции (SRs) 0,3-7,5% в Европе, и 0,5-3,3% в США. Согласно нескольким эпидемиологическим исследованиям, проведенным в Европе и охватывающим десятилетний период наблюдения, частота возникновения SRs IV степени (соответствует анафилактическому шоку по Н. L. Mueller) колеблется от 0,3 до 42,8% от общего числа системных реакций [4]. Смертность от анафилактических реакций на яд перепончатокрылых составляет 0,03-0,48 на миллион населения ежегодно [5]. Несмотря на относительно небольшую процент аллергии к яду перепончатокрылых при популяционных обследованиях населения актуальность данной проблемы значима вследствие частого возникновения тяжелых реакций анафилактического типа, вплоть до летального исхода [4, 5].

Особую озабоченность врачей вызывает своевременное выявление лиц со «скрытой» (латентной) сенсibilизацией к аллергенам яда ЖН. При наличии указанной формы сенсibilизации развитие клинических симптомов ИА носит непредсказуемый внезапный характер. Риск возрастает при наличии сенсibilизации к аллергенам других групп, преимущественно к бытовым аллергенам [1]. При этом в России отсутствует диагностические формы аллергенов ЖН, разрешенных к применению в широкой клинической практике. В связи с этим, требуется проведение углубленного клинико-лабораторного обследования для установления специфического характера процесса сенсibilизации к яду перепончатокрылых.

**Целью** настоящего эпидемиологического исследования явилось осуществление оценки частоты выявления случаев гиперчувствительности к яду перепончатокрылых у лиц с сенсibilизацией к клещам домашней пыли.

**Материалы и методы.** В течение 2012-2013 гг. обследовано 760 пациентов, самостоятельно обратившихся или направленных районными поликлиниками в аллергологический кабинет консультативного центра городской многопрофильной клинической больницы города Москвы. Отобрана группа пациентов с сенсibilизацией к аллергенам клещей домашней пыли – 120 человек (15,7% n=760), из которых сформирована группа из 94 человек (12,3%

n=760), имеющих в анамнезе указания на возникновение гиперергических реакций при ужалении перепончатокрылыми насекомыми. Анкетирование проводили с применением специализированного опросника по раннему выявлению ИА к жалящим насекомым (ЖН), разработанного в рамках выполнения работы. Исследован уровень специфических IgE (в ИФА) к яду пчел и ос у лиц отобранной группы.

**Результаты и обсуждение.** По результатам опроса и анкетирования у 88,3% (n=94) больных выраженность симптомов соответствовала «значимым» местным реакциям, у 11,7% симптомы соответствовали системным реакциям различной степени тяжести (по классификации Н. L. Mueller [4]). Из группы пациентов с системными реакциями (n=11) у 54,5% больных клинические симптомы соответствовали I степени тяжести, у 36,3% – II степени и у 9% -IV степени (анафилактический шок). Повышенный уровень специфических IgE к яду ос и пчел (3-4 класс реакции в ИФА) отмечен не только у 45,4% (n=11) лиц с системными реакциями различной степени тяжести, но и у 7,5% (n=120) пациентов с клещевой сенсibilизацией, не имевших в анамнезе указаний на возникновение гиперергических реакций при ужалениях насекомыми. У 54,5% лиц с системными реакциями (n=11) не отмечено повышения уровня специфических IgE. Таким образом, сделано предположение, что среди пациентов отобранной группы лиц (n=94) системные клинические проявления истинной IgE-обусловленной ИА отмечены у 5,32% лиц, а у 6,38% развитие симптомов имело токсический характер. Наличие повышенного уровня специфических IgE к яду ЖН у лиц (7,5% n=120), не имеющих указаний на развитие клинических симптомов при ужалениях, вероятно, свидетельствует о «скрытой» (латентной) сенсibilизации, а, соответственно, высоком риске развития клинических проявлений ИА при повторном ужалении.

Полученные в результате исследования данные являются предварительными, в настоящее время продолжается разработка и унификация методов и схем обследования больных с гиперчувствительностью к яду перепончатокрылых. Результаты исследования подтверждают необходимость разработки и внедрения в клиническую практику единых и четких алгоритмов обследования больных с гиперчувствитель-

ностью к яду перепончатокрылых, для последующего выбора наиболее адекватного вида терапии.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федоскова Т. Г., Лусс Л. В. Инсектная аллергия – особенности течения, основные принципы диагностики и лечения. // Аллергология и иммунология. – 2013. – № 1. – С. 67-75.
2. Швец С. М. Аллергические реакции на яд жалящих насекомых. // Российский аллергологический журнал. – 2004. – № 3. – С. 9–18.
3. Antonicelli L., Bilo M., Bonifazi F. Epidemiology of Hymenoptera allergy. // *Allergy Clin Immunol.* – 2002. – V.2. – P. 341-346.
4. Muller U., Johansen N., Petersen A. Hymenoptera venom allergy. *Allergy.* – 2009. – V.64. – P. 543-548
5. Bilo M., Bonifazi F. Natural history and epidemiology of insect venom allergy. *J. Clinical & Experimental Allergy.* – 2009. – V. 39. – P. 1467-1476.

### ESTIMATION OF FREQUENCY OF EXPOSURE OF CASES OF HYPERSENSITIVITY TO HYMENOPTERA VENOM IN PATIENTS WITH SENSITIZATION TO HOUSE DUST MITES

Shabanov D. V.<sup>1</sup>, Martinov A.<sup>1,2</sup>, Fedoskova T. G.<sup>2</sup>, Fedoseeva V. N.<sup>2</sup>, Mislavskiy O. V.<sup>2</sup>, Grishina T. I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A. I. Evdokimov;*

<sup>2</sup>*Institute of Immunology, Moscow, Russia*

Clinical symptoms of hypersensitivity (HS) in Hymenoptera sting differ in the intensity and severity of. The risk increases with the presence of sensitization to allergens other groups, mainly to household allergens. The aim of the study was the evaluation of frequency of detection of cases of hypersensitivity to Hymenoptera venom in patients with sensitization to house dust mites. Surveyed 760 patients. Selected group of patients (n=94, 12,3%) with sensitization to allergens of house dust mites with a history of instructions on the occurrence of reactions of HS in the sting. According to the results of the survey have to 88.3% (n=94) noted the presence of significant local reactions, 11.7% of systemic reactions of varying severity. Elevated levels of specific IgE to the venom of wasps and bees (grade 3-4 reactions in ELISA) marked not only 45,4% (n=11) of individuals with systemic reactions, but at 7.5% (n=120) of patients with tick-borne sensitization, no prior history of indications on the occurrence of reactions of HS. Thus, the assumption is made that among patients selected group of individuals (n=94) systemic clinical manifestations of true IgE-induced insect allergy observed in of 5.32% of individuals, and 6,38% development of symptoms had a toxic nature.

## ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ НЕЙТРОФИЛАМИ СПОРТСМЕНОВ С РАЗНЫМ ПРОФИЛЕМ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АСИММЕТРИИ МОЗГА

Швыдченко И. Н., Тамбовцева А. А., Бердичевская Е. М.,  
Степукова А. С., Кужильная Ю. А.

*ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма», Краснодар, Россия*

Цель настоящего исследования – изучение цитокин-продуцирующей способности нейтрофилов у спортсменов с различным профилем функциональной асимметрии мозга (ФАМ) и ее возможной связи с тонусом автономной нервной системы (АНС) и гормональным статусом. 44 спортсмена в зависимости от профиля ФАМ были разделены на две группы: «правши» и «левши». Не обнаружено различий в состоянии тонуса АНС в покое между группами. У спортсменов «правшей» выявлено увеличение концентрации адреналина в плазме крови по сравнению с «левшами» ( $P < 0,05$ ) и сниженная секреция IL-8 и IL-6 нейтрофилами в ответ на стимуляцию ЛПС в дозе 1 мкг/мл ( $P < 0,05$ ). Предполагается, что одной из причин уменьшения продукции IL-8 и IL-6 нейтрофилами «правшей» является супрессивное действие адреналина.

*Ключевые слова:* нейтрофилы, цитокины, функциональная асимметрия мозга, спортсмены

Известно, что активированные нейтрофилы являются важным источником широкого спектра цитокинов. Цитокины, регулируя иммунный ответ, в то же время функционируют, как медиаторы афферентного пути к ЦНС и являются частью нейро-эндокринно-иммунной сигнальной системы [1]. Структурная и функциональная асимметрия, являясь фундаментальным принципом организации мозга, асимметрично модулирует иммунный ответ, что показано в многочисленных экспериментах на животных и исследованиях на людях. Механизмы, обеспечивающие это взаимодействие, полностью не установлены, однако доказано участие гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, автономной нервной системы (АНС) и цитокинов. Согласно литературным данным, правое полушарие модулирует активность симпатической нервной системы, а левое – парасимпатической [2]. Нейтрофилы имеют рецепторы как к большинству известных цитокинов, так и к нейромедиаторам. Установлено, что активация  $\beta_2$ -адренорецепторов в нейтрофилах ингибирует их функциональную активность, экспрессию адгезионных молекул [3, 4]. Кроме

того сами нейтрофилы синтезируют катехоламинами, что указывает на существование у них ауторегуляторного адренергического механизма [5]. Физические нагрузки могут значительно видоизменять параметры нейроиммунного взаимодействия, влияя как на механизмы нервной регуляции, цитокиновый статус, так и на функции нейтрофилов.

Учитывая актуальность проблемы, целью настоящего исследования было изучение цитокин-продуцирующей способности нейтрофилов у спортсменов с различным профилем функциональной асимметрии мозга (ФАМ) и ее возможной связи с тонусом АНС и гормональным статусом исследуемых.

**Материалы и методы.** В зависимости от профиля ФАМ (определенного по схеме рука-нога-глаз-ухо), 44 спортсмена были разделены на две группы: I – «правши» ( $n=22$ ) и II – «левши» ( $n=22$ ). Состояние тонуса АНС определяли по вегетативному индексу Кердо (ВИК):  $\text{ВИК} = (1 - \text{АДдиаст}/\text{ЧСС}) \times 100\%$ , где АДдиаст – диастолическое артериальное давление (мм рт.ст.); ЧСС – частота сердечных сокращений ( $\text{мин}^{-1}$ ). Значения ВИК от  $-10$  до  $+10$  оценивались как нормотония,  $< -10$  – ваготония,  $> +10$  – сим-

патикотония. Уровень кортизола и катехоламинов (адреналина, норадреналина) в плазме крови определяли методом ИФА (кортизол из DBC, Канада; адреналин/норадреналин из IBL INTERNATIONAL GMBH, Германия). Нейтрофилы выделяли из периферической крови, центрифугированием на двойном градиенте плотности фиколла-урографина (BioClot и Schering AG, Германия, соответственно). Проводили автоматический подсчет выделенных клеток с одновременной оценкой их жизнеспособности (не менее 98%) методом эксклюзии трипанового синего. Морфологически определяли чистоту клеточной взвеси (не менее 95-97%). Нейтрофилы ресуспендировали в среде RPMI 1640 с L-глутамином и 25 мМ HEPES (Invitrogen, США) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (GIBCO, США) и 40 мкг/мл гентамицина (Pharmachim, Болгария); инкубировали при 37°C в 5% CO<sub>2</sub> 20 часов в концентрации 10<sup>6</sup> клеток/мл в стерильных культуральных 12-луночных планшетах (BD Biosciences, США) аликвотой 1 мл на лунку с добавлением 100 мкл DPBS (GIBCO, США) – спонтанная секреция, или 100 мкл ЛПС *E. coli*:055: B5 (SIGMA, Германия) в конечной концентрации 10 нг/мл, 1 мкг/мл – ЛПС-индуцированная секреция, или опсонизированного зимозана А (OZ) из *Saccharomyces cerevisiae* (SIGMA, Германия) в конечной концентрации 0,35 мг/мл – зимозан-индуцированная секреция. Концентрацию цитокинов IL-1b, IL-1RA, IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A, TNF-a и MIP-1b в супернатанте определяли методом ИФА с использованием коммерческих тест-наборов, согласно инструкции (IL-1b, IL-1RA, IL-6, IL-8, TNF-a из ООО Цитокин, Россия; IL-12p70, IL-17 и MIP-1b из eBioscience, США). Чувствительность метода составляла для IL-1b – 6,25 пг/мл; IL-1RA – 50 пг/мл; IL-6 – 5 пг/мл; IL-8 – 20 пг/мл; IL-12p70 – 2,1 пг/мл IL-17A – 5 пг/мл; ФНО-a – 1 пг/мл; MIP-1b – 3 пг/мл. Статистическую обработку полученных результатов проводили непараметрическими методами с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 7 (StatSoftInc., США). Данные описывали медианой и 25–75% интерквартильным размахом (Q1-Q2). Наблюдаемые различия считались не случайными при P<0,05.

**Результаты и обсуждение.** Не обнаружено различий в состоянии тонуса АНС в по-

кое между «левшами» и «правшами». В обеих группах большинство составили спортсмены с нормотонией, что, возможно, является результатом воздействия на организм систематических физических нагрузок. У спортсменов «правшей» было обнаружено незначительное увеличение концентрации адреналина в плазме крови по сравнению с «левшами» (115 пг/мл, 113-119 и 109 пг/мл, 106-113, соответственно), P<0,05.

Из всех исследуемых цитокинов только IL-1b, IL-1RA, IL-6, IL-8 и MIP-1b выявлялись в супернатанте культивируемых нейтрофилов. При этом у большинства спортсменов как «правшей», так и «левшей», IL-1b появлялся только при стимуляции нейтрофилов. IL-12p70, IL-17A и TNF-a не обнаруживались даже при стимуляции клеток. Нейтрофилы спортсменов спонтанно продуцировали довольно значительное количество IL-1RA и MIP-1b и отвечали на стимуляцию усилением секреции данных цитокинов, однако различий, связанных с ФАМ, выявлено не было.

В то же время нейтрофилы «правшей» и «левшей» отличались по способности продуцировать IL-6 и IL-8 при их стимуляции ЛПС в дозе 1 мкг/мл. Спонтанная продукция нейтрофилами IL-8 в группе левшей была в 1,4 раза выше, чем у правшей, однако, вследствие значительной вариабельности показателей, статистически значимых различий между группами обнаружено не было. Стимуляция клеток ЛПС в дозе 10 нг/мл вызывала усиление секреции данного цитокина нейтрофилами и «правшей», и «левшей» примерно в одинаковой степени (в 1,7 и в 1,6 раз, соответственно). При увеличении дозы ЛПС до 1 мкг/мл наблюдалась совершенно разная реакция нейтрофилов. У большинства «правшей» ЛПС не стимулировал секрецию IL-8 нейтрофилами (953,0 пг/мл/10<sup>6</sup> кл., 456,0-2924,0) по сравнению с уровнем спонтанной секреции (1004,0 пг/мл/10<sup>6</sup> кл., 420,0-1500,0), тогда как у «левшей» содержание IL-8 в супернатанте увеличилось в 1,9 раз по сравнению со спонтанным уровнем (2766,0 пг/мл/10<sup>6</sup> кл., 1366,0-4034,0 против 1436,0 пг/мл/10<sup>6</sup> кл., 941,0-2100,0) и превышало в 2,9 раз концентрацию IL-8 у «правшей», P<0,05. Почти аналогичная картина была выявлена при секреции нейтрофилами IL-6. У «левшей» также наблюдались тенденции к усилению спонтанной секреции данного цитокина (54,75 пг/мл/10<sup>6</sup> кл.,

23,90-185,6 против 26,3 пг/мл/10<sup>6</sup> кл., 16,8-43,9 у «правшей») и дозозависимая стимуляция секреции: при ЛПС в дозе 10 нг/мл секреция IL-6 нейтрофилами увеличивалась в 1,9 раз, при дозе 1 мкг/мл – в 3,7 раз, до 202,0 пг/мл/10<sup>6</sup> кл. (144,0-308,0), что превышало аналогичный показатель у «правшей» (69,5 пг/мл/10<sup>6</sup> кл., 46,6-127,0),  $P < 0,05$ , у которых усиление секреции IL-6 нейтрофилами при их стимуляции не зависело от дозы ЛПС.

Различий в зимозан-стимулированной секреции цитокинов нейтрофилами между «правшами» и «левшами» выявлено не было.

Таким образом, профиль ФАМ связан с реактивностью нейтрофилов, в частности, с их способностью продуцировать IL-6 и IL-8 при стимуляции ЛПС. Возможно, одной из причин сниженной цитокин-продуцирующей способности нейтрофилов «правшей» является супрессивное действие адреналина, опосредованное через  $\beta$ -адренорецепторы. Ранее было показано, что катехоламинэргическая модуля-

ция иммунного ответа на ЛПС зависит от латерализации мозга [7]. Однако в связи с тем, что в экспериментах *in vitro* показано ограниченное влияние катехоламинов на секрецию нейтрофилами IL-8 [4], вероятно, существуют и другие факторы.

Работа выполнена при поддержке РФФИ и Администрации Краснодарского края, проект № 13-04-96560p\_юг\_a.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Neveu P.J. Neuroimmune Biology.– 2008.– Vol.6.– P.549-563.
2. Stoyanov Z., Decheva L., Pashalieva I., Nikolaeva P. Cent. Eur. J. Med. 2012. 7 (1):1-8.
3. Wahle M., Greulich T., Baerwald C.G. et al. Immunobiology. 2005. 210 (1):43-52.
4. Hummel I.B., Reinartz M.T. Kälble S. et al. PLoS ONE. 2011. 8 (5): e64556.
5. Cosentino M., Marino F., Bombelli R. et al. Life Sci. 1999. 64 (11):975-981.
6. Dong J., Mrabet O., Moze E. et al. Neuroimmunomodulation. 2002-2003. 10 (3): 163-168.

### CYTOKINE PRODUCTION BY NEUTROPHILS IN ATHLETES WITH A DIFFERENT PROFILE OF FUNCTIONAL ASYMMETRY OF THE BRAIN

Shvydchenko I.N., Tambovtseva A.A., Berdichevskaya E.M., Stepukova A.S., Kuzhlnaya Y.A.

*Kuban State University of Physical Education, Sport and Tourism, Krasnodar, Russia*

**Abstract.** The purpose of this study was to investigate the cytokine production by neutrophils in athletes with different profiles of functional asymmetry of the brain (FAB) and its possible association with the tone of the autonomic nervous system (ANS), and hormonal status. 44 athletes, depending on the profile of FAB, were divided into two groups: “right-handed” and “left-handed”. There were no differences in the tone of ANS between “left-handed” and “right-handed” at rest. It was found that the concentration of adrenaline in the blood plasma in athletes “right-handed” was higher than that in “left-handed” ( $P < 0,05$ ), and secretion of IL-8 and IL-6 by neutrophils in response to stimulation with LPS in a dose of 1 mg/mL was reduced ( $P < 0,05$ ). It is assumed that one of the reasons for decreased production of IL-8 and IL-6 by neutrophils in “right-handed” is the suppressive effect of adrenaline.

**Key words:** neutrophils, cytokines, functional asymmetry of the brain, athletes

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПОЛЛИНОЗОВ И ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ

Ширяева Д. М., Минаева Н. В., Баяндина М. М.

*Пермский государственный медицинский университет  
им. академика Е. А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия*

В проспективном наблюдательном аналитическом исследовании по типу случай-контроль был проведен сравнительный анализ данных анамнеза и клинических проявлений поллиноза (группа 1) и острых респираторных заболеваний инфекционной этиологии (группа 2) для выявления критериев внимания при их дифференциальной диагностике. Установлено, что для поллиноза наиболее характерна отягощенная по аллергии наследственность, сопровождающийся зудом носа и чиханием ринит, сопровождающийся зудом глаз конъюнктивит. Не типично для поллиноза сочетание с гнойным конъюнктивитом. Кашель и одышка встречаются при поллинозе лишь в 10% случаев, что вдвое реже, чем при острой респираторной патологии инфекционного характера.

Поллиноз является одним из самых распространенных аллергических заболеваний. По разным сведениям, от 10 до 15% населения планеты страдают пыльцевой аллергией [2]. Примерно в четверти случаев диагноз поллиноза устанавливается через три года и более после манифестации заболевания. В большинстве случаев первые симптомы поллиноза расцениваются как проявления острой респираторной вирусной инфекции [1]. Возможно, поздняя постановка диагноза связана с недостаточной аллергологической настороженностью врачей общей сети.

**Цель исследования:** анализ клинико-anamнестических данных для выявления критериев внимания при дифференциальной диагностике поллинозов и эпизодов острых респираторных заболеваний.

**Методы исследования.** В проспективном наблюдательном аналитическом исследовании по типу случай-контроль приняли участие две группы детей 3-15 лет, набранные в 2013-2014 гг. К группе № 1 отнесены 100 детей с установленным диагнозом поллиноза, к группе № 2 – 100 детей с диагнозом острой респираторной инфекции. Проведен анализ первичной медицинской документации и данных анкетирования родителей. Были изучены аллергическая наследственность, анамнез заболевания и жизни, характер типичных

клинических симптомов. Статистическая обработка проводилась с помощью программ Excel и BioStat, данные о распространенности отдельных признаков представлены в виде долей (%), оценка значимости различий проводилась с помощью непараметрического z-критерия; существенными считались различия при  $p > 0,05$ .

**Результаты.** Анализ наследственности по аллергии показал, что у родителей пациентов из группы поллиноза уровень аллергической патологии был в 2 раза выше и составлял 46% случаев против 24% в группе с ОРИ ( $p=0,002$ ). Респираторные симптомы аллергических болезней в 2 раза чаще были характерны для родителей группы поллиноза: 19% случаев против 8% среди отцов ( $p=0,039$ ) и 21% против 10% среди матерей ( $p=0,051$ ). У детей с поллинозом достоверно чаще, чем у детей в группе с ОРИ имелась отягощенная наследственность по поллинозу по линии отца: 40% против 4% ( $p=0,0001$ ) и 16% против 7% у родственников по линии матери ( $p=0,076$ ).

Как и ожидалось, клинические проявления поллиноза имели весенне-летнюю сезонность, связанную с периодом пыления причинно-значимых растений (97% всех случаев), что было не типично для ОРИ. Формированию клиники поллиноза предшествовали контакт с пыльцой и/или фруктами у 84% детей. Для

ОРИ предрасполагающими факторами являлись: контакт с инфекционными больными (75%) и переохлаждение (26%).

При оценке фактора пассивного курения получены весьма любопытные данные. Установлено, что пассивному курению в три раза чаще подвергались дети с ОРИ – 59% обследованных против 18% в группе с поллинозом ( $p=0,0001$ ). Мы предполагаем, что родители детей с поллинозом могли быть более информированы о курении как факторе риска развития респираторных симптомов, с учетом рецидивирующего характера аллергозаболевания это могло быть сильным стимулом для отказа от курения.

Симптомы ринита были у 98% детей с поллинозом и 78% детей с ОРИ. Анализ особенностей ринита показал, что такие его характеристики, как заложенность носа и ринорея, не имели различий в двух группах (70% и 65%, 70% и 78%,  $p > 0,05$ ). Однако ринит при поллинозе значительно чаще сопровождается зудом (63%) и чиханием (71%), в отличие от ринита при ОРИ – 0% и 4% соответственно ( $p=0,0001$ ). Глазные симптомы почти в 10 раз чаще встречались у детей с поллинозом. Особенностью конъюнктивита при поллинозе также являлся зуд (94,8%). Для конъюнктивита при ОРИ более характерными были жалобы на слезотечение (71,4%) и гнойное отделяемое из глаз (14,2%). Среди других респираторных симптомов изучались кашель, одышка, тахипноэ

и участие вспомогательной мускулатуры. Симптомы со стороны нижних отделов респираторного тракта в 2 раза чаще встречались при ОРИ, чем при поллинозе: 97% случаев кашля против 44% ( $p = 0,0001$ ) и 45% детей с одышкой против 13% ( $p = 0,0001$ ).

#### Выводы:

1. Дети с поллинозом значительно чаще, чем при ОРИ, имеют родственников по линии отца, также страдающих поллинозом, или родителей с симптомами аллергии, особенно респираторной.

2. При поллинозе особенностью ринита является зуд в области носа и чихание, особенностью конъюнктивита – зуд в области глаз.

3. Для ОРИ более характерны слезотечение и наличие гнойного отделяемого при конъюнктивите, более часто развиваются кашель и одышка.

4. Пассивному курению в 3 раза чаще подвергаются дети с ОРИ. Определение причин этого феномена требует дальнейшего изучения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Минаева Н. В., Корюкина И. П., Малыгина К. В. Диагностика и лечение поллинозов у детей города Перми: метод. рекомендации. – Пермь: ГОУ ВПО ПГМА им. ак. Е. А. Вагнера. – 2009. – 32с.
2. Шамгунова Б. А., Заклякова Л. В. Эпидемиология поллинозов: факты, основные тенденции// Астраханский медицинский журнал. – 2010. – № 2. – С. 10-18.

### SOME ASPECTS OF THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF HAY FEVER AND ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS IN CHILDREN

D. M. Shiryaeva, N. V. Minaeva, M. M. Bayandina

In a prospective observational analytical study of the case-control there was a comparative analysis of the history and clinical manifestations of hay fever (group 1) and acute respiratory diseases of infectious etiology (group 2) to identify the criteria for attention during their differential diagnosis. It was found that hay fever is the most common allergy that usually goes along with itchy nose, sneezing and rhinitis, itching eyes are accompanied by conjunctivitis. Purulent conjunctivitis is not typically provided with hay fever. Coughing and shortness of breath occur during hay fever only in 10% of cases, which is twice less than in acute respiratory disease of an infectious nature.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ ЭНТЕРОПАТИЙ У ДЕТЕЙ ГРУДНОГО ВОЗРАСТА

Шуматова Т. А., Григорян Л. А., Приходченко Н. Г.,  
Зернова Е. С.

ГБОУ ВПО ТГМУ Минздрава России, Владивосток, Россия

С целью поиска неинвазивных маркеров ранней дифференциальной диагностики энтеропатий у детей грудного возраста проанализировано содержание в слюне, сыворотке крови, копрофильtrate TNF- $\alpha$  и его растворимого рецептора sTNF RII у 50 детей в возрасте от 6 до 12 месяцев с персистирующей диареей свыше 3 недель. Результаты иммунологического исследования у пациентов с непереносимостью белков коровьего молока показали повышение продукции TNF- $\alpha$  на системном и локальном уровнях. Изучение локальной продукции провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  и его растворимого рецептора sTNF RII в ЖКТ при энтеропатиях у детей грудного возраста, в силу неинвазивности применяемой методики, способствует своевременной диагностике заболевания, проведению патогенетической терапии и профилактике дефицитных состояний у пациентов.

Важной проблемой современной педиатрии является неуклонный рост числа гастроэнтерологических заболеваний [1, 5]. Доказано, что желудочно-кишечный тракт выполняет не только пищеварительную функцию, но и является важным иммунным органом [4]. Цитокины являются начальным звеном иммунного ответа, их в настоящее время рассматривают как универсальную биологическую коммуникационную систему, которая инициирует и регулирует воспалительные, иммунные, метаболические процессы в организме [2, 3]. Изучение профиля цитокинов, синтезируемых непосредственно в очаге воспаления, перспективно для разработки диагностических критериев и составления схем патогенетической терапии.

**Цель:** проанализировать содержание провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  в слюне, сыворотке крови и копрофильtrate, а также его растворимого рецептора sTNF RII в копрофильtrate у детей для поиска достоверных неинвазивных маркеров ранней диагностики вторичной непереносимости лактозы (НЛ) и непереносимости белков коровьего молока (НБКМ).

**Материалы и методы.** Обследовано 50 детей в возрасте от 6 до 12 месяцев с персистирующей диареей свыше 3 недель. 1 группу составили 25 детей, при комплексном обследо-

вании которым выставлен диагноз вторичной непереносимости лактозы. Во 2 группу вошли 25 детей этого же возраста с длительной кислой диареей в сочетании с кожным синдромом, при обследовании которым выставлен диагноз непереносимости белков коровьего молока. Контрольную группу составили 20 здоровых детей того же возраста. Определение TNF- $\alpha$  и его растворимого рецептора в биологических средах проводилось реактивами фирмы «BSM» (USA) методом энзим-связанного иммуносорбентного анализа (ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay). Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Франция). Расчеты осуществляли путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Результаты статистического анализа принимались как достоверные при  $p < 0,05$ . Статистическую обработку выполняли с помощью специализированных пакетов прикладных программ для исследований («Excel-2010» и «Statistica 6.0» for Windows).

**Результаты.** Иммунологическое исследование секрета ротоглотки показало, что концентрация слюнного TNF- $\alpha$  у пациентов II группы в 1,4 раза превышала показатели контрольной группы ( $p < 0,01$ ) и составила  $17,81 \pm 1,21$  ммоль/л. Дальнейшее исследование TNF- $\alpha$  в слюне у больных этой группы на фоне

положительной динамики не показало достоверного изменения ( $p > 0,05$ ) его продукции –  $17,41 \pm 1,81$  ммоль/л. У больных I группы уровень саливарного TNF- $\alpha$  в динамике заболевания достоверно не отличался от уровня этого цитокина у здоровых детей.

Концентрация TNF- $\alpha$  в сыворотке крови у больных II группы при поступлении в стационар превышала показатели контрольной группы в 6,4 раза и составляла  $13,85 \pm 0,91$  пг/мл. На фоне положительной клинической динамики у пациентов данной группы уровень сывороточного TNF- $\alpha$  снизился в 2,1 раза ( $p < 0,05$ ), но был достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем у детей контрольной группы. У детей I группы содержание TNF- $\alpha$  в сыворотке крови в течение всего заболевания достоверно не отличалось от показателей контрольной группы.

Анализ результатов исследования локальной продукции TNF- $\alpha$  показал, что уровень TNF- $\alpha$  в копрофильтратах у пациентов II группы в 7,6 раза превышает показатели контрольной группы ( $p < 0,05$ ) и составляет  $31,04 \pm 2,71$  ммоль/л. На фоне положительной динамики отмечалось достоверное ( $p < 0,01$ ) снижение количества TNF- $\alpha$  в копрофильтратах. У детей I группы содержание TNF- $\alpha$  в копрофильtrate в течение всего заболевания достоверно не отличалось от показателей здоровых детей.

Учитывая проявление биологической активности TNF- $\alpha$  после связывания с трансмембранными рецепторами, для уточнения его локальной активности было также определено содержание растворимого рецептора sTNF RII. Представленность рецепторов sTNF RII TNF- $\alpha$  в копрофильтратах у детей II группы, как на высоте клинических проявлений, так и на фоне положительной динамики была достоверно ( $p > 0,05$ ) выше, чем у здоровых детей.

Проведенный анализ показал наличие линейной прямой средней степени выраженности корреляционной связи ( $r_{xy} = 0,56$ ) между уровнем TNF- $\alpha$  в крови и в слюне ( $p < 0,05$ ), TNF- $\alpha$  в крови и копрофильtrate ( $r_{xy} = 0,69$ ,  $p < 0,05$ ), а также между содержанием TNF- $\alpha$  в сыворотке и его растворимого рецептора sTNF RII в копрофильтратах ( $r_{xy} = 0,61$ ,  $p < 0,05$ ) у больных II группы.

Таким образом, проведенное исследование показало повышение продукции TNF- $\alpha$  у детей с аллергической энтеропатией на системном и локальном уровнях. При этом TNF- $\alpha$  можно рассматривать в качестве аутокринного

участника мукоэпителиального повреждения и триггера развития целого каскада иммунопатологических реакций. Избыток провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  создает условия для поддержания хронического воспаления в слизистой оболочке путем снижения процессов антиинфекционной защиты, формирования локального иммунодефицитного состояния и усиления повреждающего действия различных антигенов и патогенных микроорганизмов. Возможно, что возрастание содержания растворимых форм рецептора (sTNF RII) к TNF- $\alpha$  может быть одним из механизмов снижения синтеза этого цитокина у пациентов с воспалительным, в том числе аллергического характера, процессом в кишечнике. Можно считать, что возрастание шеддинга рецепторов с поверхности клеточных мембран в активную фазу заболевания выполняет роль своеобразного «резервуара» этого цитокина в организме, продлевая период его полураспада и участвуя в доставке его в очаг повреждения.

Следовательно, изучение локальной продукции провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  и его растворимого рецептора sTNF RII в ЖКТ при энтеропатиях у детей грудного возраста, в силу неинвазивности применяемой методики, способствует своевременной диагностике заболевания, проведению патогенетической терапии и профилактике дефицитных состояний у пациентов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бельмер С.В. Ключевые вопросы детской гастроэнтерологии / С.В. Бельмер // Доктор. Ру. – 2014. – № 3. – С. 21-22.
2. Бодиенкова Г.М. Роль полиморфизма и экспрессии отдельных генов цитокинов в формировании патологии (обзор) / Г.М. Бодиенкова, Ж.В. Титова // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 1-4. – С. 616-620.
3. Шуматова Т.А. Иммунопатогенетические аспекты формирования пищевой непереносимости у детей / Т.А. Шуматова, Н.Г. Приходченко, Э.Ю. Катенкова // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2012. – № 4. – С. 185-186.
4. Durham L. E. Food allergies in children / L. E. Durham // BMJ (Clinical Research Ed.). – 2011. – V. 342. – P. 2294.
5. The rapidly changing world of food allergy in children / K. Anagnostou, R. Meyer, A. Fox et al. // F1000prime. – 2015. – Mar. 03. – Vol. 7. – P. 35

## IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF ENTEROPATHY IN INFANTS

T.A. Shumatova, L.A. Grigoryan, N.G. Prihodchenko, E.S. Zernova

In order to find non-invasive markers of early differential diagnosis enteropathy in infants were analyzed content in saliva, serum, coprofiltrates TNF- $\alpha$  and its soluble receptor sTNF RII at 50 children aged 6 to 12 months with persistent diarrhea more than 3 weeks. The results of immunological studies in patients with intolerance to cow's milk proteins showed increased production of TNF- $\alpha$  in the system and local levels. The study of local production of proinflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and its soluble receptor sTNF RII in the gastrointestinal tract with enteropathies in infants, due to non-invasive technique, promotes early diagnosis of the disease, conducting of pathogenetic therapy and prevention of deficiency states in patients.

---

## КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ И ДИСФУНКЦИИ ИММУННОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ РЕЦИДИВИРУЮЩИМ АДЕНОИДИТОМ И МЕТОДЫ ИХ КОРРЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОЗОНОТЕРАПИИ

Щетинин С. А., Гизингер О. А., Коркмазов М. Ю.

*ГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный медицинский университет  
Минздрава России, Челябинск, Россия*

Хронический аденоидит – воспалительное полиэтиологическое заболевание, при котором регистрируется ослабление антигенспецифического иммунного ответа организма ребенка, что проявляется частыми рецидивами заболевания и длительным течением его обострения. Цель: провести клинико-иммунологическую оценку эффективности использования озонированного масла при лечении хронического рецидивирующего аденоидита у детей. В исследовании приняло участие 96 детей в возрасте от 3 до 8 лет с хроническим аденоидитом, в анамнезе которых обострение заболевания от 3 до 6 раз в год. Было сформировано 3 группы: группа 1 состояла из 12 условно здоровых детей без хронической патологии лимфоглоточного кольца Пирогова-Вальдейера с санированной полостью рта, группа 2 – 46 детей (получали орошение полости носа физиологическим раствором в качестве монотерапии 2 раза в день в течение 10 дней), группа 3 включала 50 детей (получали комплексную терапию с использованием оливкового масла, озонированного в соответствии с практическими рекомендациями). Проведенное исследование указывает на наличие положительной клинической динамики и иммуномодулирующего действия озонированного масла по уровню содержания ИЛ-6, sIgA, что позволяет рекомендовать его в комплексной терапии для лечения детей с хроническим аденоидитом.

Хронический аденоидит – воспалительное полиэтиологическое заболевание, при котором регистрируется ослабление антигенспецифического иммунного ответа организма ребенка, что проявляется частыми рецидивами и длительным течением обострения данного заболевания у детей в возрасте от 3 до 8 лет. [1]. Хронический воспалительный очаг глоточной миндалины изменяет иммунобиологическую

реактивность детского организма и обуславливает развитие вторичных иммунопатологических состояний [2].

Цель: провести клинико-иммунологическую оценку эффективности использования озонированного масла при лечении хронического аденоидита у детей.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на базе детской городской кли-

нической больницы № 1 города Челябинска (гл. врач Ч. Ю. Ведом). За период с 2013 по 2014 год в исследовании приняло участие 96 детей в возрасте от 3 до 8 лет с хроническим рецидивирующим аденоидитом в анамнезе, от родителей которых или их законных представителей было получено письменное информированное согласие на участие в соответствии с основами законодательства РФ «Об охране здоровья граждан, правил проведения клинической практики в РФ», (приказ МЗ РФ № 266 от 19.07.03 г.; приказ Росздравнадзора № 2325-Пр/06 от 17.10.06 г.). Из исследования были исключены дети с показаниями к назначению системной антибактериальной терапии, с гнойными заболеваниями носа и околоносовых пазух, с клинически значимыми изменениями архитектоники носа, гипертрофией аденоидных вегетаций 3, дети с несанированной полостью рта, с синдромом обструктивного апноэ сна, острым и хроническим средним отитом, с соматическими заболеваниями в стадии декомпенсации, ВИЧ-инфицированные дети. Для проведения исследования были сформированы 3 группы. Группа 1 состояла из 12 условно здоровых детей без хронической патологии лимфоузлов Пирогова-Вальдейера с санированной полостью рта; группа 2 – 46 детей (21 мальчик и 25 девочек) получали орошение полости носа физиологическим раствором в качестве монотерапии 2 раза в день в течение 10 дней; группа 3 включала 50 детей (27 мальчиков и 23 девочки), которые получали комплексную терапию с использованием озонированного масла. Озонирование рафинированного оливкового масла проводилось на медицинском озонаторе «Медозонс БМ» (сертификат соответствия № РОСС RU.АЯ74.Н07406) при полном следовании практической рекомендации: 100 мл. масла барботировали в течение 20 минут при концентрации озона в кислородной смеси 10 мг/л. [3]. Пациентам из группы 3 на первом этапе проводилось орошение носа изотоническим раствором хлорида натрия, затем при помощи капельной пластиковой пипетки с удлиненным тонким кончиком под контролем эндоскопа озонированное масло наносили на поверхность глоточной миндалины дважды в день в течение 10 дней.

Всем детям до начала лечения проводилось полное клиническое обследование, изучение анамнеза жизни и заболевания, сбор жалоб,

забор слюны для иммунологического исследования, инструментальный осмотр, эндоскопическое исследование носа и носоглотки жестким эндоскопом диаметром 2,7 мм. с 00 торцевым сечением по стандартной методике. Контрольное исследование было проведено через 30 дней от начала терапевтических мероприятий и включало в себя повторный сбор жалоб, инструментальный и эндоскопический осмотр, забор слюны. Концентрацию секреторного иммуноглобулина А (sIgA), содержание интерлейкина 6 (ИЛ-6) определяли в слюне методом твердофазного ИФА с помощью тест-систем «IgA секреторный-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» (Россия). Оптическую плотность конечного продукта ферментативной реакции определяли с помощью иммуноферментного анализатора Stat Fax 2100 (Awareness Tech.Inc., USA) при длине волны 492 нм. Результаты измерений выражали в условных единицах оптической плотности, соответствующих значениям экстинкции конечного продукта ферментативной реакции для разведения тестируемой ротовой жидкости 1:10. Статистический анализ данных проводился при помощи пакета статистических программ STATISTICA 12.5 (StatSoft, 2014). Для всех видов анализа статистически достоверными считались значения  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** Анализ клинических проявлений у пациентов с хроническим аденоидитом до начала лечения выявил следующее: жалобы на затруднение носового дыхания у 80 детей; кашель, преимущественно в утренние часы, у 78 детей; храп у 73 детей; гнусавость у 71 ребенка. При эндоскопии носоглотки у детей обеих групп была выявлена гипертрофия аденоидов: 1 степени – 15 детей (у 8 из них была проведена аденотомия), 2 степени у 81 ребенка. У 84 детей было обнаружено отделяемое на глоточной миндалине, из них преимущественно слизистого характера отмечено у 48 детей, гнойного у 36 детей. При контрольном осмотре детей из обеих групп достоверно уменьшились предъявляемые жалобы ( $p < 0,05$ ), тем не менее, у детей из группы 2 уменьшение жалоб составило от 46% до 56%, у детей из группы 3 отмечалось уменьшение жалоб от 66% до 82%. При эндоскопическом осмотре через 1 месяц от начала лечения отмечено уменьшение количества детей с аденоидами 2 степени: у 3 (7%) детей из группы 2 и 7 (14%) детей из группы 3. В группе паци-

ентов, получавших ирригационное лечение в виде монотерапии, слизистое отделяемое на аденоидных вегетациях сократилось с 22 (48%) до 15 (33%) человек, с гнойным отделяемым с 19 (41%) до 10 (22%) человек. В группе детей, дополнительно получавших озонированное масло, слизистое отделяемое на глоточной миндалине сократилось с 26 (52%) до 9 (18%) человек, гнойное отделяемое с 19 (18%) до 2 (4%) человек. Анализ содержания секреторного иммуноглобулина А в слюне у детей сравниваемых групп показал увеличение исследуемого иммуноглобулина у детей с хроническим аденоидитом в среднем в 1,5-2,5 раза по отношению к показателям детей из группы 1, где он составил  $464 \pm 12,6$  мкг/л ( $p < 0,05$ ). Данное повышение секреторного иммуноглобулина А у детей с хроническим аденоидитом, по нашему мнению, может быть связано с постоянным длительным присутствием на глоточной миндалине патобионтов, приводящих к гиперактивации иммунокомпетентных клеток, функционирующих, возможно, на пределе своих функциональных возможностей, что согласуется с ранее приведёнными данными по проблеме хронических инфекционных заболеваний глоточного кольца [4, 5]. Содержание ИЛ-6, повышенное у детей с хроническим аденоидитом ( $3,78 \pm 0,78$  пг/мл) в процессе комплексной терапии с использованием озонированного масла достоверно приблизилось к по-

казателям детей из группы 1  $2,56 \pm 0,49$  пг/мл. ( $p < 0,05$ ). По нашему мнению, нормализация содержания ИЛ-6 связано с купированием воспалительного процесса. В группе детей, пролеченных с использованием ирригационной терапии (группа 2) содержание ИЛ-6 достоверно не изменилось ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, проведенное исследование указывает на наличие положительной клинической динамики и иммуномодулирующего действия озонированного масла по уровню содержания ИЛ-6, sIgA, что позволяет рекомендовать его в комплексной терапии для лечения детей с хроническим аденоидитом.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brandtzaeg P. Potential of nasopharynx-associated lymphoid tissue for vaccine responses in airways. *AM J RESP CRIT CARE* 2011; Vol. 183; № 12: 1595-1604.
2. Козлов В.С. Аденоиды/ В.С. Козлов, В.В. Шиленкова, В.А. Карпов// М.: Полиграфист и издатель, 2010- С. 85-99, 172 с.
3. Масленников О.В., Конторщикова К.Н.. Практическая озонотерапия. Пособие.- Н. Новгород: Вектор – ТиС, 2003.- 52с.
4. Теплова С.Н. Секреторный иммунитет/ С.Н. Теплова Д.А. Алексеев.- Челябинск, 2002.- 200 с.
5. Иммунотерапия. Руководство для врачей. Под ред. Р.М. Хаитова, Р.И. Атауллаханова, ГЭОТАР, 2011, 669 с.

## CLINICAL MANIFESTATIONS AND DYSFUNCTION OF THE IMMUNE STATUS IN CHILDREN WITH CHRONIC RECURRENT ADENOIDITIS AND METHODS OF CORRECTION USING OZONETHERAPY

S. A. Shchetinin, O. A. Gizinger, M. Y. Korkmazov

*South Ural State Medical University, Russian Ministry of Health, Chelyabinsk, Russia*

Chronic adenoiditis – polietiological inflammatory disease in which the antigenis recorded weakening of the immune response. The aim: to assess clinical and immunological efficiency of ozonated oil in the treatment of chronic recurrent adenoiditis of children. The study involved 96 children aged 3 to 8 years with chronic adenoiditis with a history of exacerbations from 3 to 6 times a year. Combined therapy with ozonated oil performed in 50 children comparison group consisted of 46 children receiving nasal irrigation with saline 2 times a day for 10 days. The study indicates the presence of positive clinical dynamics and immunomodulatory effects of ozonated oil in the level of IL-6, sIgA, which can be recommended in the treatment of chronic adenoiditis.

## ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ АЛЛЕРГИИ МИКРОКЛЕЩЕВОЙ ЭТИОЛОГИИ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ МЕГАПОЛИСА

Юлдашев И. Р., Искандарова М. А., Юлдашов С. И.

*Ташкентский педиатрический медицинский институт,  
Ташкент, Узбекистан*

Полученные результаты эпидемиологических исследований помогают выяснить истинные показатели аллергической заболеваемости детского населения, что имеет большое значение в разработке эффективных лечебно-профилактических мер, направленных на снижение динамики роста заболеваемости и смертности от аллергических заболеваний.

*Ключевые слова:* аллергия, микрокleshивая этиология, дети

**Актуальность.** Необходимость эпидемиологических исследований объясняется тем, что данные, полученные на основе обращаемости пациентов в лечебные учреждения, не соответствуют истинной распространенности аллергических заболеваний, так как многие больные либо вообще не обращаются в медицинские учреждения, по разным причинам, либо сами врачи, тоже по разным причинам, не устанавливают точный диагноз аллергических заболеваний [1, 3]. Все это приводит к низким показателям распространенности аллергии среди детского населения [2, 5].

Проблема аллергии носит региональный характер. Это объясняется следующими факторами [4, 7]:

1. Для каждого региона характерным является свой спектр аллергенов, которые являются причиной сенсибилизации организма больных.

2. Каждый регион имеет свои особенности климато-погодных факторов, существенным образом влияющих на развитие аллергических болезней.

3. На формирование аллергических болезней важное значение оказывают этнические особенности коренного населения, их образ жизни, характер питания и др.

Есть все основания полагать, что и в нашей республике аллергические заболевания встречаются часто. Дело в том, что Узбекистан имеет мощную промышленность и развитое сельское хозяйство. Здесь в большом количестве встречаются аллергенные материалы в воздухе, по-

чве, воде и пищевых продуктах. В республике ликвидированы массовые инфекционные заболевания и широко применяются лечебно-профилактические средства (сыворотки, вакцины и др.), которые в определенных условиях могут быть аллергенами. Значительная часть населения живет в городах с их напряженным ритмом жизни (стрессовый фактор). Вышесказанное ранее свидетельствует о необходимости тщательных исследований различных аспектов краевой аллергологии в Узбекистане.

В связи с этим, эпидемиологические исследования, проведенные на основе экспедиционных исследований, позволяет получить надежные и сравнимые данные по распространенности симптомов аллергии [6].

**Цель исследования:** изучить особенности распространенности аллергии микрокleshивой этиологии среди детского городского населения по международной программе экспедиционного метода исследований.

**Материалы и методы исследования:** особенностью данной программы является то, что субъектами для исследования являются дети 2 возрастных групп: 6-7 и 13-14 лет. Младшая возрастная группа выбрана в связи с тем, что именно в этом периоде отмечается наибольшая тенденция к росту частоты бронхиальной астмы и других аллергических заболеваний, а также высокая частота госпитализации. Старшая возрастная группа выбрана в связи с тем, что в этом периоде чаще отмечается смертность от бронхиальной астмы и других острых аллергических реакций.

Для удобства исследований нами была взята младшая группа в возрасте 7-8 лет, то есть первоклассники.

Для выяснения региональных особенностей распространения аллергии микроклеточной этиологии у детей, проживающих в условиях крупного мегаполиса г. Ташкента, провели двухэтапное эпидемиологическое исследование.

Первый этап исследования включал анкетный опрос 2870 детей школьного возраста. Анализ результатов исследования показал репрезентативность отобранного материала по отношению к общей совокупности детей-школьников. Из общего количества (2870) опрошенных удельная частота детей в возрасте 7-8 лет составила  $1344 (46,8 \pm 0,9\%)$ , а детей в возрасте 13-14 лет –  $1526 (53,2 \pm 0,9)$  ( $p < 0,05$ ).

Среди 2870 опрошенных детей симптомы аллергии выявили у 541 (18,8%) детей.

У детей отмечались симптомы разных аллергических реакций и заболеваний, в том числе характерные для пищевой аллергии, атопического дерматита, бронхиальной астмы, поллинозов и др. Удельная частота симптомов аллергии была достоверно ( $p < 0,05$ ) выше среди детей старшего (13-14 лет) возраста ( $56,9 \pm 2,1\%$ ), чем среди детей младшего (7-8 лет) возраста ( $43,1 \pm 2,1$ ).

Наши данные подтверждают, что при эпидемиологических исследованиях экспедиционным методом удается выявлять более точную и достоверную информацию об аллергической заболеваемости детского населения. Об этом свидетельствует и тот факт что, по данным официальной статистики, частота выявляемости аллергии у детей не превышает 3,7%.

Анализ полученных данных относительно частоты аллергии микроклеточной этиологии показал следующие результаты. Из общего количества детей (541) с различными симптомами аллергии, на втором этапе исследований выявили аллергические реакции и заболевания у 30 (5,5%) детей: мальчики 16 (53,3%), девочек 14 (46,7%).

Анализ интенсивных показателей определил, что частота аллергии микроклеточной этиологии на 1000 обследованных детей составляет  $10,4 \pm 1,8$ . Среди пациентов детей в возрасте 7-8 лет было несколько больше – 17 (56,7%), чем детей в возрасте 13-14 лет – 13 (43,3%). Клинические формы проявления аллергии микроклеточной этиологии были

следующие: аллергические риносинуситы – 12 (40,0%) рецидивирующие обструктивные бронхиты 7 (23,3%), бронхиальная астма – 7 (23,3%), аллергические дерматиты – 4 (13,3%). Длительность болезни находилась в пределах от 1 до 9 лет. Основное заболевание часто сочеталось с другими аллергическими болезнями: пищевой аллергией (18), лекарственной аллергией (12). Нередко встречалась и соматическая патология: болезни желудочно-кишечного тракта (10), сердечно-сосудистой системы (8), нервной системы (6). В развитии болезни существенное значение имели факторы риска: наследственная отягощенность 21 ( $70,0 \pm 8,3\%$ ) аллергический диатез – 17 ( $56,6 \pm 12,0$ ), фокальные инфекции 17 ( $56,6 \pm 12,0$ ), искусственное вскармливание – 18 ( $60,0 \pm 8,9$ ).

Дети, страдающие аллергией микроклеточной этиологии, отстают в учебе, то есть успеваемость в определенной степени ниже, чем у других учеников. Кроме того, физическое развитие также является слабым.

В сенсibilизации организма больных детей большое значение имели микроклетки домашней пыли. Частота положительных реакций кожи при постановке скарификационных тестов на аллергены микроклеточной домашней пыли зависела от вида аллергена и степени повышенной чувствительности организма детей.

Независимо от клинических форм проявлений аллергии, чаще всего (50%) наблюдали положительные реакции на аллерген *G. Cadaverum*. На аллерген *D. Pteronyssinus* положительные результаты отмечались в 26,7% случаев. Далее положительные реакции, соответственно, составили на аллерген *D. Farinae* – 13,3%, *G. Destructor* – 6,7%, *G. Domesticus* – 3,3%.

В развитии сенсibilизации организма детей, страдающих аллергическими риносинуситами важное значение имели все 5 исследованных нами аллергенов микроклеточной домашней пыли. Аналогичную картину наблюдали также у детей, страдающих рецидивирующими обструктивными бронхитами.

У детей, страдающих бронхиальной астмой, в сенсibilизации организма, большое значение имели аллергены *G. Cadaverum*, *D. Pteronyssinus* и *D. Farinae*, а при аллергических дерматитах – *G. Cadaverum* и *D. Pteronyssinus*. Выраженность воспалительной реакции кожи на аллергены также была различной, но, в основном, преобладали случаи реакции, выраженные на 3+

и 4+. Так, например, на аллерген *G. Cadaverum* выраженность реакции кожи на 3+ и 4+ составила 36,7%. А показатели местной аллергеной активности – 1837.

Известно, что одна из особенностей аллергии – это высокая степень сенсибилизации организма. По нашим данным, показатели алергометрического титрования составили на аллерген *G. Cadaverum* –  $10^{-8}$ , *D. Pteronyssinus* –  $10^{-7}$ , *D. Farinae* –  $10^{-6}$ , *G. Destructor* –  $10^{-4}$ , *G. Domesticus* –  $10^{-4}$ . Следовательно, степень сенсибилизации организма была выражена в достаточно высокой степени.

Представлял определенный интерес анализ материала относительно соотношения моно- и полисенсибилизации. По нашим данным частота полисенсибилизации существенно превышал частоту моносенсибилизации.

Так, частота полисенсибилизации на аллергены микроклещей домашней пыли находилась в пределах 50,0-85,7% (в среднем –  $76,2 \pm 7,7\%$ ), а моносенсибилизация – 14,2-50,0% (в среднем –  $23,7 \pm 7,7\%$ ).

**Заключение.** Таким образом, удалось определить, что среди школьников, проживающих в условиях крупного города Ташкента, нередко встречается аллергия микроклещевой этиологии. В формировании сенсибилизации организма большое значение имеют такие микроклещи как *G. Cadaverum*, *D. Pteronyssinus*, *D. Farinae*, *G. Destructor*, *G. Domesticus*, а также такие факторы риска как наследственная отягощенность, аллергический диатез, фокальные инфекции и искусственное вскармливание в первый год жизни новорожденного. Аллергия микроклещевой этиологии имеет некоторые особенности клинического течения: превышение удельной частоты полисенсибилизации, частое сочетание нескольких форм

аллергических реакций, полиморфизм и нестабильность клинической симптоматики, частое поражение желудочно-кишечного тракта, а также нарушение функциональной деятельности центральной нервной системы, физического развития.

Проведенные эпидемиологические исследования подтверждают преимущества программы ISAAC, которая способствует получению истинных показателей распространенности аллергии микроклещевой этиологии у детей, что имеет большое значение в определении профилактических и лечебных мероприятий в отношении детей, страдающих аллергией микроклещевой этиологии.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зарицкая Л. В., Желтикова Т. М., Черняк Б. А. Клещи домашней пыли в жилых помещениях г. Иркутска // Аллергология. – 2002. – № 1. – С. 21-25.
2. Лусс Л. В. Аллергия – болезнь цивилизации: эпидемиология, факторы риска, этиология, классификация, механизмы развития // Consilium Medicum. – 2002. – Т. 4. – № 4. – С. 3-13.
3. Суровенко Т. Н. Сенсибилизация к клещам домашней пыли и ее роль в развитии аллергического воспаления дыхательных путей при бронхиальной астме и аллергическом рините. Дисс. ... док. мед. наук. – Владивосток, 2005. – 316 с.
4. ARIA. Аллергический ринит и его влияние на бронхиальную астму // Аллергология. – 2001 (Приложение). – № 3. – С. 43-56.
5. Early rapid weight gain and current overweight in relation to asthma in adolescents born with very low birth weight. / X. M. Mai, P. O. Gaddlin, L. Nilsson, I. Leijon // Pediatr. Allergy Immunol. – 2005. – Vol. 16, N 5. – P. 380-5.
6. Obesity is associated with increased risk of allergy in Vietnamese adolescents / A. V. Irei, K. Takahashi, D. S. Le et al. // Eur. J. Clin. Nutr. – 2005. – Vol. 59, N 4. – P. 571-577.

## THE OCCURRENCE FREQUENCY OF ALLERGY OF MIKROTICK ETIOLOGY IN CHILDREN IN CITIES

Yuldashev I. R., Iskandarov M. A., Yuldashev S. I.

The results of epidemiological studies help to find out the true performance of an allergic child morbidity, which is of great importance in the development of effective treatment and preventive measures aimed at reducing the growth dynamics of morbidity and mortality from allergic diseases.

*Key words:* allergy, mikrokleschivaya etiology, children

---



---

**Авторский указатель**


---



---

<b>А</b>		Василенко Т. М.	220
Абаева Н. Г.	132	Василиади Р. В.	223
Абакумова Т. В.	44	Васильева Ж. Б.	65
Абрамович Р. А.	5	Васнева Ж. П.	37, 39
Азизова З. Ш.	144	Вахлова И. В.	70
Азнабаева Л. Ф.	94	Вдовина Н. А.	61, 214
Аксенова Н. С.	7	Верблани Н. А.	37
Альтман Е. В.	9	Ветрова Е. Н.	90
Амирова В. Р.	94	Вижуева Е. М.	163
Амирова Г. Ф.	146	Волков А. Г.	209
Андреева И. И.	189, 191	Волкова Т. О.	120, 163
Андрианова И. И.	161	Воробьев А. Н.	5
Антонеева И. И.	44	Вороненко И. И.	25
Арипова Т. У.	51	<b>Г</b>	
Асташина Н. Б.	46	Газалиева М. А.	41
Ахмалудинова Л. Л.	41	Газатова Н. Д.	49
Ахметова Н. Ш.	41	Гайдар А. И.	14
<b>Б</b>		Галкина О. П.	161
Бабак М. Л.	207	Генинг С. О.	44
Бажин А. С.	12	Генинг Т. П.	44
Бархина Т. Г.	14	Гизингер О. А.	154, 255
Басиева О. З.	17, 20	Говдалюк А. Л.	202
Басиев З. Г.	20	Годовалов А. П.	46, 130
Баяндина М. М.	251	Голенков А. К.	236
Бегишева Р. Р.	184	Голошубова Е. А.	189, 240
Бедулева Л. В.	187	Гончаров А. Г.	49
Безрукова Е. В.	23	Гордиенко А. И.	28, 165
Безрученко Н. В.	61	Грачева Л. А.	135
Белова Л. Л.	120	Григорьянц К. Э.	51
Беловолова Р. А.	25	Григорян А. В.	195
Белоглазов В. А.	28, 165	Григорян Л. А.	253
Белозерцева Ю. П.	82	Гриценко В. А.	82
Белокопытова И. С.	142	Гришина Т. И.	245
Бердичевская Е. М.	248	Гущин М. Ю.	14
Боднарюк И. В.	202	<b>Д</b>	
Болдырева М. Н.	176	Давыдова Е. В.	220
Болдырева Ю. С.	30	Давыдова Н. А.	25
Болиева Л. З.	150	Дедова О. Ю.	41
Борзенко С. А.	108	Деев А. Д.	178
Борисова Т. К.	33	Дейгин В. И.	5
Бородулина Е. А.	39	Демьянова В. Т.	148
Бородулин Б. Е.	39	Денисенко В. Б.	54, 195
Бубнова О. А.	59, 214	Джумаева Д. Н.	144
Буйнова С. Н.	35	Дианова Д. Г.	214
Бутина Е. В.	101	Дмитриева Л. А.	56
<b>В</b>		Дмитриев Г. В.	33
Варганян Р. В.	90	Добрынина М. А.	82

---



---

**Авторский указатель**


---



---

Докшина И. А.	148	Карпов В. В.	132
Долгих О. В.	59, 61	Катаева Е. В.	236
Долгова Д. Р.	44	Качегура Л. В.	108
Долгополова О. Г.	25	Ким М. А.	193
Долгушин И. И.	123	Киселева А. Н.	101
<b>Е</b>		Клюева Е. Н.	187
Евсеева Г. П.	63, 65, 77, 80	Коваленко Е. И.	96, 218
Елисеева В. С.	68	Ковчур П. И.	120
Емелина Ю. Н.	70	Козлов В. К.	63, 65, 80
Ергешева А. С.	73	Колесник В. М.	161
Ерохина С. А.	96, 218	Кологривова Е. Н.	103
Ерыгина Е. Н.	75, 180	Колчина А. С.	103
Ефименко М. В.	63, 65, 77, 80	Колыванова С. С.	105
<b>Ж</b>		Комах Ю. А.	108
Железнова А. Д.	205	Коркмазов М. Ю.	255
Жидовинов А. В.	200	Коротаева И. А.	113
Жумабекова Б. К.	41	Костенко Е. И.	111
<b>З</b>		Костинов М. П.	182
Забелина Н. Р.	171	Котиева Л. А.	191
Зайцева Г. А.	101	Кривцов А. В.	59, 214
Зайцева Н. В.	59	Кругляк С. П.	68
Зайцева Н. С.	85	Кувшинова Е. Р.	167
Залялиева М. В.	184	Кудаева И. В.	115
Зверев В. В.	33	Кужильная Ю. А.	248
Зернова Е. С.	253	Кузнецова Т. Л.	37
Зотина Е. Н.	148	Култанов Б. Ж.	41
Зуева Е. Б.	82	Курбанов Д. Д.	118
Зурочка А. В.	82	Курмышкина О. В.	120, 163
Зурочка В. А.	82	Кутузова Л. А.	207
<b>И</b>		<b>Л</b>	
Иванов А. Ф.	88	Латюшина Л. С.	123
Илюха В. В.	163	Лебедев В. Ф.	56
Ирина М. П.	187	Левкович А. Ю.	127
Исаева Е. И.	90	Левкович М. А.	125, 127
Исаева Н. В.	101	Лиждвой В. Ю.	159
Искандарова М. А.	258	Ли Л. А.	63
<b>К</b>		Лиңде В. А.	125, 127
Кабатова И. Н.	92	Лобкова О. С.	30
Казанова Ж.-Л.	98	Логинова Н. П.	130
Казмирова О. В.	41	Лукашевич М. Г.	132
Каладзе Н. Н.	92, 202	Лучникова В. А.	214
Каленова Л. Ф.	12, 105	Любченко О. А.	25
Калимуллина А. Р.	94	<b>М</b>	
Калмыкова А. С.	137	Мавзютова Г. А.	146
Каневский Л. М.	96, 218	Мазова А. В.	135
Каракина М. Л.	98	Малашенко В. В.	49
Каримова Д. Ф.	73	Маликова Д. Б.	118

---



---

**Авторский указатель**


---



---

Мальшева Л. Ю.	123	Пирогова Е. А.	61, 214
Мамонова И. П.	232	Пискакова Т. П.	111, 212
Маркарова И. В.	137	Плахотя Т. Г.	127
Маркелова Е. В.	234	Половова Е. Б.	77
Маркова В. А.	152	Полторак А. Н.	163
Мартынов А. И.	245	Польнер С. А.	14
Мархайчук А. З.	49	Попенко Ю. О.	28, 165
Масальский С. С.	137	Попова Е. В.	167
Маснабиева Л. Б.	115	Попова М. В.	25
Матвеев С. В.	200	Поповская Е. В.	216
Матухно А. В.	77	Потанина О. Г.	5
Мелащенко О. Б.	49	Приходченко Н. Г.	253
Мельников А. Е.	49	Продеус А. П.	169
Мельникова Т. С.	33	Просекова Е. В.	171
Меньшиков И. В.	187	<b>Р</b>	
Меняйло М. Е.	49	Радаева О. А.	173
Меркушкина Т. А.	184	Репина Е. А.	176, 178
Мизерницкий Ю. Л.	35	Романова Н. В.	75, 180
Минаева Н. В.	251	Романов В. А.	75, 180
Мирсаева Г. Х.	146	<b>С</b>	
Миславский О. В.	245	Сабыныч В. А.	171
Михальченко Д. В.	200	Сависько А. А.	182
Михеенко А. А.	44	Сависько Ан. А.	182
Морозова Е. Н.	207	Саламова М. А.	227
Морозова О. В.	90	Самохина И. В.	108
Москалец О. В.	140, 142	Сарычева Ю. А.	205
Мурадосилова Л. И.	207	Сафиуллин А. И.	184
Мусаходжаева Д. А.	144, 229	Сафроненко Л. А.	132
Мухамадиева Л. Р.	146	Седегова О. Н.	46
<b>Н</b>		Селедцов В. И.	49
Назарова Е. Л.	148	Семенов А. В.	98
Нефедова Д. Д.	125	Сидоров А. Ю.	187
Новикова М. А.	12	Сизякина Л. П.	189, 191
<b>О</b>		Симбирцев А. С.	23, 173, 209
Овсянникова А. И.	150	Симованьян Э. Н.	54, 193, 195
Огнева О. И.	154	Скляр Л. Ф.	68, 113
Осиков М. В.	152, 154	Слетов А. А.	200
Осипова Г. Л.	157	Слободян Е. И.	202
Оспельникова Т. П.	157, 159	Смолягин А. И.	205
Останкова Ю. В.	98	Соболева Е. М.	92, 207
Островский А. В.	161	Соколова Ю. В.	191
<b>П</b>		Соловьев В. С.	105
Панкова Т. Б.	7	Стагниева И. В.	209
Панков Д. Д.	7	Старкова К. Г.	61, 214
Панфилова Т. В.	205	Степанова Е. Н.	178
Панченко Д. В.	200	Степанова О. В.	212
Петричук С. В.	108	Степукова А. С.	248

---



---

**Авторский указатель**


---



---

Стирманова А. Ю.	216	Черных О. Л.	56
Стрельцова М. А.	96, 218	Черняк Б. А.	88, 225
Строева В. С.	220	Четвертных В. А.	130
Сунцов Ю. И.	176	Чуксина Ю. Ю.	236, 238
Супрун Е. Н.	77	Чурсина Е. М.	169
<b>Г</b>		Чурюкина Э. В.	240
Тамбовцева А. А.	248	<b>Ш</b>	
Текуцкая Е. Е.	223	Шабанов Д. В.	245
Терентьев А. С.	187	Шадчнева Н. А.	28
Тимченко Н. А.	41	Шамсиев Ф. М.	144, 229
Тодосенко Н. М.	49	Шардаков В. И.	148
Трофименко И. Н.	225	Шашкова Е. Ю.	216
Тузанкина И. А.	70, 98	Швыдченко И. Н.	248
Тумасова М. Х.	25	Шевелев С. В.	236, 238
Турянская А. И.	171	Шестакова М. В.	176, 178
Тяпаева Я. В.	82	Шилов Д. Ю.	130
<b>У</b>		Шилов С. Ю.	243
Уханова О. П.	137, 227	Шилов Ю. И.	130, 243
<b>Ф</b>		Ширяева Д. М.	251
Файзуллаева Н. Я.	144, 229	Шмаров В. А.	49
Федосеева В. Н.	245	Шмителько А. В.	182
Федоскова Т. Г.	7, 169, 245	Шуматова Т. А.	253
Филиппова Ю. В.	205	<b>Щ</b>	
Фролов Б. А.	205	Щёголева Л. С.	216
<b>Х</b>		Щербина В. И.	140
Харсеева Г. Г.	182, 193	Щетинин С. А.	255
Холодок Г. Н.	80	<b>Э</b>	
Храмцова А. А.	223	Эбзеева И. И.	227
<b>Ц</b>		<b>Ю</b>	
Цельх Е. Д.	65	Юлдашев И. Р.	258
Цигулева О. А.	232	Юлдашов С. И.	258
<b>Ч</b>		Юрьева А. В.	207
Чайникова И. Н.	205	<b>Я</b>	
Чепурнова Н. С.	234	Яздовский В. В.	142, 236
Черепанов Д. А.	152	Ястребова Н. Е.	182

# Гамунекс®-С – 7 лет в России<sup>1</sup>

In the largest and longest clinical trial in CIDP  
GAMUNEX significantly improved  
CIDP patient outcomes



## Гамунекс®-С – ОПТИМАЛЬНЫЙ ВЫБОР ПРИ ТЕРАПИИ ВНУТРИВЕННЫМИ ИММУНОГЛОБУЛИНАМИ



Высокая концентрация препарата Гамунекс®-С позволяет в 2 раза снизить нагрузку объемом по сравнению с 5% внутривенными иммуноглобулинами<sup>2</sup>



Гамунекс®-С обладает оптимальными свойствами, что позволяет повысить безопасность терапии у пациентов с сопутствующими заболеваниями<sup>2,3</sup>



Гамунекс®-С значительно снижает частоту возникновения инфекций у пациентов с первичными иммунодефицитами (частота подтвержденных инфекций в год: 0,18).<sup>4</sup> У пациентов, не получающих внутривенные иммуноглобулины, частота серьезных инфекций в год  $\geq 4$ <sup>7</sup>



Гамунекс®-С обеспечивает быстрое повышение уровня тромбоцитов и его длительное сохранение в пределах нормы у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой. У 94% пациентов сохранялся уровень тромбоцитов  $50 \times 10^9/\text{л}$  к 23-му дню<sup>5\*</sup>



Гамунекс®-С обеспечивает выраженный и длительный клинический эффект при терапии хронической воспалительной демиелинизирующей полиневропатии<sup>6</sup>

\* - Было разрешено применять кортикостероиды в период с 7-го по 23-й день.

Литература: 1. Государственный реестр лекарственных средств 2015; 2. Gelfand E. W. Differences between IGIV products: Impact on clinical outcome. International Immunopharmacology. 2006; 6(4):592 – 599; 3. Siegel J. Safety considerations in IGIV utilization. International Immunopharmacology 2006; 6 (4): 523-7; 4. Roifman C.M., Schroeder H., Berger M., et al, and the IGIV-C in PID Study Group. Comparison of the efficacy of IGIV-C, 10% (caprylate/chromatography) and IGIV-C, 10% replacement therapy in primary immune deficiency: a randomized double-blind trial. International Immunopharmacology 2003;3:1325-1333; 5. Bussel J.B., Eldor A., Kelton J.G., et al, and the IGIV-C in ITP Study Group. IGIV-C, a novel intravenous immunoglobulin: evaluation of safety, efficacy, mechanisms of action, and impact on quality of life. Thromb. Haemost. 2004;91:771-778; 6. Hughes R.A.C., Donofrio P., Bril V., et al. Intravenous immune globulin (10% caprylate/chromatography purified) for the treatment of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (ICE study): a randomized Placebo-controlled trial. Lancet Neurol. 2008; 7: 136-44; 7. FDA. Safety, efficacy, and pharmacokinetic studies to support marketing of IMG as replacement therapy for humoral PID. Guidance for Industry. 2008.



**GRIFOLS**

ЗАО «Р-Фарм», 123154, Москва,  
ул. Берзарина д.19, корпус 1.  
тел: +7-495-956-79-37  
факс: +7-495-956-79-38

**Доказано наукой. Подтверждено пациентами.**

# Гамунекс®-С



иммуноглобулин человека  
нормальный 100 мг/мл

Претензии направлять по адресу: ЗАО «Р-Фарм», 123154, г.Москва, ул.Берзарина д.19, корпус 1. Тел.:+7-495-956-79-37, факс.:+7-495-956-79-38.  
E-mail: info@rpharm.ru, safety@rpharm.ru



# Межрегиональное общественное учреждение «Институт инженерной физики» (Научное, образовательное и производственное учреждение)



Институт инженерной физики в г. Серпухове – авторитетное инновационное предприятие оборонно-промышленного комплекса России. Институт, созданный в Серпухове 27 апреля 1993 г. небольшой группой военных ученых-единомышленников в тяжелый период сокращения армии, сегодня является стабильно работающим предприятием с мощнейшей научно-исследовательской и производственной базой. В Институте сложился коллектив профессионалов из офицеров в запасе и в отставке, ученых, педагогов, которые на практике, своим опытом, талантом и трудолюбием реализуют идею интеграции науки, образования и производства.

Главная задача ученых Института – генерация инновационных идей, превращение идеи в опытный образец – в готовое изделие с последующим серийным производством и внедрением в оборонную промышленность и другие отрасли экономики.

Президент Института – Председатель Правления Института Заслуженный деятель науки РФ, д.т.н, профессор Алексей Николаевич Царьков.

Генеральный директор – Первый Вице-президент Института, д.т.н, доцент Дмитрий Вячеславович Смирнов.

Научно-педагогический потенциал Института: более 700 сотрудников, среди которых 29 Заслуженных деятелей науки РФ и Почетных работников, 25 докторов и 98 кандидатов наук, 23 профессора и 88 доцентов.

Ученые Института выполняют научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы, успешно проводят исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и государственному оборонному заказу. На сегодняшний день по результатам выполненных исследований получено около 250 патентов и свидетельств.

Институт аккредитован как научная организация Министерством промышленности, науки и технологий (2001 г.) и Министерством образования и науки России (2013 г.). Решением Главного управления специальных программ Президента РФ на Институт с 2008 г. возложены функции НИО Заказчика. Институт имеет более 50 лицензий, аттестатов и сертификатов, выданных органами безопасности и управления федерального уровня.

По результатам проведения дней инноваций в 2013, 2014, 2015 годах, а также Форума Армия 2015, Институт был награжден Почетными знаками и отмечен дипломами Министерства обороны, как поставщик инновационных разработок.

Высокую оценку и одобрение со стороны Министерства обороны, Военно-промышленной комиссии, МЧС, ВМФ, ВДВ Российской Федерации получило разработанное учеными Института снаряжение и медицинское оборудование для Арктики, для работы медиков и военнослужащих в условиях низких температур

Не имеют мировых аналогов такие изобретения ученых Института, как: инерциально-спутниковая навигационно-геоинформационная система, аппаратно-программные комплексы управления средствами связи, механические кодировочные устройства с изменяемым кодом.

В сентябре 2014 г. Институт инженерной физики открыл метрологический комплекс поверок и калибровок средств астрономо-геодезического обеспечения, который является хранителем Российского эталона значений азимута. Комплекс был построен за счет собственных средств Института, а оборудование разработано по заказу Министерства обороны РФ. Сердце комплекса – оптико-электронный астровизир (автоматическая система определения астрономического азимута) – это не имеющий аналогов в мире прибор, разработанный учеными Института.

Постоянно расширяется и совершенствуется материально-техническая и производственная база. В 2014 г. появилась необходимость в расширении производственных площадей для серийного и опытного производства ряда инновационных разработок, в котором основное место занимает линия по производству новейших лекарственных препаратов. Инновационные лекарственные препараты позволяют значительно повысить эффективность лечебно-диагностических мероприятий в области военно-полевой и госпитальной медицины при ликвидации различных природных и антропогенных чрезвычайных ситуаций.

Институт оказывает услуги населению и организациям в области IP-телефонии, Интернета, цифрового телевидения, систем теле-, видеонаблюдения, охранно-пожарных сигнализаций, спутникового ГЛОНАСС/GPS контроля объектов, электроизмерений, сертификации программных комплексов, аттестации объектов информатизации.

Институт уделяет особое внимание подготовке научных кадров. Молодые ученые Института ежегодно побеждают во Всероссийском конкурсе «Инженер года», «УМНИК» и других. На базе Института работают: Учебный центр «Интеграция» МАИ, кафедра Университета машиностроения (МАМИ), Институт информационных технологий и управления. В Институте действует аспирантура, диссертационный совет по защите докторских и кандидатских диссертаций. Институт издает научно-технический журнал «Известия Института инженерной физики», входящий в Перечень ВАК.

Институт занимается благотворительной деятельностью, социальной адаптацией военнослужащих. Он включен во Всероссийский Реестр социально ответственных предприятий и организаций России.

Современная научно-исследовательская, лабораторная, производственная база, многолетний опыт работы, высококвалифицированные специалисты – залог успешного развития Института с целью разработки и внедрения инновационных технологий на благо оборонно-промышленного комплекса и других отраслей экономики нашей страны.

Межрегиональное общественное учреждение  
«Институт инженерной физики»  
142210, Россия, Московская область,  
г. Серпухов, Большой Ударный переулок, д. 1«А».  
Тел.: 8(4967) 35-31-93, 35-13-71, 8(499)400-05-75.  
Факс: 8(4967) 35-44-20.  
Сайт: <http://www.iifrf.ru>.  
E-mail: [iifrfinfo@gmail.com](mailto:iifrfinfo@gmail.com) [info@iifrf.ru](mailto:info@iifrf.ru)



Президент Института –  
Председатель  
Правления Института,  
Заслуженный деятель  
науки РФ,  
доктор технических наук,  
профессор  
**Алексей Николаевич Царьков**



ISSN 1028-7221 Российский иммунологический журнал 2015, том 9 (18), № 3(1)