



РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ АЛЛЕРГОЛОГОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИММУНОЛОГОВ

РОССИЙСКИЙ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 1, 2017

В номере:

- Аллергическая реактивность
- Возможности восстановления микробиома у больных атопическим дерматитом
- Лекарственная аллергия. Методические рекомендации. Часть 3
- Анафилактические реакции на ужаление перепончатокрылыми
- Аллергический ринит или аденоидные вегетации?



ФАРМАРУС ПРИНТ МЕДИА

www.rusalljournal.ru

РОССИЙСКИЙ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 1, 2017



Абдуллаева Д.Г. Некоторые аспекты диетотерапии при пищевой аллергии.....	5
Бархина Т.Г., Гусниев С.А., Гущин М.Ю., Польшер С.А. Морфофункциональная характеристика состояния дыхательных путей при разных формах аллергического ринита	7
Асфандиярова Н.С., Скопин А.С., Демко А.Н., Евдокимова О.В., Коноплева В.И. Показатели клеточного иммунитета как фактор прогноза при раке молочной железы у женщин в период мено-паузы	11
Барычева Л.Ю., Глушко Е.В., Минасян М.М., Хачирова Л.С., Щербакова Б.В. Часто болеющие дети: взгляд врача аллерголога-иммунолога	13
Белан Э.Б., Садчиков Т.Л., Желтова А.А., Панина А.А., Тибирькова Е.В., Инина Л.И. Особенности иммунного статуса у детей раннего возраста с герпетическим ринофарингитом	16
Беловолова Р.А., Летифов Г.М., Панова И.В., Домбаян С.Х., Толстой О.В., Бухтоярова М.В., Беловолова Е.В., Зайцева Н.С. Иммунологические, ассоциированные с IgE и герпесвирусной инфекцией, фенотипы неспецифического неязвенного хронического колита у детей	18
Березовский А.С., Незабудкин С.Н., Незабудкина А.С. Дневной стационар, как эффективная модель оказания медицинской помощи детям с аллергическими заболеваниями	20
Валеева А.Р., Скороходкина О.В. Роль Th 17 лимфоцитов в индукции аутоиммунного воспаления при язвенном колите	22
Варламов Е.Е., Виноградова Т.В., Пампура А.Н. Профиль цитокинов у детей с atopическим дерматитом	24
Витчук А.В., Мешкова Р.Я., Ковригина Н.В., Аксенова Е.В., Слабкая Е.В., Волкова Е.В., Битюцкая В.В. Роль витамина D в патогенезе хронической спонтанной крапивницы	27
Кречетова Л.В., Вторушина В.В., Голубева Е.Л., Агаджанова А.А., Тетрашвили Н.К. Методика проведения лимфоцитиммунотерапии в преградиарной подготовке женщин с привычным выкидышем	29
Голицына А.А., Югай Ю.В., Костюшко А.В., Макаров П.М. Особенности цитокинового статуса в развитии пародонтита у пациентов с сопутствующим сахарным диабетом II типа	32
Грачев Н.И., Маркелова Е.В. Анализ интерлейкина-6 у пациентов с острым инфарктом миокарда, подвергшихся чрескожному коронарному вмешательству	34
Дидковский Н.А., Огурцов Д.П., Крынский С.А., Гурская О.Г., Шипулина О.Ю., Домонова Э.А., Сильвестрова О.Ю., Компанец И.А., Малащенко И.К. Мигалгический энцефаломиелит/синдром хронической усталости: уровень репликации лимфотропных герпетических вирусов	37
Еремин Д.В., Панов А.В., Кочкина Ю.В., Селянинов Ю.О., Зубаиров М.М., Кедик С.А. Иммуности-мулирующее действие сополимера N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина при вирусной геморрагической болезни кроликов	39
Ерыгина Е.Н., Романова Н.В., Романов В.А. Метаболизм моноцитов и его связь с провоспалительными цитокинами при дискоидной и системной красной волчанке	42
Жернов Ю.В., Аввакумова Н.П., Хаитов М.Р. Изучение влияния гуминовых кислот на аутоиммунное воспаление на модели адъювантного полиартрита	44
Жукова А.С., Ванько Л.В., Балашова Е.Н., Никитина И.В., Ионов О.В., Кречетова Л.В. Субпопуляционный состав лимфоцитов у недоношенных детей с дыхательными нарушениями инфекционного и неинфекционного генеза	46
Зиганшина М.М., Шилова Н.В., Хасбиуллина Н.Р., Ракитко А.С., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Тю-тюнник Н.В., Мантрова Д.А., Бовин Н.В., Сухих Г.Т. Репертуары анти-гликановых антител при физиологической и осложненной беременности	49
Златник Е.Ю., Бахтин А.В., Новикова И.А., Селютин О.Н., Туркин И.Н., Лазутин Ю.Н., Айрапетова Т.Г., Пыльцин С.П., Чубарян А.В. Взаимосвязи между иммунным статусом и количеством циркулирующих опухолевых клеток у больных раком легкого при различной распространенности и гистогенезе опухоли	52
Каландарова А.Н., Мусаходжаева Д.А. Динамика иммунологических параметров у женщин с заболеваниями шейки матки в результате лечения	55
Камалов З.С., Музафарова С.А., Хайдарова Ф.А. Уровень провоспалительных цитокинов у женщин с синдромом поликистозных яичников	58
Карпук И.Ю., Новиков Д.К. Взаимосвязь уровней дефензинов и метаболической активности нейтрофилов у пациентов с гиперчувствительностью к стоматологическим материалам	61
Земсков В.М., Козлова М.Н., Барсуков А.А., Шишкина Н.С., Земсков А.М., Алексеев А.А., Демидова В.С. Актуальность исследования лимфоидных и фагоцитарных клеток различных фенотипов при ожоговой болезни	64
Козлова О.С., Жестков А.В., Букина Т.В., Шишкова Т.И. Особенности течения заболевания у пациентов с первичными иммунодефицитами Самарской области	66
Колесникова А.Г., Колесников А.Н. Антимикробная активность и иммуномодулирующие свойства биологически активных комплексов, полученных из лекарственных растений	68
Косякова Н.И., Захарченко М.В., Кондрашова М.Н. Ферменты энергетического обмена в патогенезе atopической бронхиальной астмы	71
Кривонкина Е.А., Юдина С.М., Бакхирев А.М. Республика Карелия: аллергологический паспорт (на	

примере больницы скорой медицинской помощи г. Петрозаводска)	73
Левкович М.А., Ермолова Н.В., Аванесова Т.Г. Иммунопатогенез генитального эндометриоза	76
Лучникова Т.А., Приходько О.Б. Влияние генетических маркеров эндотелиальной дисфункции на течение бронхиальной астмы во время беременности	78
Прилуцкий А.С., Лыгина Ю.А. Анализ частоты сенсибилизации к лимону у детей с пищевой ал-лергией на основании клинических показателей и sIgE-антител	80
Дидковский Н.А., Огуцов Д.П., Крынский С.А., Гурская О.Г., Компанец И.А., Хайлов Н.А., Мала-шенкова И.К. Дисбаланс иммунного ответа у пациентов с миалгическим энцефаломиели-том/син-дромом хронической усталости	83
Маликова Д.Б., Курбанов Д.Д., Мусаходжаева Д.А. Оценка локального иммунитета при воспа-лительном генезе бесплодия	85
Масальский С.С., Уханова О.П., Калмыкова А.С. Роль периостина в фенотипировании аллергиче-ской бронхиальной астмы у детей	88
Менжинская И.В., Ванько Л.В. Характеристи-ка аутоантител к прогестерону у женщин с ран-ней потерей беременности	90
Мешикова Р.Я., Очкурено А.Е., Стунжас О.С. Ана-лиз структуры аллергических заболеваний у школь-ников 7-8 летнего возраста	93
Мешикова Р.Я., Целуева О.В., Слабая Е.В., Сазоненкова Л.В., Барсукова В.В. Уровень метаболи-тов витамина D у детей с селективной недостаточностью IgA	96
Мизгачева Н.Б., Жестков А.В. Распространенность атопического дерматита у детей раннего возрас-та в г. Самара	98
Барычева Л.Ю., Хайт Г.Я., Эрдни-Горяева Н.В., Ми-насян М.М. Экспрессия маркеров апоптоза иммуно-компетентными клетками у детей с сахарным ди-абетом 1 типа	101
Мусаходжаева Д.А., Арипова Т.У., Мамадалиева Я.С., Ешимбетова Г.З., Файзуллаева Н.Я. Ло-каль-ный уровень провоспалительных цитокинов у женщин с наружным генитальным эндометрио-зом	103
Надей Е.В., Нестерова К.И., Нечаева Г.И., Совалкин В.И., Шупина М.И. Ожидаемые результаты аллер-генспецифической иммунотерапии атопической брон-хиальной астмы коморбидной с аллергическим рини-том и атопическим дерматитом	106
Надей Е.В., Нестерова К.И., Нечаева Г.И., Шупина М.И., Терещенко Ю.В. Местотопических ин-терферонов в лечении острой респираторной вирусной инфекци-ей у беременных	109
Невежкина Т.А., Тулупова М.С., Костюшко А.В., Матюшкина Л.С. Определение уровня TGF- α , TGF- β 1 и TGF- β 2 при аногенитальных конди-ломах	111

Незабудкин С.Н., Рукуйжа М.С., Незабудкина А.С. Хламидофильная и микоплазменная инфек-ция в патогенезе длительного кашля и бронхообструк-тивного синдрома у детей	113
Прилуцкий А.С., Ткаченко К.Е. Исследование сен-сibilизации к антигенам различных сортов яблока у детей	115
Решетникова И.Д., Агафонова Е.В., Фассахов Р.С. Молекулярная диагностика - возможности прогнози-рования эффективности АСИТ	118
Романова Ж.Л., Федотова Н.В., Орехова О.Ю., Шу-това И.В., Осмоловская Л.Ю., Готовчикова А.А., Лузан Е.С. Особенности цитокинового профиля у больных с очаговой склеродермией	120
Рыбникова Е.А., Шабанов Д.В., Федоскова Т.Г., Пролдус А.П. Проблема инсектной аллергии в прак-тике педиатра	122
Сагакянц А.Б. Сывороточный альбумин в ре-гуляции функциональной активности интерфе-ронов	124
Бондаренко А.Л., Сапожникова В.В. Сравнитель-ная характеристика оппозиционных цитокинов (ИЛ-17а, ИЛ-35) сыворотки крови пациентов с эри-темной и безэритемной формами I стадии иксо-до-вого клещевого боррелиоза	127
Сергеева Г.Р., Емельянов А.В., Лешенкова Е.В., Знахуренко А.А., Реброва С.А., Асатиани Н.З. Ста-бильность фиксированной обструкции дыха-тельных путей у больных бронхиальной аст-мой	129
Краснопрошина Л.И., Серова Т.А., Бишева И.В., Фошина Е.П. Оценка специфического мукозаль-но-го иммунитета к <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Klebsiella pneumoniae</i>	132
Виткина Т.И., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Си-длецкая К.А. Экспрессия рецептора к IL-6 у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких раз-ной степени тяжести	134
Сизязкина Л.П., Андреева И.И. Вари-анты интраиммунной дисрегуляции и их исхо-ды	137
Синельникова Н.А., Калинина Н.М., Савенкова Н.Д. Представления об иммунопатогенезе хро-ниче-ской крапивницы у детей	139
Снимицкова И.А., Халилов М.А., Шохина М.Д., Честнихина А.Д., Захарченко О.Г. Эксперимен-таль-ное обоснование применения периоперацион-ной иммунофармакологической коррекции из-быточного адгезиогенеза	141
Суздальцева Т.В., Суздальцева Н.А. Патогенети-ческие варианты аспирина-индуцированной аст-мы	144
Сырцова М.А. Влияние некоторых антагонистов лейкотриеновых рецепторов на процессы вос-пале-ния и ремоделирования в лёгких, введенных мето-дом «сухой» инсuffляции на модели модифициро-ванной бронхиальной астмы	146

Терехов И.В. Содержание в мононуклеарных лейкоцитах периферической крови у реконвалесцентов внебольничной пневмонии факторов транскрипции и фосфорилированных форм терминальных компонентов MAPK/SAPK-сигнального пути 149

Фассахов Р.С., Тюрин Ю. А., Решетникова И.Д., Агафонова Е. В., Ризванов А.А., Шарифуллина А.А. Полиморфизм toll-подобный клеточных рецепторов TLR2 и TLR4 и уровень цитокинов у больных атопическим дерматитом 151

Мартынов А.И., Федоскова Т.Г., Феофанова Т.В., Зеленова З.В. Определение маркеров повышенного риска острой респираторной вирусной инфекции у работников химического производства по данным однократного иммуноэпидемиологического исследования 153

Федоскова Т.Г., Федосеева В.Н., Мартынов А.И., Шабанов Д.В., Миславский О.В., Маковецкая А.К. Исследование специфической активности аллергена из яда пчелы медоносной с использованием алгоритма пошаговой оценки 155

Бурлуцкая А.В., Фирсова В.Н., Шарова Е.В. Современные представления об этиопатогенетических аспектах диагностики и лечения РСВ инфекций у новорожденных детей на примере Краснодарского края 158

Фомина О.И., Фисенко В.Г., Турмова Е.П. Определение уровня интерлейкина 8, 13, TGF β 1 у пациентов с острым повреждением почек до и после аортокоронарного шунтирования 164

Фошина Е.П., Серова Т.А., Бишева И.В. Особенности мукозальной защиты у часто и длительно болеющих детей 166

Фролова Е.В., Козлова Я.И., Учеваткина А.В., Филиппова Л.В., Аак О.В., Соболев А.В., Клишко Н.Н. Характер изменений иммунного ответа у больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом 168

Хабибулина Л.Р., Власова Н.В., Кавеленова Л.М., Мазоха К.С., Асеева Е.В., Козлова О.С. Результаты лечения поллиноза пероральными аллергенами "Осенняя смесь трав" ("Севафарма", Чехия) в Самаре 171

Халимова З.А., Агаева Э.Н. Этиологический спектр пыльцевой аллергии в республике Дагестан 173

Хараева З.Ф., Сижажева О.А. Показатели активности апоптоза у больных с герпетической инфекцией 1, 2 типа и папилломавирусной инфекций высокого онкогенного риска 175

Харитоновна М.В., Сизякина Л.П., Соболева Т.Н. Особенности экспрессии мембранных маркеров В-лимфоцитов при серопозитивном варианте течения суставной и висцеральной форме ревматоидного артрита 177

Барычева Л.Ю., Хайт Г.Я., Какулия М.Г., Берновская А.А., Какулия Д.М., Хачирова Л.С. Па-

тогенетическая роль про- и противовоспалительных цитокинов в развитии первичной открытоугольной глаукомы 179

Хлудова Л.Г., Мясникова Т.Н., Романова Т.С., Латышева Т.В. Маски лекарственной аллергии. Разбор клинического случая 182

Хорева М.В., Латышева Т.В., Смирнова А.Д., Грачева Л.А., Бологов А.А., Захаров М.В. TLR-опосредованная выработка цитокинов мононуклеарными клетками периферической крови больных бронхиальной астмой 183

Хохлова А.С., Догадова Л.П., Филина Н.В., Очинникова О.В., Купчина Е.А., Иванис В.А. Изменение баланса субпопуляций Т-хелперов при прогрессировании глаукомной оптической нейропатии 187

Цигулева О.А., Барсукова Н.И., Обухова Л.Е. Некоторые аспекты изменений иммунитета при генитальном эндометриозе 189

Чепурнова Н.С., Маркелова Е.В., Тулупова М.С., Хамошина М.Б., Жданова О.Л., Иванова И.Е. Цитокиновый профиль у мужчин с вирусно-бактериальным уретритом до и после лечения 192

Чурюкина Э.В., Сизякина Л.П. Патогенетические аспекты формирования различных вариантов бронхиальной астмы 194

Шабанов Д.В., Федоскова Т.Г., Рыбникова Е.А., Мартынов А.И., Федосеева В.Н., Мухтермова Г.А., Миславский О.В. Особенности диагностики при гиперчувствительности на укусы перепончатокрылыми насекомыми 196

Шамонина Т.Н., Радаева О.А., Новикова Л.В. Клинический анализ значимости выявления аллельных вариантов полиморфных локусов T-511C, T-31C, C+3953T, G-1473C гена IL-1 β в качестве генетических факторов риска развития сахарного диабета при артериальной гипертензии на фоне метаболического синдрома 199

Шилова Н.В., Хасбиуллина Н.Р., Полякова С.М., Ракитко А.С., Нокель А.Ю., Бовин Н.В. Естественные антитела – новые биомаркеры, детектируемые с помощью микрочипа 202

Шиловский И.П., Сундукова М.С., Гайсина А.Р., Зарецкая М.А., Камышников О.Ю., Хаитов М.Р. Комплекс катионного пептида и молекул мРНК против ИЛ-4 эффективно снижают гиперреактивность бронхов и аллергическое воспаление на мышинной модели бронхиальной астмы 204

Шкорик Е.В., Силаев А.А., Гельцер Б.И., Турмова Е.П. Состояние системы цитокинов у пациентов с геморрагическими осложнениями после аортокоронарного шунтирования 206

Шоазизов Н.Н., Хасанов Н.А. Эффективность применения ликопада в комплексном лечении больных детей, страдающих хроническим риносинуситом 209

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ДИЕТОТЕРАПИИ ПРИ ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ

Абдуллаева Д. Г.

Ташкентский институт усовершенствования врачей

SOME ASPECTS OF DIET THERAPY AT A FOOD ALLERGY

Dilafruz Abdullaeva

Tashkent Institute of Postgraduate Medical Education

Аллергии относятся к наиболее распространенным и влияющим на экономические показатели заболеваниям. Особенно существенно то, что эти заболевания часто поражают детей, подростков и молодых людей, которые должны активно учиться или работать [3]. Увеличение количества аллергических заболеваний (АЗ) обусловлено отсутствием ранних достоверных методов диагностики и недостаточной эффективностью имеющихся способов терапии [5]. Среди аллергопатологии особое место занимает пищевая аллергия. На течение и развитие пищевой аллергии воздействует множество факторов, среди которых: генетически детерминированная предрасположенность организма, влияние факторов окружающей среды, чрезмерное воздействие антигенов на кишечник, иммуномодулирующее действие вирусных инфекций и различных заболеваний, которые повышают проницаемость кишечной стенки для нерасщепленных белков и других компонентов пищевых субстратов [8].

Исключительно важным является вопрос о динамике и профиле IgE-опосредованной сенсибилизации к различным аллергенам. Основными факторами, определяющими возможность развития сенсибилизации, являются наличие экспозиции и свойства (биохимические и физические) конкретного аллергена. Глобальные изменения климата отразились в изменении физико-химических констант, определяющих существование биологических систем, повлияли на количество пыльцы, её аллергенность, длительность сезона пыления. За последние годы резко расширился спектр растительных продуктов, входящих в пищевой рацион. Использование новых технологий в пищевой промышленности кардинальным образом изменило общепринятые представления о составе конкретного продукта. В продуктах животного происхождения могут содержаться рас-

тительные аллергены (колбасные изделия могут содержать соевые белки, орехи деревьев, специи и т.д.) [2]. Для всех больных не может существовать единая «стандартная» элиминационная диета. Рекомендации, прежде всего, должны учитывать индивидуальную гиперчувствительность к пище, очень часто неоправданное исключение большого числа продуктов питания негативно сказывается на психическом состоянии детей и взрослых. Исключение из питания больного ребенка раннего возраста некоторых продуктов питания, необходимых для роста, может негативно отразиться на его физическом развитии [4]. Для назначения оптимальной диетотерапии важно установить причинный аллергенный продукт. В исследованиях, проведенных в последнее время, было продемонстрировано, что сенсибилизация к одному и тому же продукту у жителей разных стран не имеет идентичных клинических проявлений [9].

Цель исследования. Диетотерапия больных пищевой аллергией с учётом аллергенных свойств местных продуктов питания в условиях жаркого климата.

Материалы и методы исследования. Нами были внедрены в клиническую практику в разных регионах (Кашкадарья, Сурхандарья, Бухара, Хорезм, Самарканд, Андижан, Фергана, Ташкент) Республики Узбекистан модифицированные иммуноблот панели (педиатрическая, пищевая и респираторная) аллергенов RIDA qLine Allergy (Germany) для *in vitro* аллергодиагностики. Каждая панель содержит 5 стандартов, откалиброванных по международным референсным протоколам «1st WHO IRP 67/86 for human IgE» и 20 аллергенов. В модифицированные панели аллергенов включили характерные для нашей страны пищевые, респираторные, грибковые, пыльцевые, профессиональные аллергены. Дан-

ный тест позволяет количественно измерять концентрацию аллергенспецифических IgE (МЕ/мл) в сыворотке крови методом иммунного анализа, результаты выражаются также в RAST-классах. Условная норма концентрации аллергенспецифических IgE до 0,35 МЕ/мл, эта концентрация идентична 1 RAST-классу. В аллергологическом отделении Сурхандарьинского областного многопрофильного центра (на примере жаркого региона Республики) после детального анамнеза болезни у больных аллергическими заболеваниями в возрасте 0-65 лет в целях выбора соответствующей диеты определяли IgE специфические антитела. Сенсибилизация выше 1 RAST отмечалась (пищевая панель, n=26) на томат (61,54%), мёд (57,69%), картошку (53,84%), морковь, яблоко, клубнику (46,15%), персик, апельсин, пшеничную муку (50%), грецкий орех, семечки подсолнуха, горох (38,46%), абрикос, арбуз (34,61%), арахис у (30,77%), кофе (19,23%), коровье молоко (11,54%), яичный белок (7,69%), яичный желток, куриное мясо (3,85); (вторая пищевая панель, n=25) на кунжут (72%), вишню (64%), лимон, сельдерей (48%), грейпфрут (28%), баранину, козье молоко (12%), смесь рыб (8%), сыры (4%), на конину, говядину, шампиньоны отсутствовала реакция; у детей (педиатрическая панель, n=24) на гречиху 58,8%, пшеничную муку, рис (41,17%), клейковину (23,53%), коровье молоко (17,64%), яйцо, йогурт (11,76%), банан, соевый белок (5,88%). У 20,83% пациентов выявили скрытую сенсибилизацию на латекс. Следует заметить, что сенсибилизация на латекс сопровождалась с перекрёстной реакцией на *Dermatophagoides pteronyssinus* (латекс-клещ синдром), плесневые грибки *Mucor mucedo* и *Rhizopus nigricans* (латекс-гриб синдром), орехи (арахис, лесной орех, бразильский орех, миндаль, грецкий орех, кокос), пыльцу растений амброзия полыннолистная, подорожник, полынь, берёза (латекс-пыльца синдром) у 83,3% больных. Сенсибилизация на эпителий животных (кошка, собака, лошадь, корова) было отмечено у 33,3% больных латексной аллергией.

В зависимости от способности сохранять антигенные свойства при протеолизе и термической обработке выделяют 2 класса пищевых аллергенов. Класс I – термостабильные белки, устойчивые к перевариванию и термической обработке. Сенсибилизация к ним развивается в желудочно-кишечном тракте, поэтому для них чаще всего характерны генерализованные клинические проявления. К данному классу относятся аллергены молока, яиц, рыбы, арахиса и растительных продуктов, содержащих липид-переносящие белки [1,6,7]. Класс II пищевых аллергенов представ-

лен термолабильными белками, типичными для фруктов и овощей, однако они могут встречаться и в продуктах животного происхождения. Сенсибилизация к ним формируется опосредованно, за счет предшествующей аллергизации пациента гомологичными растительными белками через респираторный тракт. К особенностям пищевых аллергенов относятся способность изменять антигенные свойства в процессе кулинарной обработки продуктов. При нагревании одни пищевые продукты теряют аллергенность, а другие, напротив, становятся более аллергенными. Аллергия к арахису и другим бобовым (соя, фасоль) и деревьям орехов часто начинаются в детстве и сохраняются долго, даже в зрелом возрасте. Учитывая вышеперечисленные свойства пищевых продуктов и данных лабораторной диагностики, нами были предложены элиминационные диеты индивидуально для каждого пациента.

Выводы. При проведении подбора элиминационной диеты частое наличие поливалентной сенсибилизации, редкое присутствие аллергии к одному пищевому продукту, формирование перекрёстных аллергических реакций, частое присутствие скрытых аллергенов в готовых продуктах питания являются основными трудностями. При неправильно диагностированной ПА ненужное исключение приёма пищевых продуктов ведёт к нехватке основных нутриентов, особенно, у детей и подростков. Своевременная диагностика, знание особенностей пищевых аллергенов в зависимости от термической обработки и индивидуальный подход при подборе элиминационной диеты предупреждает осложнения ПА.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Евдокимова Т.А., Петровский Ф.И., Огородова Л.М., Федотова М.М., Федорова О.С. Особенности клинических фенотипов пищевой аллергии при синдроме перекрестной реактивности // Вопросы современной педиатрии. 2013; 12 (2): 6–11.
2. Пампура А.Н. Проблемы и перспективы развития детской аллергологии // Российский вестник перинатологии и педиатрии.-2015.-№1.-С.7-15.)
3. Рёкен М., Гревес Г., Бургдорф В. Наглядная аллергология. М.: Бино, 2008.-238 с.
4. Ткаченко О.Я. Пищевая аллергия у детей как ключевое звено в реализации атопии // Неонатология, хирургия та перинатальна медицина.-2014.-Т.IV.-№1 (11). С.106-113.
5. Шуматова Т.А., Приходченко Н.Г. Оценка Эффективности диетотерапии у детей первого года жизни с гастроинтестинальной формой пищевой аллергии // Российский вестник перинатологии и педиатрии.-2014.-№5.-С.82-86.
6. Alessandri C., Zennaro D., Zaffiro A., Mari A. Molecular allergology approach to allergic diseases in the pediatric age. // Italian J.Pediatrics. 2009; 35: 29-41.
7. Fedorova O.S., Ogorodova L.M. A Phenomenon

of cross-reactivity in food allergy, results of modern studies. // Russian allergological journal. 2009; 6: 5-10.

8. Ramirez-Del-Pozo M.E, Gomez-Vera J., Lopez-Tiro J. Risk factors associated with the development of atopic march. Case- control study. Rev Alerg Mex 2012; 59: 4: 199-203.

9. Wong G.W., Mahesh P.A., Ogorodova L., Leung T.F., Fedorova O., Holla A.D., Fernandez-Rivas M., Clare Mills E.N., Kumelling I., van Ree R., Yordanbakhsh M., Burney P. The Euro Preval- INCO surveys on the prevalence of food allergies in children from China, India and Russia: the study methodology. Allergy. 2010; 65 (3): 385-390.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ РАЗНЫХ ФОРМАХ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА

Бархина Т.Г., Гусниев С.А., Гущин М.Ю., Польшер С.А.,
ФГБНУ НИИ морфологии человека, Москва
ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России»

MORPHO-FUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF A CONDITION OF THE RESPIRATORY SYSTEM IN ALLERGIC RHINITIS

Barkhina T.G., Gusniev S.A., Gushchin M.Yu., Polner S.A.
FGBSU Institute of Human Morphology,
Moscow FGBU «Institute of Immunology of Russia» Moscow

За последнее время участились случаи ринитов различного происхождения. Это связано с недостаточностью диагностирования, а также схожестью ряда симптомов заболевания. Однако распространенность разных форм ринитов неодинакова и нуждается в альтернативных видах лечения. В частности аллергический ринит (АР) практически всегда приводит к бронхиальной астме (БА) в той или иной степени выраженности заболевания у различной категории пациентов [1,2,3]. Учитывая тенденцию АР и БА к омоложению, более раннему дебюту и увеличению осложнений болезни исследование различных аспектов данной проблемы вызывает у клиницистов и учёных всё больший интерес.

Ранее нами было установлено, что клинические проявления ринитов и БА в различных возрастных группах имеют как сходные, так и альтернативные проявления [1,4]. Однако, исследование различных форм АР, их клинко-морфологическое изучение и дифференциальная диагностика сезонного (САР) и круглогодичного (КАР) форм АР с другими разновидностями ринитов ещё находится в стадии разработки.

Цель данного исследования – изучить клинко-морфологические параллели у пациентов разных форм АР и других ринитов и установить дифференциально-диагностические морфологические критерии изменения слизистых оболочек верхних дыхательных путей в зависимости от степени тяжести заболевания.

Материал и методы исследования. Проведён сбор клинического и морфологического материала. В работе используются инструментальные методы исследования, ретроспективный анализ медицинской документации, аллергологические методы, включающие различные аллергопробы с разными значимыми аллергенами, которые могут вызывать и аллергический ринит, и бронхиальную астму. В первую очередь производился забор образцов назального содержимого и анализировались мазки с помощью цитологических методов. Это является первым этапом морфологической диагностики. После этого были исследованы соскобы слизистой оболочки из полости носа. Иммунологические методы включали в основном метод Манчини для идентификации бета-глобулина IgA, который наиболее информа-

тивен при диагностике ринитов.

Из периферической крови выделены эритроциты, тромбоциты и лейкоциты для изучения их с помощью морфологических методов.

Материал был исследован с помощью методов световой и сканирующей (СЭМ) и трансмиссионной (ТЭМ) электронной микроскопии.

Собственные данные. Исследование цитогрaмм назального содержимого при различных формах ринитов показало следующие результаты: в цитогрaмме при неаллергическом рините обнаружено до 20-22% эозинофилов; в цитогрaмме при АР до 50-60% эозинофилов; при остром рините до 50% нейтрофилов; при полипозном риносинусите до 30% секрета БК.

Иммунологическое исследование методом диффузии по Манчини показало, что наиболее информативен показатель бета – глобулина – slgA, для которого максимальные значения установлены при неаллергическом рините (до 800 мкг/мл) и при АР (от 1000 до 1200 мкг/мл). Это наиболее чувствительный тест по сравнению со значениями других иммуноглобулинов.

Аллергоанализ основных причинно-значимых аллергенов установил главные критерии отличия разных форм ринитов. При АР наблюдается положительный провокационный тест с аллергеном клеща домашней пыли, в отличие от других форм ринитов.

Первичные морфологические изменения при всех формах АР наблюдаются в реснитчатых клетках и бокаловидных клетках эпителия носа, а затем эти изменения переходят на собственную пластинку слизистой оболочки (СПСО) полости носа, затрагивая и сосуды микроциркуляторного русла (МЦР). Нами также получены данные о некоторых различиях и сходствах изменений в клетках слизистых оболочек верхних и нижних ДП [4], которые также были показаны в других работах [5,7,8,10] и в сравнительном анализе взрослого контингента и подростков [8,9,11,12]. Следует отметить, что морфологическая характеристика КАР и САР отличается только при электронно-микроскопическом анализе, тогда как световая микроскопия не даёт существенных различий. Другие формы ринитов имеют характерные морфологические изменения разной степени выраженности при световой микроскопии, при изучении полутонких срезов (ПТС) и при ТЭМ.

Морфологическое исследование слизистой оболочки полости носа проведено с целью изучения патогенетических аспектов и его отличия от других форм хронических ринитов [10,13,14]. Поняв механизмы клеточного взаимодействия можно судить о возможных клинических проявлениях данного патологического процесса, о его сходствах или различиях с аллергическими и неаллергическими видами ринитов.

Если сходными изменениями при ринитах являются первичные нарушения в эпителии слизистой оболочки носа, в частности реснитчатых и бокаловидных клеток, то отличительными являются эпителиально-стромальные взаимоотношения.

Основной отличительной особенностью является нарушение взаимодействий различных клеточных популяций, как в эпителии, так и в собственной пластинке слизистой оболочки носа (СПСО), так и в железистой ткани. Наиболее ярко проявляются изменения в скоплении тучных клеток, как в стадии накопления секрета, так и при экстррузии его. Второй особенностью являются изменения сосудов МЦР. Многие из них имеют истонченность эндотелиальных клеток с признаками нарушения проницаемости. Для ринитов различного генеза характерно наличие интраэпителиальных клеток иммунного ряда. Для неаллергических ринитов чаще встречаются лимфоциты и фибробласты с вычурными отростками в эпителии; для АР в большей степени характерно внедрение тромбоцитов и различных гранулоцитов. Все эти особенности морфологии слизистой оболочки носа свидетельствуют о значительных нарушениях в МЦК, что в конечном итоге приводит к мукоцилиарной недостаточности (МЦН).

Была подчеркнута важная роль изучения мукоцилиарной недостаточности (МЦН) при ринитах.[1,5,7,15,]. Ранее нами было показано, что функциональные и морфологические изменения эпителия возникают гораздо раньше, чем появляются клинические проявления [1,4].

Установлено, что при БА наблюдаются морфофункциональные сдвиги не только в клетках дыхательных путей (ДП), но и в органах других систем, а также в периферической крови. Учитывая первичность воздействия причинно-значимых аллергенов на эпителий верхних ДП, а изучение этих воздействий в большей степени наблюдает-

ся в нижних ДП, мы предприняли попытку разграничить изучение этих воздействий. Это было необходимо, так как слизистая оболочка носа и прилегающие к ней образования имеют существенные различия со слизистыми оболочками бронхов и бронхиол. Общность механизмов развития гиперреактивности (ГР) верхних и нижних ДП описана для пациентов разных возрастов при любых степенях тяжести заболевания и подтверждена клиническими и морфологическими методами изучения [5,7,8]. Нам было необходимо уточнить, в каких именно областях носа имеются самые чувствительные локусы, чаще всего подвергающиеся аллергическим воздействиям. Также важно уточнить и характеристику аллергического повреждения, а также дифференциально-диагностические критерии при различных ринитах, фактически предшествующих БА.

Из-за того, что нос человека выполняет несколько важнейших функций: дыхательную, обонятельную, защитную и резонаторную, изучение морфологических изменений при патологии является необходимым атрибутом заболеваний. Возрастание же аллергопатологии дыхательных путей, значимость в первичности аллергической реакции именно в слизистой оболочке носа делает его приоритетным. Именно поэтому повреждения при аллергической агрессии больше сказываются на этом отделе дыхательной системы, т.к. на его слизистую оболочку приходится наибольшее напряжение.

У больных АР и БА и, особенно при их сочетаниях тканевая, назальная и бронхиальная гиперреактивность находятся в прямой зависимости от степени тяжести и длительности заболевания [5,6,11,12,13]. Однако клеточные и субклеточные изменения при этом касаются разных популяций и имеют некоторые характерные особенности, что частично подтверждено в эксперименте. Именно поэтому данные исследования в этом направлении остаются актуальными.

При изучении цитологических образцов и полутонких срезов в верхних отделах ДП наиболее чувствительными оказались участки слизистой оболочки нижней носовой раковины. В первую очередь страдают эпителиальные клетки, особенно реснитчатые (РК), в которых повреждаются реснички и апикальная часть эпителия; несколько разноплановая картина наблюдается в бокаловидных клетках (БК), что в значительной

степени связано со всей секреторной системой. Кстати говоря, от меры созревания муцина и его экструзии зависит и дальнейшее развития заболевания. При АР, фактически любого происхождения, в сосудах МЦР обнаружен полиморфизм изменений эндотелиальных клеток от резкого их истончения до значительного утолщения и отёка как самих клеток, так и периваскулярных пространств, встречается чередование различных по электронной плотности эндотелиоцитов, свидетельствующих о нестабильности сосудов МЦР и о серьёзных изменениях в проницаемости клеточных мембран. Однако при изучении поверхности слизистой ДП при АР и БА имеет место тенденция к однотипным изменениям, что наряду с клиническими показателями подтверждает общую закономерность гиперреактивности этих отделов.

Нами установлено, что исследование повреждения эпителия слизистых оболочек носа и бронхов показывает аналогичные изменения РК, которые наблюдаются на всем протяжении дыхательного тракта с различной степенью выраженности. Это зависит в первую очередь от возраста больного и степени тяжести заболевания. При КАР в РК отмечены основные ультраструктурные признаки: деформация, пространственные нарушения направления ресничек; субмикроскопические признаки внутриклеточного отёка; деструкция органелл, ответственных за белковый, липидный, водно-солевой обмен. Эти признаки представлены в слизистой оболочке носа при любой степени тяжести, а в бронхах при средней и тяжелой степенях. У молодых пациентов преобладают секреторные процессы, которые мы рассматриваем как компенсаторные функции, с возрастом же на фоне сокращения компенсаторных возможностей организма изменения сдвигаются в сторону ослабления секреторных процессов наряду с уменьшением количества макрофагов и тучных клеток. БК подвергаются более значительным изменениям в верхних ДП с определенными характерными признаками в различных отделах носовой полости. Ультраструктурные изменения в БК отличаются значительной гетерогенностью: отёчность, гипертрофия и гиперплазия БК; перерастянность секреторными гранулами, нарушение целостности апикальных мембран; при ТЭМ отмечены гетерогенные по электронной плотности гранулы муцина, нарушения целостности

апикальных мембран, значительные повреждение ядер, признаки готовности клеток к апоптозу. Выявлены признаки альтерации не только эпителиального слоя, но и клеточных элементов СПСО. Ультраструктурные изменения сосудов МЦР при тяжелой БА показаны и в других публикациях [6,15,16,].

Нами продемонстрированы подобные изменения в верхних ДП при САР. В СПСО носа выявляются сосуды МЦР со значительными изменениями во всех структурных компонентах, в просвете которых обнаруживаются агрегированные формы эритроцитов, тромбоцитов и гранулоцитов, непосредственно контактирующих с эндотелиальными клетками. Более того, у пациентов разного возраста при изучении с помощью СЭМ в периферической крови наблюдаются сходные изменения агрегации форменных элементов. Ультраструктурные изменения в системе микроциркуляции от мелких сосудов до форменных элементов крови приводит к самым различным гипоксическим повреждениям мембран разных клеток, усугубляющих аллергическую реакцию [14,15,16,]. Весь комплекс изменений свидетельствует о перестройках в морфологии ДП в ответ на аллергическую агрессию, что приводит к нарушениям в самих ДП и периферической крови, свидетельствуя о системной реакции.

Подобные изменения сосудов МЦР в слизистых оболочках ДП, а также форменных элементов крови получены при экспериментальном моделировании аутоиммунного процесса.

Полученные в комплексном исследовании данные подтверждают на цитологическом, светооптическом, ультраструктурном и мембранном уровне системность повреждения структур в тканях и клетках не только ДП, но и в других органах систем организма пациентов с различными формами ринитов и при бронхиальной астме, что также было показано в эксперименте. Все это свидетельствует о системности повреждения структур организма при аллергопатологии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бархина Т.Г., Гуцин М.Ю., Гуменюк С.А., Польшер С.А., Голованова В.Е.. Морфофункциональные особенности мукоцилиарной системы дыхательных путей при аллергическом рините и бронхиальной астме. // Вестник Тверского Г.-У.: Серия «Биология и экология», 2013, вып.29, № 2. С.29-40.
2. Богова А.В., Ильина Н.И., Лусс Л.В. Тенденции в изучении эпидемиологии аллергических заболеваний в России за последние 10 лет. Рос. Аллергол.

Журн. 2008, №6, С. 3-13.

3. Чигаева Е.В., Сизякина Л.П., Сарычев А.М., Анисимова Л.А., Харитонов М.В. Распространенность аллергопатологии у пациентов с аутоиммунными заболеваниями. РАЖ, 2013, № 2, ч. 2. С.311-312.
4. Гуцин М.Ю., Голованова В.Е., Бархина Т.Г., Польшер С.А. Морфологические изменения слизистых оболочек полости носа при аллергическом рините и бронхиальной астме. Доктор.ру. 2011, №3, С.22-27.
5. Гуцин И.С. Патофизиология аллергии. Российская ринология, 2004, №1, с.6-22.
6. Герент Е.А., Суходоло И.В., Плешко Р.И. и др. Ультраструктурные характеристики капилляров слизистой оболочки бронхов при различных клинических фенотипах тяжелой бронхиальной астмы. // Бюллетень СО РАМН – 2010.-Т.30.-№6.-С.105-109.
7. Емельянов А.В., Тренделева Т.Е., Краснощеква О.И. Исследование взаимосвязи нижних и верхних дыхательных путей у больных аллергическим ринитом и бронхиальной астмой. // Аллергология. -2001.-С.3.
8. Польшер С.А. Роль иммунных и морфо-функциональных нарушений в формировании и прогнозе аллергического ринита и бронхиальной астмы. Современные подходы к диагностике и терапии. Дис. ... докт. мед. наук. – М., 2008. – С.307.
9. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. Аллергология и иммунология. Национальное руководство. Краткое издание, 2012, 640 с.
10. Бархина Т.Г., Утешева В.А., Гуцин М.Ю., Юдина Е.Б., Хайруллин Р.М. Эозинофилиты, Морфологические аспекты диагностики. // Морфологические ведомости. 2015; 2: 7-14.
11. Audino P, La Grutta S, Cibella F. et al. Rhinitis as a risk factor for depressive mood in pre-adolescents: a new approach to this relationship. Pediatric Allergy and Immunol 2014; 25: 360-365.
12. Baraldo S. et al. Airway remodeling is present in children with asthma regardless of eosinophilic inflammation. ERJ, 2009, P888, p144s.- 2004.- V.24(6).- P.1098-103.
13. Bozzo C., Fenu G., Stomeo F. et al. Cytomorphologic and ultrastructural study of nasal mucosa by means of brushing: a comparison between asymptomatic and rhinitic subjects. // Rhinology.- 2005.- V.43.- P.261-265.
14. Chilvers M. A., Rutman A., O'Callaghan C. Functional analysis of cilia and ciliated epithelial ultrastructure in healthy children and young adults // Thorax. 2003; 58: 333-338.
15. Kirtsreesakul V., Somjareonwattana P., Ruttanaphol S. The correlation between nasal symptom and mucociliary clearance in allergic rhinitis // Laryngoscope. 2009, Aug; 119 (8): 1458-1462.
16. Semenza G.L. Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology // Annu Rev Pathol. – 2014- v.9: P. 47-71.

ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА КАК ФАКТОР ПРОГНОЗА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН В ПЕРИОД МЕНОПАУЗЫ

Асфандиярова Н.С., Скопин А.С., Демко А.Н., Евдокимова О.В., Коноплева В.И.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

CELL-MEDIATED IMMUNITY AS FACTOR OF BREAST CANCER PROGNOSIS IN MENOPAUSAL WOMEN

Asfandiyarova N.S., Skopin A.S., Demko A.N., Nikiforov A.A.

Ryazan State Medical University, Ryazan

Рак молочной железы (РМЖ) занимает одно из лидирующих положений по заболеваемости и смертности среди онкологических заболеваний у женщин в период менопаузы [5]. Для индивидуализации программ лечения любой патологии, включая РМЖ, необходима информация, как о критериях прогноза заболевания, так и предиктивных факторах эффективности предполагаемого лечения. Наиболее широко используемые факторы прогноза риска смерти при РМЖ касаются, главным образом, непосредственно самой опухоли, но не факторов защиты [2,4,6,7]. Вместе с тем, системе иммунитета принадлежит фундаментальная роль в прогрессии и промоции злокачественной клетки, что частично влияет как на размер опухоли, так и на её метастазирование [1,3]. В связи с этим, основной целью настоящего исследования явилось изучение неблагоприятных факторов прогноза среди показателей клеточного иммунитета при РМЖ у женщин в период менопаузы.

Материал и методы исследования. Для решения поставленной задачи методом случайной выборки в проспективное когортное исследование было включено 98 больных РМЖ (в возрасте 63 ± 9 лет, ИМТ $31,6 \pm 4,8$ кг/м², менопауза у всех женщин). Диагноз заболевания устанавливался на основании результатов клинических, биохимических, иммунологических, инструментальных методов исследования. Морфологическое подтверждение диагноза у всех больных РМЖ.

Для установления прогностических критериев 5-летней выживаемости проводился сравнительный анализ изучаемых критериев в зависимости от исхода заболевания: отсутствие признаков рецидива заболевания (благоприятный прогноз), смерть пациентки, метастазирование (неблагоприятный прогноз).

О состоянии системы клеточного иммунитета свидетельствовала функциональная пролиферативная активность лимфоцитов в ответ на ФГА, инсулин, инсулиноподобный фактор роста-1 (ИФР-1). Сенсibilизацию лимфоцитов к митогену и антигенам определяли с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов периферической крови (морфологический метод оценки реакции). С помощью этого же метода определялась функциональная активность короткоживущих супрессорных клеток, простагландин синтезирующих клеток и клеток с рецепторами к гистамину, также обладающих супрессорной активностью. В качестве антигенов использовали человеческий инсулин (Humulin Regular, "Lilly", Франция), Диналан (Dynalan R3 IGF-1, Dynamic Development Laboratories Co., Ltd.). Для определения пролиферативной активности лимфоцитов к культуре клеток добавлялся ФГА (ФГА Р, "Difco" USA) в пороговой дозе 5 мкг на культуру клеток. Для выявления аутоиммунных клеточных реакций в культуру лимфоцитов добавляли инсулин в дозе 0,08 ЕД, диналан – 0,1 мкг. Контролем служила культура, в которую был добавлен физиоло-

гический раствор. Значение индекса стимуляции более 1,5 свидетельствовало о наличии сенсibilизации лимфоцитов к антигену.

Клетки культивировались при температуре 37° в течение 72 часов (с ФГА) и 96 часов (с антигенами). После культивирования, из осадка готовили мазки и вели подсчет клеток, трансформированных в бластные формы.

Полученные результаты обработаны с помощью методов вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента и χ^2 . Результаты исследования представлены в виде их средних значений $\pm$ среднееквадратичное отклонение ($M \pm SD$). Различия между группами считали статистически значимым при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение За 5-летний период наблюдения 15 пациенток из 98 скончались (две от причин, не связанных с РМЖ), а у 7 – было выявлено метастазирование. Пятилетняя выживаемость (с учётом всех стадий заболевания) составила 84,7%, что незначительно отличается от аналогичных показателей других исследователей. Различия по возрасту между группами с благоприятным и неблагоприятным прогнозом не отмечено ($61,1 \pm 10,3$ vs. $60,9 \pm 8,7$, $p > 0,05$).

Гистологическая характеристика опухоли при РМЖ у женщин в период менопаузы примерно одинакова в обеих группах. Исследование размера опухоли показало, что при краткосрочном прогнозе 5-летняя выживаемость значительно выше при размерах опухоли менее 5 см: у больных с благоприятным прогнозом размер опухоли более 5 см встречается лишь у 10% пациенток, в то время как при неблагоприятном прогнозе – более чем у трети пациенток ($p < 0,01$). Различия касаются и выявления метастазирования в регионарные лимфатические узлы: N0 отмечена более, чем у 60% пациенток с благоприятным прогнозом, в то время, как в группе больных с неблагоприятным прогнозом лишь пятая часть пациенток не имела метастазов в регионарные л/у. Стадия TNM также оказывает влияние на краткосрочный прогноз: I стадия установлена лишь у одной пациентки с неблагоприятным прогнозом, в то время как III и IV – у половины, в то время как при благоприятном прогнозе III стадия установлена у пятой части пациенток, а пациенток с IV стадией нет. Анализ результатов, полученных при определении критериев выживаемости при изучении самой опухоли подтверждает мнение

большинства исследователей, что классические критерии, такие как: размер опухоли, наличие метастазов, регионарные лимфатические узлы на стадии заболевания имеют важное значение в определении прогноза 5-летней выживаемости пациенток [2,4,6,7].

Изучение показателей системы клеточного иммунитета позволило установить следующее: пролиферативная активность лимфоцитов в ответ на ФГА значительно снижена во всех группах и не зависела от исхода патологического процесса: $39,3 \pm 16,8\%$ vs. $39,7 \pm 17,1\%$. Видимо, нарушение функции надзора способствовало спасению иницированной злокачественной клетки, развитию патологического процесса, но исход уже не определяло. Функциональная активность короткоживущих супрессорных клеток, будучи значительно выше нормальных показателей ($p < 0,0001$), тем не менее, также мало зависела от исхода: при благоприятном прогнозе индекс супрессии составил $1,27 \pm 0,40$, при неблагоприятном – $1,35 \pm 0,45$ ($p > 0,05$). Различия можно было выявить при изучении функции клеток с рецепторами к гистамину и простагландин синтезирующих клеток, также обладающих супрессорной активностью. При благоприятном прогнозе индекс супрессии составил $0,88 \pm 0,22$ для простагландин синтезирующих клеток, при неблагоприятном – $0,98 \pm 0,16$ ($p < 0,05$): для клеток с рецепторами к гистамину $0,99 \pm 0,27$ vs. $1,12 \pm 0,22$ ($p < 0,05$), соответственно. Не исключено, что высокая супрессорная активность этих клеток обуславливает прогрессирование заболевания. Изучение функции CD4+CD25+FOXP3+-клеток (Treg), также оказывающих супрессорный эффект, проведенных рядом исследователей [3], показало, что опухоли с высоким содержанием этих клеток ассоциируются с большими размерами, высокой степенью гистологической злокачественности, наличием сосудистой инвазии, и отрицательным гормональным статусом.

Исследование сенсibilизации лимфоцитов к инсулину и ИФР-1, свидетельствуют о том, что прогностическое значение имеет лишь сенсibilизация лимфоцитов к ИФР-1, супрессированная клетками с рецепторами к гистамину. Протективный эффект данного явления был отмечен и ранее, так как он встречается чаще при доброкачественных опухолях молочной железы.

Заключение

Критериями благоприятного краткосрочного (5 лет) прогноза при раке молочной железы у женщин в период менопаузы являются размер опухоли менее 5 см, отсутствие метастазов в регионарные лимфатические узлы, а также отсутствие высокой активности супрессорных клеток.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Скотаренко Л.В., Воротников И.К., Кадагидзе З.Г., Шапилов Ф.А. Особенности Т-клеточного иммунитета при раке молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы. 2011;(4):24-27.
2. Bradley K.T. Prognostic and Predictive Factors in Breast Cancer // News Path. Available from: http://www.cap.org/apps/docs/newspath/0709/prognostic_and_predictive_factors_in_breast_cancer.pdf

3. Gingras I., Azim H. A., Ignatiadis M., Sotiriou C. Immunology and breast cancer: toward a new way of understanding breast cancer and developing novel therapeutic strategies. Clin Adv Hematol Oncol. 2015;13:372-385.

4. Hayes D.F., Isaacs C., Stearns V. Prognostic Factors in Breast Cancer. Current and New Predictors of Metastasis. J Mamm Gland Biol Neopl. 2002; 6:375-392.

5. Jemal A., Bray F., Center M.M. et al. Global cancer statistics. CA: Cancer J Clin. 2011;61:69-90.

6. Michaelson J.S., Satija S., Kopans D.B., et al. The Impact of Breast Cancer Screening, in Terms of Tumor Size and Death Rate. Cancer. 2003;98:2114-2124.

7. Tanriverdi O., Meydan N., Barutca S. Reconsideration of Clinical and Histopathological Prognostic Factors in Breast Cancer Patients: A Single Center Experience. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15:807-812.

ЧАСТО БОЛЕЮЩИЕ ДЕТИ:

ВЗГЛЯД ВРАЧА АЛЛЕРГОЛОГА-ИММУНОЛОГА

Барычева¹ А.Ю., Глушко² Е.В., Минасян¹ М.М., Хачирова² А.С., Щербак³ Б.В.

¹ ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Ставрополь.

² ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница», г. Ставрополь.

³ АНМО «Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр», г. Ставрополь.

COMMON COLD IN CHILD: A LOOK DOCTOR ALLERGISTS IMMUNOLOGISTS

Barycheva¹ L.Yu., Glushko² E.V., Minasyan¹ M.M., Khachirova² L.S., Shcherbakova³ B.V.

¹ FGBOU VO «Stavropol state medical university» MH RF, Stavropol.

² GBUZ SC «Regional Children's Clinical Hospital», Stavropol.

³ ANMO «Stavropol Regional Clinical Consultative-diagnostic Center», Stavropol.

Острые респираторные инфекции занимают одно из ведущих мест в структуре заболеваний у детей, с ними связаны 30-50% потерь рабочего времени у родителей и 60-80% пропусков занятий в школе [1,6]. Частые респираторные инфекции нередко являются фактором риска развития хронической соматической патологии, причиной обострения аллергических и аутоиммунных заболеваний, дисгармоничного физического развития ребенка [1,3,6].

К вероятным экзогенным причинам частой респираторной заболеваемости относят многообразие и специфичность респираторных па-

тогенов, их высокую контагиозность, низкий материальный и культурный уровень в семье, раннее начало посещения детских учреждений, пассивное курение, дефицитное по макро- и микронутриентам питание, ятрогенное воздействие на иммунную систему антибиотиков и других фармакологических препаратов, нарушение экологии; к эндогенным – транзиторные иммунные нарушения, такие как: дисбаланс Th1/Th2, гипопродукция IFN γ , недостаточность sIgA и другие, редко достигающие степени иммунодефицита [1,5]. При этом у часто болеющих детей нередко диагностируются самостоятельные атопические

и инфекционные заболевания, скрывающиеся под маской «ЧБД» [5].

Цель исследования: провести анализ структуры заболеваний, диагностируемых у часто болеющих детей, на приеме врача аллерголога-иммунолога.

Материалы и методы. В работе осуществлён анализ результатов обследования 295 детей из группы часто болеющих, проведенного в условиях пульмонологического отделения и амбулаторного консультативного приёма врача аллерголога-иммунолога ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница» в 2014-2015 гг. Верификация нозологических форм осуществлялась с помощью стандартных клинико-инструментальных и лабораторных методов. Всем больным выполнены исследование иммунного статуса и аллергологическое обследование. В качестве статистических критериев использованы методы непараметрической статистики – критерий χ^2 квадрат.

Результаты исследования. Большая часть детей – 64,1% (189) – была направлена врачом-педиатром, 3,4% (10) – врачом-оториноларингологом, 32,5% (96) детей обследованы в результате самообращения родителей. При детализации анамнеза выявлено, что 23,1% (68) из них имели рецидивирующее течение обструктивного бронхита, 6,8% (20) – эпизоды простого бронхита, 4,4% (13) страдали хроническим тонзиллитом, 59% (174) – ринофарингитом. У 6,8% (20) детей в анамнезе регистрировались рецидивирующие отиты, у 2% (6) – рецидивирующий фурункулез. Респираторно-вирусные инфекции с частотой 4-10 раз в год отмечались у 51,5% (152) детей. Несмотря на наличие рецидивирующих респираторных инфекций, 53,9% (159) пациентов ранее не были обследованы; 69,5% детей – не консультированы оториноларингологом. Следует отметить, что у 83% больных с симптомами дыхательного дискомфорта в течение 1-2 лет, не выполнено стандартное инструментальное обследование (рентгенография органов грудной клетки и спирография).

В результате проведенного анализа бронхиальная астма (БА) диагностирована у 18,3% (54) детей, что превышает данные, представленные в отечественной литературе – 8,1% ($p < 0,05$) [6]. Ал-

лергический ринит (АР) верифицирован в 35,8% (92) случаев, бронхиальная астма в сочетании с аллергическим ринитом – в 12,5%.

Склонность к рецидивирующим респираторным инфекциям затяжного характера, устойчивым к стандартным методам терапии, часто позволяет заподозрить наличие атопии. Огромное значение в диагностике аллергических заболеваний имеет сбор аллергологического анамнеза [6]. Бронхиальная астма и аллергический ринит вероятны у детей с кожными аллергическими проявлениями на первом году жизни, развитием первого эпизода бронхиальной обструкции в возрасте старше 1 года, эозинофилией периферической крови, имеющих родителей (чаще мать) с атопическими заболеваниями. Важна оценка факта элиминации аллергена, эффективность антигистаминных средств [6].

Дифференциальная диагностика между повторными эпизодами обструктивного бронхита и БА представляет большие трудности в педиатрической практике, поскольку у 30-85% детей приступы БА провоцируют респираторные инфекции [4].

Согласно критериям Американской академии педиатрии (2011 г.), к группе высокого риска по БА следует относить детей с повторными эпизодами свистящего дыхания и наличием 1 большого (наличие БА или атопического дерматита/экземы у родителей) или 2 малых критериев (эозинофилия $\geq 4\%$, наличие хрипов вне связи с ОРВИ, аллергический ринит) [6]. Своевременное установление диагноза БА – всегда в интересах ребёнка, поскольку позволяет назначить базисную терапию и достигнуть контроля заболевания.

Затяжное течение инфекционного мононуклеоза Эпштейн-Барр вирусной этиологии диагностировано у 7,8% (23) детей. Известно, что ВЭБ-инфекция играет существенную роль в формировании контингента часто болеющих детей [2]. На фоне первичного инфицирования или длительной персистенции вируса поражаются лимфоидный аппарат и эпителий верхних дыхательных путей, что создаёт предпосылки для развития оториноларингологической патологии – экссудативного среднего отита, аденоидита, тонзиллофарингита, синусита [2].

У 1,4% (4) детей с длительным кашлем вери-

фицированы аномалия трахеобронхиального дерева, у 0,7% (2) – инородное тело дыхательных путей, у 5,8% (17) – респираторный хламидиоз. Полученные данные согласуются с результатами, представленными в исследовании G.H. Ahmet et al. [7]. Известно, что хламидийная и микоплазменная инфекции распространены во всем мире и являются актуальными возбудителями ОРИ у детей школьного возраста. Респираторный хламидиоз диагностируется у 7% детей, кашляющих до 54 дней и более [8].

При исследовании иммунного статуса в 23,1% (68) случаев зарегистрирована транзиторная дисфункция иммунной системы, у 1,4% (4) – выявлен врождённый дефицит иммунной системы – селективный дефицит IgA. Снижение иммунного реагирования у ЧБД чаще связана с физиологической незрелостью иммунной системы ребёнка, но может быть также обусловлена неблагоприятными анте- и перинатальными факторами, курением родителей, предрасположенностью к Th2-типу иммунного ответа у детей с атопией, назначением антибиотиков и антипиретиков без соответствующих показаний [1,5,6]. Селективный дефицит IgA относят к «малым» формам гуморальных иммунодефицитов, которое характеризуется вариабельной клинической манифестацией, однако не приводит к жизнеугрожающим инфекциям. Его распространённость в группе ЧБД обычно превышает популяционные показатели.

Заключение. Таким образом, группа диспансерного наблюдения ЧБД на приёме аллерголога-иммунолога неоднородна. У 49% детей под маской «ЧБД» диагностируются аллергические заболевания, у 7,8% – затяжное течение ВЭБ-инфекции, у 1,4% – аномалия трахеобронхиального дерева, у 5,8% – респираторный хламидиоз. В 23,1% случаев выявляются транзиторные отклонения в иммунном статусе, в 1,4% – «малые» формы первичных иммунодефицитов в виде селективного дефицита IgA. Ранняя диагностика нозологических форм в диспансерной группе наблюдения ЧБД, требующих специализированного подхода в лечении и профилактике, позволит обеспечить своевременность оказания медицинской помощи ребёнку, её соответствие стандартам, повышение качества жизни детей и их родителей [6].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Барычева Л.Ю., Голубева М.В., Погорелова Л.В. Острые респираторные инфекции у детей: клиника и лечение: учеб. пособие. Ростов н/Д.: Феникс, 2012, 219 с.
2. Барычева Л.Ю., Голубева М.В., Волкова А.В. Факторы и механизмы иммуносупрессии при Эпштейна-Барр вирусной инфекции. Детские инфекции, 2014, Т.13, №2, С. 28-33.
3. Водовозова Э.В., Голубева М.В., Доронин В.Ф. и др. Руководство по практическим умениям педиатра: учебное пособие для системы последиplomного профессионального образования врачей-педиатров. Ростов-на-Дону, 2010, Сер. Высшее медицинское образование (3-е издание, стереотипное), 574 с.
4. Германова О.Н., Голубева М.В., Барычева Л.Ю. Бронхообструктивный синдром у детей с инфекциями респираторного тракта. Медицинский вестник Северного Кавказа, 2010, №4 (20), С. 42-48.
5. Консенсус (ПРИМА). Педиатрические рекомендации по применению иммуномодулирующих препаратов в педиатрической практике / В.А. Ревякина, Н.И. Ильина, Н.А. Геппе и др. // Лечащий врач. – 2015. – №4. – С. 24-26.
6. Овсяников Д.Ю., Илларионова Т.Ю., Пушко Л.В., Кузьменко Л.Г. Часто болеющие дети: что еще кроме инфекций. Вop. современ. Педиатрии, 2013, №1, С. 74-84.
7. Ahmet H. G., Erkan C., Emel T. et al. Evaluation of 563 children with chronic cough accompanied by a new clinical algorithm. Italian Journal of Pediatrics, 2015, № 41, P.73.
8. Zhengrong C., Wei J., Yuqing W., Yongdong Y., Hong Z., Xuejun S., Jun X. Epidemiology and associations with climatic conditions of Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae infections among Chinese children hospitalized with acute respiratory infections. Italian Journal of Pediatrics, 2013, P. 39-34.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА С ГЕРПЕТИЧЕСКИМ РИНОФАРИНГИТОМ

Белан Э.Б., Садчикова Т.Л., Желтова А.А., Панина А.А., Тиби́рькова Е.В., Инина Л.И.
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г.Волгоград

PECULIARITIES OF IMMUNE STATUS IN TODDLERS WITH HERPETIC RHINOPHARYNGITIS

Belan E.B., Sadchikova T.L., Zheltova A.A., Panina A.A., Tibir'kova E.V., Inina L.I.
Volgograd State Medical University, Volgograd

Актуальность. В настоящее время рецидивирующий ринофарингит (МКБ-10: J31.1) представляет одну из частых причин отнесения детей к категории часто и длительно болеющих [1,2]. Заболевание влечёт существенное снижение качества жизни таких больных, фармакоэкономические потери, а также часто сопряжено с неадекватными фармакотерапевтическими интервенциями и влиянием на течение неинфекционной патологии [3,4].

Одной из возможных причин заболевания является инфекция представителями семейства Herpesviridae, в частности, вирусом простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ) (Herpesviridae; Alpha-Herpervirinae). Он может быть не только причиной везикулярных высыпаний на коже и слизистых, но и вызывать широкий спектр заболеваний, одним из которых является ринофарингит. Пожизненная персистенция вируса в организме обуславливает хронический характер патологии, важную роль при которой играет характер и степень иммунокомпрометации больного [5].

Настоящая работа выполнена в рамках анализа клинико-иммунологических особенностей детей раннего возраста, отнесённых к категории «часто и длительно болеющие дети» [1].

Материалы и методы. К анализу привлечены данные 198 детей в возрасте от 1 до 3 лет, имевших не менее 6 эпизодов рецидивирующего назофарингита за предшествующий год [1] и направленных на консультацию врача аллерголога-иммунолога. Все дети до включения в исследование консультированы врачом-оториноларингологом, по показаниям – другими специалистами. В ис-

следование не включались пациенты с симптомами ринофарингита на момент обследования; с микст-инфицированием; имевшие патологию дыхательных путей и ЛОР-органов иной природы; острые и хронические воспалительные заболевания другой локализации.

Всем детям выполнено обследование в следующем объеме: общий анализ крови; общий анализ мочи; бактериологическое исследование и определение ДНК вирусов герпеса 1, 2, 4, 5, 6 типов и аденовирусов в материале из зева и носа; определение общего и относительного количества CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+ клеток (проточный цитофлюориметр «Becton Dickinson»; моноклональные ФИТЦ-меченные антитела «Caltag laboratories» (Канада)), IgM и IgG к ВПГ, сыровороточного уровня IgA, IgM, IgG («Вектор-Бест»).

Основную группу составили 24/198 детей, из глотки и/или носа которых выделена ДНК ВПГ и обнаружены антитела к вирусу в сыворотке крови. Группу сравнения составили серонегативные по ВПГ больные, у которых ДНК ни одного из возбудителей на момент обследования не был выявлен.

Статистическая обработка результатов выполнена с помощью пакета программ STATISTICA 6.0.

Результаты и их обсуждение. Согласно ранее полученным нами результатам, у детей с рецидивирующим ринофарингитом хотя бы один вид инфекционных возбудителей из перечисленных обнаруживается в каждом третьем случае, в том числе, ДНК вирусов простого герпеса 1 или 2 типов [6].

Общее количество лейкоцитов в крови у детей исследуемой группы в среднем было на 46,7% ниже, чем у детей группы сравнения ($5950 \pm 2356,3$ кл/мкл vs $9395,7 \pm 2944,5$ кл/мкл, $p=0,002$).

Основные сдвиги в иммунном статусе касались клеточного звена. Так, абсолютное количество лимфоцитов в целом по сравнению с группой контроля было снижено в среднем на 50,9% и составило $2448 \pm 1884,5$ кл/мкл vs $4981,9 \pm 1470,5$ кл/мкл, $p=0,001$, а относительное $36,0 \pm 13,9$ % vs $53,7 \pm 12,4$ %, $p=0,007$.

Как абсолютное, так и относительное количество CD3+ клеток было значительно ниже, чем в группе сравнения (соответственно, $1387 \pm 819,2$ кл/мкл vs $3289 \pm 1070,1$ кл/мкл, $p=0,001$, и $16 \pm 18,5$ % vs $67 \pm 6,5$ %, $p<0,001$). Данные сдвиги имели место преимущественно за счет CD4+ субпопуляции, абсолютная численность которой составила $943 \pm 496,2$ кл/мкл vs $1999 \pm 671,9$ кл/мкл ($p=0,003$), хотя для относительного количества достоверность снижения подтверждена не была ($p=0,08$).

Снижение абсолютного количества показано также для CD8+ лимфоцитов, которое составило $551 \pm 247,4$ кл/мкл vs $1059 \pm 502,9$ кл/мкл, $p=0,048$, однако относительное количество было сопоставимым с группой сравнения (соответственно, $21,5 \pm 9,72$ % и $22,2 \pm 9,2$ %, $p=0,88$) и не выходило за пределы возрастной нормы.

Абсолютное количество CD16+ лимфоцитов было менее возрастной нормы у 5/24 детей, однако достоверных различий между группами мы не получили ни для абсолютного, ни для относительного количества.

Среди показателей гуморального иммунитета (CD22+ лимфоциты, IgA, IgG, IgM) отсутствовали за исключением уровня IgM, для которого отмечено некоторое повышение его концентрации по отношению к группе сравнения (соответственно, $1,3 \pm 0,08$ vs $0,92 \pm 0,38$ г/л, $p=0,046$). Вместе с тем, нет оснований считать данный эффект вирусспецифическим. Вероятно, он обусловлен частыми эпизодами респираторной инфекционной патологии [1,2].

Полученные данные не позволяют ответить на вопрос, является ли иммунокомпрометация таких больных первичной, создающей условия для реактивации инфекции, или же поражение иммунной системы является вторичным вследствие

иммунотропности возбудителя. Тем не менее, они заслуживают особого внимания, поскольку наличие иммунокомпрометации необходимо учитывать при проведении терапевтических мероприятий. Следует учитывать, что больные данной категории чаще других становятся потребителями различных иммуностропных средств, которые часто назначаются в виде монотерапии [3]. Вместе с тем, назначение специфических противовирусных препаратов, в том числе, разрешенных для данной возрастной категории, должно быть приоритетным в лечении таких больных [5].

Выводы. Участие ВПГ в развитии назофарингита у детей раннего возраста может быть связано с изменением показателей, характеризующих активность клеточного звена иммунитета. Этот факт следует учитывать при проведении терапевтических и реабилитационных мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Часто болеющие дети. Протоколы лечения. Иммунологические и клинические аспекты респираторных заболеваний у детей. М., 2011. 219 с.
2. Toivonen L., Karppinen S., Schuez-Havupalo L., Teros-Jaakkola T., Vuononvirta J., Mertsola J., He Q., Warris M., Peltola V. Burden of Respiratory Tract Infections in Children: a Prospective Cohort Study. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2016, v.35, P.362-369.
3. Казанцева И.А., Морозько Ю.А., Казанцева Н.Н., Лукьяненко А.А., Ставская С.В., Яновская М.Л. Фармакоэпидемиология герпетического гингивостоматита у детей. *Вестник ВолгГМУ*. 2015. №3 (55). С.24-27.
4. Сависько А.А., Батюшин М.М., Лебеденко А.А., Семерник О.Е. Прогнозирование риска развития неконтролируемого течения бронхиальной астмы у детей. *Фундаментальные исследования*. 2011. №6. С.154-157.
5. Петров В.И., Белан Э.Б. Противовирусные средства. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 224 с.
6. Садчикова Т.Л., Белан Э.Б., Гутков М.В., Ламтюгин Ю.В. Некоторые этиопатогенетические аспекты рецидивирующего ринофарингита у детей в практике врача аллерголога-иммунолога. *Российский аллергологический журнал*. 2012. №2. С.173-174.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С IGE И ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ, ФЕНОТИПЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО НЕЯЗВЕННОГО ХРОНИЧЕСКОГО КОЛИТА У ДЕТЕЙ

Беловолова Р.А., Летифов Г.М., Панова И.В., Домбаян С.Х., Толстой О.В., Бухтоярова М.В., Беловолова Е.В., Зайцева Н.С.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» МЗ РФ, МБУЗ «Городская Больница №20»

IMMUNOLOGICAL ASSOCIATED WITH IGE AND HERPES VIRUS INFECTION, NON-ULCER PHENOTYPES NONSPECIFIC CHRONIC COLITIS IN CHILDREN.

Belovolova R. A., Letifov G. M., Panova I. V., Dombayan S. H., Tolstoy, O. V., Buchtoyarova M. V., Belovolova E. V., Zaitseva N. S.

FSBEI HVE «Rostov state medical university» Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, MBUZ «City Hospital №20» Rostov-on-Don.

В структуре хронических воспалительных заболеваний ЖКТ у детей значительное место занимают хронические неспецифические неязвенные колиты (ХННК) [1,2]. Поскольку кишечник представляет собой иммунокомпетентный орган [6], участие иммунных механизмов в развитии воспалительных заболеваний кишечника не вызывает сомнений, однако иммунопатогенез ХННК до конца не определен. Это связано как с полиэтиологичностью [1,5], включающую экологическую агрессию, воздействие инфекционных агентов, алиментарный фактор, наличие дисбиоза, генетической предрасположенности [2,4], так и с многокомпонентностью, сложностью и каскадностью функционирования самой иммунной системы. Нельзя исключить патогенетическую значимость сенсибилизации к собственным тканевым (кишечным) антигенам при ХННК у детей [3]. Изучение особенностей реакции иммунной системы в зависимости от возраста, наличия сенсибилизации, персистирующей ГВИ могут иметь диагностическое, прогностическое значение и, возможно, помогут оптимизировать схемы обследования и лечения таких пациентов.

Цель исследования. Определить состояние клеточного и гуморального, фагоцитарного звеньев иммунной системы: противогерпетического гуморального иммунитета и уровня сенсибилизации у детей с ХННК.

Материал и методы исследования. Обследовано 40 детей в возрасте от 1,5 до 15 лет, находившихся на стационарном лечении с ХННК в фазе обострения. Были выделены группы: 1-я группа – дети до 5-ти лет и 2-я – дети старше 5-ти лет. Внутри каждой группы были выделены группы 1а и 2а – дети с нормальным уровнем сывороточного IgE и группы 1б и 2б – дети с повышенным уровнем сывороточного Ig E. Диагноз ХННК устанавливался на основании анамнестических данных, комплексного клинико-лабораторного, эндоскопического и УЗИ-обследования. Дети с другой соматической патологией и клиническими проявлениями атопии, аллергических реакций в группу наблюдения не включались. Иммунный статус оценивали по состоянию клеточного и гуморального звеньев иммунной системы. Содержание субпопуляций лимфоцитов CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3+CD16+, CD3+CD19+ определяли с помощью моноклональных антител и регистрацией их на проточном цитометре; уровни основных классов сывороточных иммуноглобулинов (M,G,A) – методом радиальной иммунодиффузии; содержание ЦИК сыворотки крови – в реакции преципитации в 4,16% р-ре ПЭГ; метаболическую активность фагоцитов – по NBT-тесту. Уровни специфических противогерпетических антител классов Ig M, IgG и avidность антител Ig G, содержание общего Ig E в сыворотке крови определяли методом ИФА.

Результаты исследования. Общей закономерностью реакции факторов врожденного и адаптивного иммунитета у всех обследованных детей были изменения в ОАК (склонность к лимфоцитозу), увеличение уровня лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ=1,38±0,2), угнетение метаболической активности нейтрофилов (снижение коэффициента стимуляции), дисбаланс субпопуляций лимфоцитов и дисиммуноглобулинемия разной направленности и степени выраженности, не имеющих четкой диагностической значимости.

Анализ результатов иммунологического обследования в зависимости от уровня общего сывороточного IgE и специфических противогерпетических антител выявил определённые особенности реакции иммунной системы. У детей 1-й группы в 72% случаев определялись специфические противогерпетические антитела к ЦМВ и /или к ВЭБ, что свидетельствовало об инфицированности их вирусами герпеса;

у 30% обследованных детей этой группы обнаружился повышенный уровень IgE до 147,3±3,5 МЕ\мл.

У детей с нормальным содержанием Ig E субпопуляционный состав Т-лимфоцитов не претерпевал существенных изменений (ИРИ=2,0); суммарное содержание сывороточных иммуноглобулинов практически не отличалось от нормальных показателей и составляло 11,1 г\л, незначительно изменялось соотношение классов иммуноглобулинов, что проявлялось относительным снижением уровня IgG до 78,4% (норма – 80,3±1,2 %). У детей 16 группы с повышенным содержанием IgE ИРИ составил 2,2, что свидетельствовало об активации Т-хелперного звена иммунной системы. Дисиммуноглобулинемия была более выражена, что проявлялось снижением процентного содержания IgA до 7,1% (при норме – 11,3%); увеличением до 84,3% уровня IgG.

У детей 2-й группы (старше 5-ти лет) специфические противогерпетические антитела определялись в 86% случаев и их спектр включал антитела к ЦМВ, ВЭБ и ВПГ(1+2 типа) Высокий уровень общих IgE определялся у 33,3% обследованных лиц и составлял 701,22 ±5,6 МЕ\мл. У детей 2а группы с нормальным содержанием IgE дисбаланс субпопуляций Т-лимфоцитов характеризовался снижением Т-хелперной активности, что проявлялось снижением ИРИ до 1,5; суммарное содержание сывороточных иммуноглобули-

нов составляло 13,8г\л. Дисиммуноглобулинемия проявлялась относительным незначительным снижением до 7,6% уровня IgM. У детей старше 5-ти лет с высоким содержанием уровня IgE также отмечалось снижение ИРИ до 1,6. Суммарное содержание сывороточных иммуноглобулинов существенно не отличалось и составляло 12,7 г\л. Дисиммуноглобулинемия проявлялась относительным увеличением уровня IgM до 11,06 % и снижением уровня IgG до 77,0%.

Во 2-й группе детей встречались более разнообразные проявления изменений иммунного статуса, которые проявлялись снижением уровня IgA и/или снижением уровня IgM, что свидетельствовало о разнообразной палитре иммунологических механизмов развития ХННК у детей. В силу недостаточного количества наблюдений, ассоциативный анализ с уровнем общего IgE и противогерпетическим иммунитетом не проводился и эти наблюдения не учитывались в нашем исследовании.

Таким образом, полученные результаты убедительно свидетельствуют о необходимости дополнения обследования детей с ХННК определением уровня общего IgE и специфических противогерпетических антител. Выявленные закономерности имеют диагностическую значимость и направлены на оптимизацию лечения таких пациентов. Дальнейшая работа в этом направлении перспективна в плане изучения иммунопатогенеза хронических воспалительных заболеваний толстого кишечника.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Белоусов Ю.В., Садчиков В.Д., Белоусова О.Ю., Долгая О.В. Классификационные морфологические характеристики хронического неспецифического неязвенного колита у детей // Международный медицинский журнал - 2004. - №8. Т.10. - С.29-31.
2. Белоусова О.Ю. Хронический неспецифический неязвенный колит у детей // Практика педиатра. Гастроэнтерология. - 2013. - С. 49-52
3. Златкина А.Р. Хронический колит // Клиническая медицина. - 1999. - №7. - С. 125-127.
4. Лукьянова Е.Н., Белоусов Ю.В., Денисова М.Ф. Гастроэнтерология детского возраста – Проблемы и перспективы медицинской науки. - 2002. - №3. - С.5-7.
5. Мазанкова Л.Н., Захарова И.Н. Инфекционные аспекты соматической патологии у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2010. - №5. Педиатрия и детская хирургия (инфекционные болезни) 2011. - Т.2. - С.1-6.
6. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Особенности организации и функционирования иммунной системы желудочно-кишечного тракта и заболевания, связанные с нарушением её функционирования (лекция) // Анналы хирургической гепатологии. 1998.т.3.№1,С.112-116.

ДНЕВНОЙ СТАЦИОНАР, КАК ЭФФЕКТИВНАЯ МОДЕЛЬ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ДЕТЯМ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Березовский А.С., Незабудкин С.Н., Незабудкина А.С.

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург

DAY HOSPITAL AS AN EFFECTIVE MODEL FOR THE PROVISION OF MEDICAL AID TO CHILDREN WITH ALLERGIC DISEASES

Berezovskii A.S., Nezabudkin S.N., Nezabudkina A.S.

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University.

По сведениям ВОЗ, аллергические заболевания сегодня занимают одно из ведущих мест среди самых распространённых хронических заболеваний в детском возрасте: от 4 до 10% детей страдает бронхиальной астмой, распространённость аллергического ринита достигает до 30%, а атопический дерматит выявляется более чем у 14% детей. Научный прогноз в отношении дальнейшего увеличения числа детей с аллергией неблагоприятный [1, 2, 4]. В крупных городах с высоким уровнем загрязнённости выявляется в 1,5 раза больше «часто и длительно болеющих» детей, а также детей с функциональными отклонениями со стороны различных органов и систем, в том числе детей с аллергопатологией [5]. В связи с этим актуальной проблемой является поиск новых экономически эффективных моделей оказания специализированной медицинской помощи. Внедрение стационарзамещающих технологий в медицинскую практику следует считать одним из путей повышения эффективности оказания медицинской помощи населению, а критерий «частота вызовов скорой медицинской помощи и госпитализаций» как метод оценки эффективности тех или иных лечебных подходов и схем ведения детей с аллергией [3, 6].

Цель работы. С целью повышения качества медицинской помощи детям с аллергопатологией изучить деятельность дневного аллергологи-

ческого стационара и проанализировать частоту вызовов скорой медицинской помощи и госпитализаций к детям с обострением аллергических заболеваний.

Базой исследования явился второй по величине город Российской Федерации — Санкт-Петербург. Исследование проводилось в двух административных районах города в 2015 и в 2016 гг. В Московском административном районе активно функционирует дневной аллергологический стационар; в Кировском административном районе данная модель оказания медицинской помощи детям на момент проведения исследования не внедрена. Оба района были сопоставимы по основным санитарно-гигиеническим показателям окружающей среды. В двух районах анализировалась частота вызовов скорой медицинской помощи и госпитализаций к детям с аллергическими заболеваниями, на основании сведений журналов вызовов скорой медицинской помощи и госпитализаций.

Статистическую обработку материала производили с использованием программных средств пакетов STATISTICA v.7.0. Для оценки корреляции и значимости различий между группами сравнения использовался критерий χ^2 Пирсона.

По официальным данным, за исследуемый период в Кировском административном районе Санкт-Петербурга отмечено достоверно большее

число вызовов бригад скорой медицинской помощи к детям с обострением аллергических заболеваний (p выборках за 2015-2016 гг. $<0,005$). В 2016 году данный показатель составил 35,8%, что в 4 раза выше, чем в Московском административном районе ($p < 0,005$) и оставался приблизительно на одном и том же уровне в сравнении с 2015 годом. В Московском районе за этот же период число вызовов скорой медицинской помощи снизилось на 13,3% ($p_{2015-2016} < 0,005$).

Анализ частоты повторных вызовов скорой помощи показал, что в Московском административном районе в 2016 году только третья часть детей вызывала скорую помощь повторно, это в 2 раза реже, чем в 2015 году ($p_{2015-2016} < 0,005$). В Кировском административном районе удельный вес детей, нуждающихся в повторном оказании неотложной помощи, в 2016 году составил 25,8%, что в три раза выше, чем в Московском административном районе (p_{2016} в двух выборках $< 0,005$).

Анализ повторных вызовов скорой медицинской помощи показал – в Московском административном районе удельный вес «часто вызывающих» (более, чем два раза) детей достоверно ниже, чем в Кировском ($p < 0,005$). В 2016 году этот показатель почти в 4 раза ниже в Московском административном районе по сравнению с Кировским административным районом (p_{2016} в двух выборках $< 0,005$). В Кировском административном районе число таких детей остается стабильно высоким в течение всего анализируемого периода и в 2016 году достигает 18,5% от всех детей, нуждающихся в вызове скорой помощи.

При сравнительном анализе экстренных госпитализаций детей с аллергическими заболеваниями в двух районах выяснилось, что в Московском административном районе Санкт-Петербурга число госпитализаций ежегодно имело тенденцию к уменьшению и в 2016 году снизилось почти в 2 раза по сравнению с 2015 годом ($p < 0,005$). В Кировском административном районе ежегодно отмечалось достоверно большее число госпитализаций: в 2016 году этот показатель достигал 38,8‰, что на 8,3‰ больше, чем в 2015 году ($p < 0,005$) и в 5 раз выше, чем в Московском административном районе в этом же году ($p < 0,005$).

Таким образом, проведя анализ эффективно-

сти работы дневного аллергологического стационара, можно сделать следующие выводы: во-первых, введение дневного стационара в систему оказания специализированной медицинской помощи оказывает значимое влияние на частоту вызовов скорой медицинской помощи и госпитализаций детей с аллергическими заболеваниями, что следует рассматривать, как критерий эффективности и качества лечения таких детей; во-вторых, дневной аллергологический стационар может служить примером для тиражирования в крупных промышленных городах России, что позволит сократить затраты на вызовы скорой медицинской помощи и госпитализацию, тем самым повысив эффективность лечения детей с аллергопатологией. И, наконец, дневной стационар поликлиники в новых социально-экономических условиях призван обеспечить высокоспециализированной медицинской помощью детей с аллергическими заболеваниями, а также проводить научно-просветительную работу не только с пациентами и их родителями, но и с педиатрами.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Баранов А.А., Альбицкий В.Ю., Модестов А.А., Косова С.А., Бондарь В.И., Волков И.М. Заболеваемость детского населения России (итого комплексного медико-статистического исследования) // Здоровоохранение Российской Федерации. – 2012. - №5. – С. 21-26.
2. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С. Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с бронхиальной астмой // Союз педиатров России. – 2016. – 33 с.
3. Волнухин А.М. Стационарзамещающие технологии в условиях общей врачебной практики (семейной медицины) // Врач. – 2008. №12. – С. 33-35.
4. Намазова-Баранова, Л.С. Аллергия у детей: от теории – к практике [монография] // — М: Союз педиатров России. - 2010-2011. — 352 с.
5. В.И. Орел, С.В. Рычкова Служба охраны здоровья матери и ребенка Санкт-Петербурга в 2015 году. Информационно-аналитический сборник // СПбГПМУ. – 2016. – 68 с.
6. Пивень Д.В. Особенности антикризисного управления в здравоохранении // Менеджер здравоохранения. — 2009. — №5. — С. 9-12.

Роль Th 17 лимфоцитов в индукции аутоиммунного воспаления при язвенном колите

Валеева А.Р., Скороходкина О.В.

ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, ГАУЗ «Республиканская клиническая больница», г.Казань

THE ROLE OF TH17 CELLS IN INDUCTION OF AUTOIMMUNE INFLAMMATION IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS

Valeeva A.R., Skorokhodkina O.V.

FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, SAIH Republican clinical hospital MOH ROT, Kazan

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), к которым относятся язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК), были и остаются одной из наиболее серьёзных проблем в современной гастроэнтерологии. В структуре болезней желудочно-кишечного тракта по тяжести течения заболевания, частоте осложнений и летальности ВЗК, по-прежнему, занимают весьма значимое место. Кроме того, следует отметить, что в настоящее время отмечается ежегодный рост заболеваемости ВЗК в различных регионах мира, а высокая частота заболеваемости среди лиц трудоспособного возраста обуславливает социальную значимость этой патологии [1,2]. Согласно данным современной литературы, ЯК является аутоиммунным заболеванием, поражающим желудочно-кишечный тракт, однако в настоящее время, несмотря на многочисленные исследования в этой области, аутоантигены, индуцирующие аутоиммунный процесс, остаются неизвестными. Таким образом, несмотря на многолетнюю историю изучения вопроса, патогенез ВЗК до сих пор раскрыт недостаточно [2]. Традиционно принято считать, что первично в патогенезе ЯК ключевую роль играют Т-хелперы 2 типа. Однако, в последнее время в исследованиях преимущественно зарубежных авторов, в патогенезе ВЗК была показана роль и Т-хелперов 17 типа (Th17), а также секретируемых ими цитокинов [3]. В частности, было продемонстрировано, что Th 17 массивно инфильтрируют ткань кишечника у пациентов с ВЗК и в процессе активации секретируют

интерлейкин (ИЛ)-17А и другие цитокины, которые усиливают воспалительный процесс. Так, в исследовании Jiang W and others [4] указывается, что количество Th 17 типа и экспрессия ассоциированных с ними ИЛ-17, IL-21, IL-22 значительно повышены у пациентов с активным течением ВЗК по сравнению с контролем. Кроме того, экспериментальные данные показали, что данные клетки имеют функциональную пластичность, трансформируясь либо в продуцирующие интерферон- γ (ИФН- γ) Th1 типа (под воздействием ИЛ-12 и 23), либо в регуляторные Т-лимфоциты (под воздействием цитокина ТФР- β 1) [3]. Таким образом, Th17 лимфоциты и ассоциированные с ними цитокины могут вносить существенный вклад в формирование аутоиммунного воспаления при ЯК и приводить в конечном итоге к повреждению слизистой оболочки кишечника.

Цель: Проанализировав уровень цитокинов, секретируемых Th17 лимфоцитами, в сыворотке крови больных с ЯК, охарактеризовать их функциональную активность, как в стадии обострения, так и период ремиссии заболевания.

Методы: Уровень секретируемых Th17 лимфоцитами цитокинов ИЛ- 17А и F, 21, 22, а также уровень ИЛ- 23, 10, 1b, 6 исследовались в сыворотке крови 48 больных с ЯК в стадии обострения заболевания, а также у 20 больных в период ремиссии с помощью метода мультиплексного анализа (Bio-Rad Hercules, USA). Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ STATISTICA 6.0, применялись

непараметрические методы описательной статистики (метод Манна-Уитни). Контрольную группу составили 11 здоровых добровольцев.

Результаты: Анализ полученных результатов показал достоверное увеличение уровня ИЛ-17А и ИЛ-21 у пациентов с ЯК как в обострении, так и в период ремиссии заболевания. Так, в период обострения ЯК уровень ИЛ-17А достигал 15 пг/мл [12,11; 23,38], а в ремиссии – 14,68 пг/мл [11,29; 17,19], в то время как в контрольной группе указанные показатели не превышали 7,36 пг/мл [5,18; 8,06], ($p=0,00007$; $0,00029$ соответственно). Аналогичные закономерности отмечены и в отношении уровня ИЛ-21, значения которого в обострении ЯК соответствовали 156,51 пг/мл [133,44; 233,53], а в период ремиссии 144,02 пг/мл [133,44; 154,43], что также достоверно выше по сравнению с группой контроля (98,31 пг/мл [89,14; 124,86], $p=0,00077$; $0,0054$ соответственно). Также выявлено, что при обострении заболевания уровни ИЛ-17F (136,5 пг/мл [68,25; 228,185]) и ИЛ-22 (3,76 пг/мл [1,5; 5,83]) оказались выше в сравнении с группой контроля (48,7 пг/мл [38,7; 87,6]; 2,6 пг/мл [1,7; 3,2], соответственно), однако достоверной разницы по указанным цитокинам нами не отмечено ($p=0,06$; $0,172$, соответственно). Увеличение уровня обсуждаемых цитокинов может указывать на повышение функциональной активности Th17, что в свою очередь свидетельствует об аутоиммунном характере воспаления. Следует отметить, что уровень ИЛ-23, направляющего дифференцировку Th17, также имел тенденцию к повышению, как в случае обострения, так и в ремиссии заболевания и достигал значений 258,4 пг/мл [55; 367,49] и 244,93 пг/мл [200,26; 301,93], соответственно, хотя и не имел достоверной разницы по сравнению с группой контроля (124,3 пг/мл [107,9; 296,04]; $p=0,48$; $0,098$, соответственно). Кроме того, только в период ремиссии ЯК нами отмечено достоверное увеличение уровня ИЛ-10 до 27,99 пг/мл [17,53; 33,55], значения которого в контрольной группе не превышали 4,36 пг/мл [3,26; 15,25], ($p=0,0046$). В то же время, в период обострения заболевания уровень ИЛ-10 достоверно не отличался от группы контроля (21,93 пг/мл [3,61; 35,35], $p=0,065$). ИЛ-10, являясь основным противовоспалительным цитокином, характеризует активность регуляторных Т-лим-

фоцитов, ингибирующих аутоиммунное воспаление. Помимо этого, нами проведен анализ уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1b и ИЛ-6. Анализ показал, что уровень ИЛ-1b был достоверно выше как в период обострения, так и в стадии ремиссии заболевания. Так, уровень ИЛ-1b в период обострения достигал 3,66 пг/мл [2,84; 4,62], а в ремиссии – 2,84 пг/мл [2,51; 3,17], в то время как в контрольной группе показатели составили 1,57 пг/мл [1,4; 2,35] ($p=0,0007$, $p=0,008$, соответственно). В то же время, значения ИЛ-6 достоверно не отличались от группы контроля (94,6 пг/мл [79,4; 126,5]) как в период обострения, так и в стадии ремиссии ЯК (43,2 пг/мл [32,4; 128,35], 28,9 пг/мл [21,6; 59,95]; $p=0,033$; $0,001$, соответственно).

Заключение: Анализ полученных результатов позволил сделать следующие выводы:

- 1) Увеличение уровней ИЛ-17А, 17F, 21, 22 косвенно указывают на повышение функциональной активности Th17, что свидетельствует об их участии в патогенезе аутоиммунного воспаления при ЯК;
- 2) Наиболее значимые изменения среди всех исследуемых цитокинов Th17 лимфоцитов, зафиксированы для ИЛ-17А и ИЛ-21, уровень которых возможно рассматривать как маркер активности воспалительного процесса при ЯК;
- 3) Таким образом, приведённые данные позволяют заключить, что роль Th17 лимфоцитов значима в индукции аутоиммунного воспаления при ЯК как при обострении, так и в ремиссии заболевания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гастроэнтерология. Национальное руководство / Под ред. В.Т. Ивашкина, Т.Л. Лапиной. ГЭОТАР Медиа. - 2008. - 754 с.
2. Marchal J, Hilsden R. Environment and epidemiology of inflammatory bowel disease //In Inflammatory bowel disease. Ed. Satsangi J, Sutherland L – Churchill-Livingstone. – 2003. – P.17-28.
3. Galvez J. Role of Th17 cells in the Pathogenesis of Human IBD //ISRN Inflamm. - 2014 March 25.
4. Jiang W and others. Elevated levels of Th17 cells and Th 17-related cytokines are associated with disease activity in patients with IBD //Inflamm.Res.- 2014 August 18.

Профиль цитокинов у детей с атопическим дерматитом

Варламов Е.Е., Виноградова Т.В., Пампура А.Н.

ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева»
ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова, Москва.

CYTOKINE PROFILE AT CHILDREN WITH ATOPIC DERMATITIS

Varlamov E.E., Vinogradova T.V., Pampura A.N.

Research Clinical Institute of Pediatrics named after academician Y.E. Veltishev, Russia, Moscow.

Атопический дерматит (АтД) является хроническим воспалительным кожным заболеванием. Основными характеристиками АтД являются выраженный кожный зуд, рецидивирующее течение и, как правило, начало в раннем возрасте. У детей распространенность АтД составляет 15–30%, причем у 45% больных заболевание развивается в течение первых 6 мес. жизни [1], только у 16,8% взрослых больных дебют заболевания случается в подростковом возрасте [2].

Развитие кожного воспалительного процесса при атопическом дерматите является результатом сложного взаимодействия окружающей среды, инфекционных агентов, дефектов кожного барьера и иммунологических механизмов. Одну из ключевых ролей в регуляции иммунопатологических реакций играют цитокины и хемокины. Роль некоторых из них, таких как ИЛ 4, ИЛ 5, ИЛ 12, ИФН γ изучена достаточно хорошо. В то же время, участие целого ряда Т-клеточных цитокинов, таких как ИЛ 17, ИЛ 22, ИЛ 31 пока ещё изучено недостаточно, хотя в последнее время появляются работы по изучению их роли при АтД, так в ряде исследований показана ключевая роль в регуляции иммунопатологических реакций цитокинов, продуцируемых Th-17 и Th-22 клетками [3,4,5,6].

Исследование нарушений цитокинового профиля является крайне перспективным направлением современной иммунологии, так как выявленные изменения могут служить мишенью для разработки новых методов лечения АтД.

Вышеизложенные механизмы обуславливают цель данного исследования – установить особен-

ности спектра цитокинов у детей с атопическим дерматитом.

Материалы и методы. В исследование было включено 64 ребёнка с АтД, в возрасте от 1 года до 16 лет, медиана и верхняя и нижняя квартили (Me [Q1; Q3] : Me – 4,5 [Q1 – 3,0; Q3 – 8,0] лет, наблюдавшихся в 2014-2016 гг. в отделении аллергологии и клинической иммунологии Московского научного клинического института ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова. 11 детей (Me-5,2 [Q1 – 3,2; Q3 – 9,0]) без аллергических заболеваний и отсутствием IgE-опосредованной сенсибилизации составили группу контроля.

Диагноз АтД был установлен в соответствии с существующими международными критериями для детей [7].

Определение уровней цитокинов: ИЛ 4, ИЛ 5, ИЛ 22, ИЛ 31, ИЛ 33, и трансформирующего ростового фактора TGF- β 1, эотаксина, эотаксина-2 проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением наборов фирмы «Bioscience», «Platinum ELISA», США. Оценку результатов осуществляли, используя микропланшетный ридер Anthos 2020 («Biochrom», Великобритания). Нижний пороговый уровень чувствительности, согласно заявленным производителем значений, составлял для ИЛ 4 1,3 пг/мл, для ИЛ 5 – 1,5 пг/мл, для ИЛ 22 – 5,0 пг/мл, для ИЛ 31 – 1,0 пг/мл, для ИЛ 33 – 0,2 пг/мл, для TGF β 1 – 8,6 пг/мл, для эотаксина < 2,2 пг/мл, и для эотаксина-2 < 2,5 пг/мл.

Данное исследование было одобрено Этическим комитетом ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени

академика Ю.Е. Вельтищева» ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Все статистические расчёты проведены с использованием STATISTICA 8.0. Описательная статистика проводилась с вычислением средней величины, медианы, верхнего и нижнего квартилей. Взаимосвязь между концентрациями цитокинов анализировали вычислением коэффициента корреляции по Спирмену. Сравнение групп осуществляли с применением Манна-Уитни U-теста, построением таблиц сопряжённости с применением критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при уровне $p=0,05$.

Результаты. Диагноз АтД был подтверждён у 64 (100%) пациентов на основании международных критериев Eichenfield et al [7].

Тяжёлое течение АтД было отмечено у 32 (50%) пациентов.

На первом этапе исследования была оценена частота встречаемости концентраций цитокинов выше пороговых.

Концентрация ИЛ 4 выше пороговой была выявлена у 18 (28%) пациентов, ИЛ 5 – у 15 (23,4%), ИЛ 22 – у 5 (7,8%), ИЛ 31 – у 20 (31,2%), ИЛ 33 – у 0 (0%), эотаксина – у 55 (85,9%), эотаксина-2 – у 63 (98,4%), TGF β 1 – у 64 (100%) пациентов.

У пациентов группы контроля концентрация ИЛ 5 выше пороговой выявлялась достоверно чаще по сравнению с пациентами с АтД (100 и 23,4%, соответственно, $p=0,00001$).

Значения концентраций определяемых цитокинов в группе с АтД составили (медиана и верхняя и нижняя квартили): ИЛ 4 – 0 [0; 4,64] пг/мл; ИЛ 5 – 0 [0; 0] пг/мл; ИЛ 22 – 0 [0; 0] пг/мл; ИЛ 31 – 0 [0; 3,15] пг/мл; ИЛ 33 – 0 [0; 0] пг/мл; эотаксин – 74,3 [56,6; 94,8] пг/мл; эотаксин-2 – 936,8 [563,1; 1615,4] пг/мл; TGF β 1 – 2,64 [2,41; 3,38] пг/мл.

При сравнении уровней цитокинов между подгруппами детей с АтД и без наличия атопии выявили, что у детей с АтД достоверно ниже концентрация ИЛ 5 ($p=0,0006$).

На следующем этапе исследования, при анализе взаимосвязи значений концентраций цитокинов между собой достоверной корреляции выявлено не было ($p>0,05$).

При сравнении концентрации цитокинов у пациентов с тяжёлым и среднетяжёлым/лёгким АтД достоверных различий не обнаружено.

Обсуждение результатов. В данном исследовании был проведен анализ цитокинового спек-

тра пациентов с АтД. У детей с АтД достоверно реже выявлялась концентрация ИЛ 5 выше пороговой, и значение концентрации данного цитокина было достоверно ниже, по сравнению с детьми из группы контроля. Интерлейкину 5 в патогенезе аллергических заболеваний отводится особое место из-за его эозинофилотропного действия. ИЛ 5 вызывает высвобождение эозинофилов из костного мозга, их созревание и активацию. Известно, что при атопическом дерматите отмечается повышенная продукция ИЛ 5 и повышенное содержание его в коже [8]. Полученные в нашем исследовании различия, вероятно, связаны с повышенным потреблением ИЛ-5 (например, взаимодействие ИЛ-5 с рецептором к ИЛ-5 на эффекторных клетках).

Обращает на себя внимание тот факт, что у детей с атопическим дерматитом с наибольшей частотой выявлялись С-С хемокины (эотаксин и эотаксин-2) и TGF β 1.

Эотаксин и эотаксин-2 являются основными хемоаттрактантами эозинофилов в очаг воспаления. Эозинофилия ткани обнаруживается как в острую, так и в хроническую стадию АтД и коррелирует с тяжестью болезни [9]. В нашем исследовании концентрации эотаксина и эотаксина-2 у пациентов с разной степенью тяжести атопического дерматита не различались. Вместе с тем в недавно проведенном исследовании было показано, что концентрации эотаксина и эотаксина-2 выше у взрослых пациентов с АтД. Этот факт указывает на вовлечение в патологический процесс эозинофилов преимущественно у взрослых [3]. Эозинофилия связана не только с тяжестью кожного процесса, но и с такими нарушениями, как эпидермальная гиперплазия [10].

Трансформирующий фактор роста- β (TGF β) индуцирует «трансформированный» фенотип у нормальных клеток, растущих в культуре (потеря контактного торможения, отделение от субстрата, реорганизация цитоскелета). Продуцентами TGF β служит большое число клеток, включая стромальные, эпителиальные клетки, макрофаги, регуляторные Т-лимфоциты, многие разновидности опухолевых клеток. В литературе описаны провоспалительные свойства TGF β , в исследовании Li A.G. с соавторами было показано, что повышенная экспрессия TGF β приводит к инфильтрации кожи тучными клетками, что в свою очередь способствует развитию кожно-

го воспалительного процесса [11]. Кроме того, продемонстрировано повышение уровня $TGF\beta$ у детей с АД тяжёлого течения в сочетании с множественной непереносимостью пищевых белков [12]. Следовательно, изменение, как повышение, так и понижение концентрации $TGF\beta$, как прогностического маркера течения АД можно рассматривать, только учитывая ряд других факторов: особенность клинических манифестаций, состояние эпидермального барьера, значения других иммунологических показателей и т.д.

Выявление особенностей патогенеза АД на основании оценки цитокинового профиля и выявление маркеров тяжести течения заболевания может быть крайне перспективным для разработки новых методов лечения АД, что может существенно повысить эффективность терапии и разработать персонифицированные подходы к диагностике и лечению этого хронического заболевания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Williams H, Flohr C. How epidemiology has challenged 3 prevailing concepts about atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; v.118, p.209-213.
2. Ozkaya E. Adult-onset atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2005, v.52, p.579-582
3. Варламов Е.Е., Елисютина О.Г., Виноградова Т.В., Феденко Е.С., Пампура А.Н. Патогенетические особенности цитокинового профиля у пациентов с атопическим дерматитом в зависимости от возраста. *Российский аллергологический журнал*. 2016, №4-5, 37-42
4. Pucci N., Novembre E., Cammarata M. et al.

Scoring atopic dermatitis in infants and young children: distinctive features of SCORAD index. *Allergy*. 2005, v. 60, p. 113-116.

5. Commins S., Borish L., Steinke J. Immunologic messenger molecules: Cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 2010, v.125(2), p.53-72.

6. Варламов Е.Е., Виноградова Т.В., Чусляева А.А., Пампура А.Н. Биомаркеры аллергического воспаления и тяжесть атопического дерматита у детей. *Рос. Аллергол. Журнал*, 2012, №5, с.31-35

7. Eichenfield LF, Tom WL, Chamlin SL et al. Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: section 1. Diagnosis and assessment of atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol*. 2014, v.70, p.338-351.

8. Jeong C., Ahn K., Rho N. et al. Differential in vivo cytokine mRNA expression in lesional skin of intrinsic vs. extrinsic atopic dermatitis patients using semiquantitative RT-PCR. *Clin Exp Allergy*. 2003; 33: 1717-1724

9. Tomomitsu Miyagaki Miyagaki T1, Sugaya M, Fujita H, Ohmatsu H et al. Eotaxins and CCR3 interaction regulates the Th2 environment of cutaneous T-cell lymphoma *J Invest Dermatol*. 2010 Sep;130(9):2304-11].

10. Owczarec W., Palpinska M., Targowski T. et al. Analysis of eotaxin 1/CCL11, eotaxin 2/CCL24 and eotaxin 3/CCL26 expression in lesional and non-lesional skin of patients with atopic dermatitis. *Cytocine*. 2010, v. 50, p. 181-185.

11. Li A.G., Wang D., Feng X.H., Wang X.J. Latent $TGF\beta$ 1 overexpression in keratinocytes results in a severe psoriasis-like skin disorder. *EMBO. J*. 2004, v. 23, p. 1770-1781

12. Варламов Е.Е., Виноградова Т.В., Чусляева А.А., Пампура А.Н. Особенности цитокинового профиля у детей раннего возраста с множественной непереносимостью пищевых белков. *Рос. Аллергол. Журнал*, 2012, №5, с.76-80

РОЛЬ ВИТАМИНА D В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОЙ СПОНТАННОЙ КРАПИВНИЦЫ

Витчук А.В.¹, Мешкова Р.Я.¹, Ковригина Н.В.¹, Аксенова Е.В.¹, Слабкая Е.В.¹, Волкова Е.В.², Битюцкая В.В.²

¹ ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет», Россия, Смоленск

² Областной центр аллергологии и иммунологии ОГБУЗ КБ №1, Россия, Смоленск

ROLE OF VITAMIN D IN THE PATHOGENESIS OF CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA

Vitchuk A.V.¹, Meshkova R.Ya.¹, Kovrigina N.V.¹, Aksenova S.A.¹, Slabkaya E.V.¹, Volkova E.V.², Bityutskaya V.V.²

¹ Smolensk State Medical University, Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28

² Smolensk Regional Department of Allergy and Clinical Immunology, Russia, Smolensk

Открытие самых разнообразных неклассических эффектов витамина D, одним из которых является иммуномодулирующий, послужило стимулом для изучения роли витамина D в патогенезе многих заболеваний [1]. В последнее десятилетие ведутся исследования взаимосвязи витамина D с развитием и течением патологий, связанных с дегрануляцией тучных клеток (бронхиальная астма, атопический дерматит, аллергический ринит, острая крапивница, хроническая спонтанная крапивница (ХСК) [2]). Кальцитриол – гормонально активный метаболит витамина D, способен тормозить активацию и дегрануляцию тучных клеток, а также образование мастоцитов в костном мозге [3,4]. Имеются сведения успешного применения витамина D в терапии ХСК, а уровень кальцидиола – неактивного метаболита витамина D рассматривается в качестве одного из возможных биомаркеров заболевания [5, 6, 7]. Однако вовлечение отдельных метаболитов витамина D, характер экспрессии рецепторов к витамину D (VDR) в патогенезе ХСК остается малоизученным.

Целью данного исследования было изучение патогенетической роли метаболитов витамина D (кальцитриола, кальцидиола, эргокальциферола), рецепторов к витамину D (VDR) у больных ХСК.

Материалы и методы. В исследование было

включено 72 больных ХСК, группу контроля составили 59 доноров. Диагноз ХСК устанавливали согласно международному консенсусу по крапивнице [8]. Среди пациентов преобладали женщины – 56 (95% ДИ 68.1-87.3%), мужчин – 16 (95% ДИ 12.7-31.9%). Средний возраст в группе больных составил 43.7±3.08 лет. Гендерный и возрастной состав контрольной группы соответствовал группе больных: 49 женщин (95% ДИ 73.5-92.4%) и 10 мужчин (95% ДИ 7.6-26.5%), средний возраст 41.24±4.24 лет. Все обследованные лица не принимали какие-либо препараты метаболитов витамина D в течение не менее 6 месяцев до обследования. Для уменьшения сезонных влияний на обмен витамина D забор крови у всех обследованных проводили в течение 3-х последовательных месяцев (с февраля по апрель). Концентрации метаболитов витамина D (кальцитриола, кальцидиола, эргокальциферола), VDR мононуклеаров периферической крови определяли методом ИФА с использованием тест-систем Cloud-CloneCorp. (Houston, USA) на ридере фирмы Dynex Technologies, длиной волны 450 нм. Диапазон нормальных значений метаболитов витамина D равен для кальцидиола от 30 до 70 нг/мл, для кальцитриола – от 25 до 87 пг/мл, для эргокальциферола >4 нг/мл. Определение концентрации кальцидиола используется в настоящее время в качестве показателя, наиболее точно

отражающего уровень витамина D [1]. Снижение концентрации кальцидиола ниже 30 нг/мл оценивалось как гиповитаминоз D, снижение ниже 10 нг/мл как критический уровень витамина D. Выделение моноклеарных периферических крови осуществляли методом седиментации в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урографина по Boyum (1968). Статистическую оценку результатов проводили с использованием U-критерия Мана-Уитни, определения 95% доверительного интервала (95% ДИ). Для оценки корреляционных связей применяли метод ранговой корреляции Спирмена.

Результаты исследования. Витамин D поступает в организм двумя путями: с пищей и в результате синтеза в коже под влиянием УФ-лучей [1]. Нами было изучено содержание эргокальциферола – метаболита витамина D, который поступает с пищей и в организме превращается в кальцидиол. В обеих группах содержание эргокальциферола оказалось ниже нормальных значений. Так в группе больных ХСК этот показатель был равен 2.3 ± 0.26 нг/мл, в группе контроля 1.9 ± 0.16 нг/мл ($p > 0.05$).

Изучение содержания кальцидиола у больных ХСК показало, что у $62.5 \pm 10.9\%$ пациентов имел место гиповитаминоз D, а у $12.5 \pm 6.9\%$ критический уровень витамина D. В группе контроля гиповитаминоз D выявлен у $50.0 \pm 19.6\%$ обследованных, при этом снижения до критического уровня не отмечалось. Средняя концентрация кальцидиола в группе больных ХСК составила 29.8 ± 1.91 нг/мл и не отличалась от показателя в контроле 29.7 ± 1.49 нг/мл. Полученные нами результаты наличия гиповитаминоза D, вплоть до критического уровня кальцидиола, у пациентов с ХСК соответствуют литературным данным [7]. Данный метаболит является неактивным и используется различными клетками, в том числе иммунной системы, для синтеза гормонально активной формы [1]. Тогда как синтез кальцитриола подвержен регуляции в соответствии с потребностью в нём клеток и слабо зависит от содержания кальцидиола [1].

У больных с ХСК нами впервые изучен уровень гормонально активного метаболита витамина D, обладающего иммуномодулирующей активностью. Оказалось, что у $20.8 \pm 8.5\%$ пациентов

ХСК имело место снижение уровня кальцитриола ниже нижней границы нормы, тогда как в контрольной группе данный показатель был равен $38.5 \pm 9.7\%$. Возможно, у пациентов ХСК синтез кальцитриола находится на несколько более высоком уровне, чем у лиц здорового контроля. Это может быть связано с увеличением потребности различных клеток, включая клетки иммунной системы, в гормональном влиянии витамина D. Средняя концентрация кальцитриола у больных ХСК была сопоставима с данными в контрольной группе и составила соответственно 39.7 ± 3.27 пг/мл и 36.1 ± 3.38 пг/мл. Как видно из полученных данных у большинства больных с ХСК уровень гормонально активного метаболита поддерживается на нормальном уровне, несмотря на гиповитаминоз D.

Реализация гормональных эффектов кальцитриола возможна только после взаимодействия его со специфическими рецепторами (VDR) клеток [9]. При изучении экспрессии VDR моноклеарными клетками крови установлено, что у пациентов с ХСК имеет место тенденция к повышению концентрации данных рецепторов по сравнению с группой контроля, соответственно -1.16 ± 0.23 нг/мл и 0.69 ± 0.1 нг/мл соответственно. По данным литературы, увеличение экспрессии VDR большинством клеток иммунной системы происходит при их активации [9]. Найденная нами тенденция, возможно, является проявлением активации данных клеток при ХСК, что приведёт к росту потребности иммунной системы в иммуномодулирующем влиянии витамина D. Данный механизм может объяснить положительный эффект применения различных метаболитов витамина D (холекальциферола и эргокальциферола) у больных ХСК.

Выводы.

1) Впервые показано, что средний уровень гормонально активного кальцитриола у больных ХСК так же как и в группе контроля находится в пределах нормального диапазона. В то же время процент больных ХСК, имеющих отклонение показателя ниже нижней границы нормы в 1.85 раза меньше, чем в контроле.

2) У 62.5% больных ХСК имеет место гиповитаминоз D, тогда как в группе контроля у 50.0%

3) У больных ХСК имеет место тенденция к

повышению концентрации рецепторов к витамину D.

4) Выявленные изменения метаболизма витамина D с активацией потребления клетками иммунной системы гормонально активного метаболита с одновременным повышением экспрессии VDR могут иметь место в патогенезе ХСК.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Захарова И.Н., Дмитриева Ю.А., Яблочкова С.В. Современный взгляд на метаболизм и физиологические эффекты витамина D в организме человека // Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей. – 2013. – №2. – С. 27-30
2. Prietl B., Treiber G., Pieber T.R. et al. Vitamin D and Immune Function // *Nutrients*. – 2013. – V.5(7). – P. 2502–2521
3. Shalita-Chesner M., Koren R., Mekori Y.A. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 enhances degranulation of mast cells // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 1993. – V.142. – P. 49-55

4. Baroni E., Biffi M., Benigni F. et al. VDR-dependent regulation of mast cell maturation mediated by 1,25-dihydroxyvitamin D3 // *Leukoc. Biol.* – 2007. – V.81. – P.250-262

5. Oguz T., Kocaturk E., Gungor S. et al. Does replacement of vitamin D reduce the symptom scores and improve quality of life in patients with chronic urticaria? // *Dermatolog Treat.* – 2016. – V.27. – P.163-166

6. Rorie A., Goldner W., Lyden E. Beneficial role for supplemental vitamin D3 treatment in chronic urticaria: a randomized study // *Ann Allergy Asthma Immunol.* – 2014. – V.112(4). – P. 376-382

7. Zuberbier T., Aberer W., Asero R. et al. The EAACI/GA(2) LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2013 revision and update // *Allergy*. – 2014. – V.69. – P. 868-887.

8. Miraglia D., Allegorico A. The Role of Vitamin D in Allergic Diseases in Children // *J Clin Gastroenterol.* – 2016. – V.50(2). – P. 133-135.

9. Kolkhir P., André F., Church M.K. et al. Potential blood biomarkers in chronic spontaneous urticarial // *Clin Exp Allergy*. – 2017. – V.47(1). – P.19-36.

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЛИМФОЦИТИММУНОТЕРАПИИ В ПРЕГНАВИДАРНОЙ ПОДГОТОВКЕ ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ ВЫКИДЫШЕМ

Кречетова Л.В., Вторушина В.В., Голубева Е.А., Агаджанова А.А., Тетруашвили Н.К.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

THE PROCEDURE OF LYMPHOCYTOIMMUNOTHERAPY UNDER PRE-PREGNANCY MANAGEMENT OF WOMEN WITH RECURRENT MISCARRIAGE

Krechetova L.V., Vtorushina V.V., Golubeva E.L., Agadzhanova A.A., Tetrushvili N.K.

Federal State Budget Institution «Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology» Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Привычный выкидыш – диагноз, который, согласно определению ВОЗ, устанавливается в случае произошедших подряд трёх и более самопроизвольных прерываний беременности на сроке гестации до 22 недель. У женщин с привычным выкидышем повышена вероятность развития плацентарной недостаточности, наступления преждевременных родов, преждевременного излития околоплодных вод, преждевременной отслойки плаценты [1,2]. Причины невынашивания беременности многочисленны:

- аутоиммунные факторы – наличие в кро-

ви аутоантител;

- тромбофилические – генетически обусловленные тромбофилии;
- гормональные – недостаточность лютеиновой фазы и гиперандрогения различного генеза;
- анатомические – врожденные пороки развития половых органов и приобретенные изменения (внутриматочные синехии, миома матки и др.);
- инфекционные – бактериально-вирусная колонизация эндометрия;

- хромосомные – аномалии кариотипа супругов.

Ключевую роль в развитии привычного выкидыша неясного генеза (5-20% в структуре привычного невынашивания беременности) играют аллоиммунные нарушения [3]. По данным зарубежных авторов, шансы доносить беременность без терапии после трёх выкидышей, обусловленных аллоиммунными механизмами, составляют 30%, после четырех – 25%, после пяти – 5% [4,5]. Поэтому наличие даже двух последовательных выкидышей рассматривается как основание для постановки диагноза «привычный выкидыш», последующего обследования и подготовки к беременности [6].

Показано, что лимфоцитоиммунотерапия (ЛИТ) – введение аллогенных партнерских лимфоцитов женщинам с привычным выкидышем при подготовке к беременности (особенно в супружеских парах с совместимостью по HLA-антигенам), способствует формированию состояния иммунной системы, необходимого для успешной пролонгации беременности [7,8].

В связи с разнообразием методов выделения лимфоцитов из периферической крови, различиями в количестве вводимых клеток, в кратности и способах введения клеток, а также с разнообразием показателей эффективности иммунизации, однозначных выводов об эффективности данного способа лечения не сделано. ЛИТ широко используется для коррекции привычного невынашивания беременности как в России [9,10], так и за рубежом [11,12], однако механизмы влияния аллоиммунизации на имплантацию и гестацию остаются неизученными.

В ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ процедура ЛИТ используется для терапии привычного выкидыша с 1983 года и утверждена на Учёном совете 25.12.2012 г. для использования в научных исследованиях (Говалло В.И., Сидельникова В.М. Иммунизация беременных женщин аллогенными лимфоцитами мужа как метод профилактики самопроизвольных выкидышей //Акуш. и гин.–1983.–№12.–С.25-27; Сидельникова В.М., Сухих Г.Т., Кирющенков П.А., Верясов В.Н. Способ лечения невынашивания беременности.//Патент №2283653 от 20.09.06 г.; Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности.-М: Триада-Х, 2005.-303 с.; Петросян Л.А. Оптимизация лимфоцитоиммунотерапии в лечении привычной потери беременности первого триместра. Автореф. дис.канд.мед.наук. Москва, 2009.-24 с.; Сидельникова В.М. Подготовка и ве-

дение беременности у женщин с привычным невынашиванием: метод. пособия и клин. рекомендации.-М: МЕДпресс-информ, 2011.-224с.).

В качестве прегравидарной подготовки пациенток с привычным выкидышем процедура ЛИТ проводится двукратно на 5-10 день менструального цикла в течение 2-х менструальных циклов.

Для проведения ЛИТ используются лимфоциты, соответствующие критериям донорства. Супруги (доноры) обследуются согласно инструкции о медицинском освидетельствовании доноров (Приказ №364 от 14.09.2001г. об утверждении порядка медицинского обследования доноров и компонентов крови с изменениями от 16 апреля, 6 июня 2008 г.). Забор крови из локтевой вены осуществляется в стерильную пробирку объёмом 50 мл, в качестве антикоагулянта используется 200 мкл раствора гепарина (5000МЕ/мл). Выделение лимфоцитарной взвеси осуществляется в помещении, оснащённом ламинарным боксом. Кровь инкубируется при 37°C в течение 1-1,5 часов. После разделения крови на 2 слоя (верхний – плазма с лимфоцитами и тромбоцитами, нижний – эритроциты), верхний слой переносится в центрифужную стерильную пробирку объёмом 14мл и центрифугируется в течение 7 минут при 1500 об/мин. Затем надосадоk удаляется и в пробирку вносится 10мл стерильной дистиллированной воды, осадок тщательно ресуспендируется в течение 10-15 секунд, добавляется избыток физиологического раствора. Пробирка центрифугируется в течение 7 минут при 1500 об/мин, надосадоk удаляется, к осадку добавляется 2мл стерильного физиологического раствора.

В случаях, когда женщина имеет положительный резус-фактор, а её супруг – резус отрицательную кровь, при выделении клеток плазма крови с форменными элементами разводится в 6 мл физиологического раствора и наслаивается на 3 мл физикола 1,077 г/см³ в 2 пробирки. Пробирки центрифугируются в течение 30 минут при 1500 об/мин. Затем собираются кольца клеток в чистую стерильную пробирку, 2 раза отмываются в 15 мл физиологического раствора в течение 7 минут при 1500 об/мин. Затем надосадоk удаляется, к осадку добавляется 2 мл стерильного физиологического раствора.

В полученной взвеси определяется количество клеток путем визуального подсчета в камере Горяева. Окончательная концентрация лимфоцитов в физиологическом растворе доводится до 50 млн в 1 мл.

Лимфоцитарная взвесь вводится в ладонную поверхность предплечья внутрикожно в 10-12

точек. Все манипуляции осуществляются с учётом правил асептики и антисептики.

В качестве иммунологического маркера эффективности проведения ЛИТ используется определение антиотцовских антител (АОАТ) – количества лимфоцитов с фенотипом CD3+, несущих на своей поверхности антитела к Fc-фрагменту иммуноглобулина G, специфичных к антигенам лимфоцитов супруга. Появление в сыворотке крови женщин АОАТ после проведения ЛИТ является одним из показателей формирования иммунного ответа на введение аллогенных клеток. До назначения ЛИТ у женщин с привычным выкидышем определяется низкий уровень АОАТ. Проведение ЛИТ приводит к постепенному повышению уровня АОАТ. Уровень АОАТ, достигнутый после второй процедуры ЛИТ, сохраняется стабильным у забеременевших в дальнейшем женщин на протяжении всего первого триместра [13].

В связи с присутствием в лимфоцитарной взвеси тромбоцитов и возможной аллосенсибилизации к антигенам тромбоцитов было проведено качественное определение антиромбоцитарных антител у 40 женщин до и после проведения 2 процедур ЛИТ (через 2-3 недели) методом иммуноферментного анализа («GEN-PROBE», США). По результатам исследования у одной женщины антиромбоцитарные антитела определялись как до, так и после проведения ЛИТ (2,5%), а у двух (5,1%) женщин наблюдалось появление слабоположительных результатов на антитела к тромбоцитам после 2 процедур ЛИТ. За период 2012-2015 гг. в рамках грантов Президента РФ ведущих научных школ НШ-366.2012.7 на 2012-2013 гг. «Молекулярные и клеточные механизмы иммунорегуляции процесса гестации в норме и при потерях беременности ранних сроков» и НШ-1694.2014.7 на 2014-2015 гг. «Молекулярные и клеточные механизмы нарушения и коррекции иммунорегуляции процесса гестации при невынашивании беременности» проиммунизировано 68 женщин с привычным выкидышем, из них за наблюдаемый период забеременело 57 женщин (83,8%), причем у 39 женщин (68,4%) беременность наступила в течение 6 месяцев после проведения ЛИТ, у двух женщин выполнено прерывание беременности в сроке 12 недель в связи с диагностированными врожденными пороками развития плода (3,5%), у 11 женщин произошла потеря беременности на ранних сроках – до 16 недель гестации (19,3%), преждевременные роды наблюдались у 9 женщин (15,8%), у 35 женщин (61,4%) беременность закончилась рождением

живого доношенного ребёнка.

Включение лимфоцитоиммуноотерапии в алгоритм подготовки женщин с привычным выкидышем является перспективным методом прегравидарной подготовки и требует дальнейших исследований для оценки ее эффективности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Saraswat L., Bhattacharya S., Maheshwari A., Bhattacharya S. Maternal and perinatal outcome in women with threatened miscarriage in the first trimester: a systematic review. BJOG. 2010 Feb;117(3):245-57.
2. Oppenraaij R.H., Jauniaux E., Christiansen O.B., Horcajadas J.A., Farquharson R.G., Exalto N.; ESHRE Special Interest Group for Early Pregnancy (SIGEP). Predicting adverse obstetric outcome after early pregnancy events and complications: a review. Hum Reprod Update. 2009; 15(4): 409-21.
3. Recurrent pregnancy loss: causes, controversies and treatment. Ed. by Carp Howard J.A.: Informa UK Ltd.; 2007. 290p.
4. Chong P.J., Matzner W.L., Ching W.T. Benefit of leukocyte immunizations? Fertil Steril. 1993; 59(1): 247-9.
5. Chong P.J., Matzner W.L., Ching W.T. Controversy about immunotherapy. Fertil Steril. 1993; 59(5): 1138-9.
6. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание беременности: Руководство для практикующих врачей.-М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2011.-516с.
7. Сухих Г.Т., Л.В. Ванько. Иммунология беременности. М.: Изд-во РАМН; 2003. 400 с.
8. Посиссева Л.В., Малышкина А.И., Бойко Е.Л., Сотникова Н.Ю., Перетятко Л.П., Фетисова И.Н. Реабилитация репродуктивного здоровья супружеских пар с невынашиванием беременности. Иваново: ОАО «Изд-во Иваново»; 2008. 240с.
9. Петросян Л.А. Оптимизация лимфоцитоиммуноотерапии в лечении привычной потери беременности первого триместра. Автореф.дисс.канд.мед наук, Москва. 2009. 24с.
10. Khonina N.A., Broitman E.V., Shevela E.Y., Pasman N.M., Chernykh E.R. Mixed lymphocyte reaction blocking factors (MLR-Bf) as potential biomarker for indication and efficacy of paternal lymphocyte immunization in recurrent spontaneous abortion. Arch Gynecol Obstet. 2013; 288(4): 933-7.
11. Taro Nonaka, Koichi Takakuwa, Izumi Ooki, Mami Akashi, Tomokazu Yokoo, Akira Kikuchi, Kenichi Tanaka. Results of Immunotherapy for Patients with Unexplained Primary Recurrent Abortions – Prospective Non-Randomized Cohort Study. American Journal of Reproductive Immunology. 2007; 58: 530–36.
12. Recurrent Miscarriage Immunotherapy Trialists Group. Worldwide collaborative observational study and meta-analysis on allogenic leukocyte immunotherapy for recurrent spontaneous abortion. Am J Reprod Immunol. 1994; 32(3): 255.
13. Кречетова Л.В., Хачатрян Н.А., Тетрашвили Н.К., Вторушина В.В., Степанова Е.О., Голубева Е.Л., Николаева М.А., Сухих Г.Т. Динамика выработки антиотцовских антилейкоцитарных антител при иммунизации аллогенными клетками женщин с привычным выкидышем. Акушерство и гинекология, 2015; 3: 16-20.

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА В РАЗВИТИИ ПАРОДОНТИТА У ПАЦИЕНТОВ С СОПУТСТВУЮЩИМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА

Голицына А.А., Югай Ю.В., Костюшко А.В., Макаров П.М.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владивосток.

CYTOKINE STATUS SPECIAL ASPECTS IN DEVELOPMENT OF PERIODONTITIS IN PATIENTS ACCOMPANIED BY II TYPE DIABETES MELLITUS

Golitsyna A. A., Yugay Yu. V., Kostyushko A.V., Makarov P.M.

Federal State Educational Institution of Higher Education "Pacific State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladivostok

Многочисленными исследованиями доказано, что наличие сахарного диабета у пациентов значительно повышает риск развития пародонтита [1]. Пародонтит, протекающий на фоне эндокринной патологии характеризуется более сложными изменениями иммунологических параметров, чем пародонтит без сопутствующих заболеваний [2]. В настоящее время иммунологические аспекты пародонтита при сахарном диабете остаются малоизученными. Целью исследования явилась сравнительная характеристика локальных уровней TNF- α , TNF- β , IL-1 β , IL-10, у пациентов с пародонтитом при нарушении углеводного обмена (сахарный диабет II типа) и без него. В основу работы положены результаты обследования 65 больных, в возрасте от 30 до 60 лет. Больные были распределены на 2 группы следующим образом: I группа – пациенты, страдающие сахарным диабетом II типа и пародонтитом различной степени тяжести, 30 человек; II группа – пациенты, страдающие пародонтитом различной степени тяжести без выявленной сопутствующей патологии, 35 человек. Контрольную группу составили практически здоровые добровольцы аналогичного возраста (20 человек). В качестве материала исследования использовались слюна и кровь, полученная из микро-циркуляторного русла (МЦР) десны пациентов. Уровни TNF- α , TNF- β , IL-1 β , IL-10 определяли иммуноферментным методом с применением реактивов «R&D

Diagnostics Inc» (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Расчеты количества цитокинов проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл. Статистическая обработка материала проведена с использованием программы SPSS v16.

Цитокины играют важную роль в патогенезе пародонтита, избыточная продукция которых вызывает подавление нормального процесса репарации фибробластами соединительной ткани [3]. Немаловажную роль в этом процессе играет фактор некроза опухолей (TNF). В нашем исследовании было установлено достоверное увеличение локальных уровней TNF- α . В слюне: $18,87 \pm 0,6$ пг/мл (1 группа), $25,68 \pm 2,41$ пг/мл (2 группа), против $2,82 \pm 1,5$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$. В крови, полученной из МЦР десны, определялось более значимое повышение уровней TNF- α : $73,5 \pm 0,18$ пг/мл (1 группа), $98,75 \pm 0,5$ пг/мл (2 группа), против $8,15 \pm 0,3$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$. У пациентов с пародонтитом без сопутствующей патологии выявлено более выраженное локальное повышение показателя TNF- α (в крови, полученной из МЦР десны $p < 0,01$; в слюне $p < 0,05$). Полученные данные согласуются с мнением Д.В. Шмидта с соавт. (2008), которые в своих исследованиях также

отмечали локальное повышение TNF- α у больных с пародонтитом [4]. Считается, что высокий локальный уровень TNF- α оказывает деструктивное воздействие на ткани пародонта путём высвобождения агрессивных биологических веществ и активации процессов перекисного окисления липидов [5]. Меньшая степень локального увеличения концентрации TNF- α , вероятно, связана с истощением его продукции и с нарушением микроциркуляции при сахарном диабете.

Уровень TNF- β в крови, полученной из МЦР десны в первой группе, был достоверно снижен. Во второй группе, напротив, выявлено увеличение показателя в сравнении как с контрольной группой, так и с 1 группой больных ($0,24 \pm 0,5$ пг/мл (1 группа), $2,18 \pm 0,14$ пг/мл (2 группа), против $1,56 \pm 0,2$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$). В слюне установлено снижение TNF- β в обеих исследуемых группах ($5,76 \pm 0,27$ пг/мл (1 группа), $7,16 \pm 0,54$ пг/мл (2 группа), против $9,25 \pm 0,13$ пг/мл в контроле). Достоверных отличий между группами пациентов установлено не было.

IL-1 индуцирует выработку коллагена фибробластами, задерживает образование коллагена и кости с помощью стимуляции костной резорбции. Имеются данные, что IL-1 β имеет способность повышать сосудистую проницаемость и повышать прокоагулянтную активность, особенно в присутствии высокого количества TNF- α [6]. Содержание IL-1 β в 1 и 2 группах больных превышало контрольные значения (в слюне: $240,1 \pm 1,3$ пг/мл (1 группа), $93,08 \pm 1,9$ пг/мл (2 группа), против $76,2 \pm 0,3$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$; в крови, полученной из МЦР десны: $20,02 \pm 0,5$ пг/мл (1 группа), $28,21 \pm 1,2$ пг/мл (2 группа), против $5,27 \pm 1,7$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$). При этом, в слюне у пациентов, страдающих пародонтитом на фоне сахарного диабета определено его увеличение в 2,5 раза в отличие от группы пациентов без сопутствующей патологии. Другие авторы также отмечали увеличение уровня IL-1 β в десневой жидкости у пациентов с хроническим пародонтитом лёгкой степени тяжести [7]. По-видимому, это объясняется тем, что в результате взаимодействия рецепторов углеводов и коллагена, не прошедших полный цикл ферментативных превращений, а также вследствие многоступенчатых реакций в моноцитах вырабатывается большое количество IL-1 β , обладающего остеолитическим и протеолитическим действием,

что ведёт к воспалительным и деструктивным процессам в Kanichiro с соавт. (2012) полагают, что увеличение уровней IL-1, TNF- α вызывают процессы, разрушающие пародонт посредством активации остеокластов. Это доказано в опытах *in vitro*, где было выявлено, что IL-1, TNF- α стимулируют остеокластогенез [12].

Противовоспалительный цитокин IL – 10 играет большую роль в регуляции резорбции альвеолярной костной ткани, с помощью подавления продукции IL-1. Анализ уровней IL – 10 позволил установить его увеличение в крови, полученной из МЦР десны у больных с пародонтитом на фоне сахарного диабета в 8 раз, в сравнении с контрольными значениями ($122,4 \pm 0,85$ пг/мл против $15,38 \pm 0,06$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$). В слюне также определено достоверное увеличение IL – 10 у 1 группы больных ($58,5 \pm 0,2$ пг/мл против $14,5 \pm 1,5$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$). У пациентов с пародонтитом без сопутствующей патологии в крови, полученной из МЦР десны, достоверных отличий с контрольной группой установлено не было, тогда как в слюне концентрация IL – 10 у этих пациентов превышала контрольные значения ($26,6 \pm 0,3$ пг/мл против $14,5 \pm 1,5$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$). У пациентов 1 группы выявлено достоверное увеличение концентрации IL – 10 в сравнении со второй группой больных. В литературе имеются разноречивые мнения. Одни авторы считают, что развитию хронической инфекции способствует повышенная продукция IL-10 [13], другие исследования не выявляли достоверных отличий между уровнями IL-10 у здоровых субъектов и лиц с пародонтитом [4].

Таким образом, у больных с пародонтитом, без сопутствующей патологии зарегистрировано увеличение локальных уровней цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL – 10 и увеличение TNF- β в крови, полученной из МЦР десны. Уменьшение содержания TNF- β в слюне в сравнении с контрольной группой. В 1 группе больных определено увеличение TNF- α , IL-1 β , IL – 10, а также уменьшение локальных уровней TNF- β . Причем у пациентов с пародонтитом на фоне сахарного диабета II типа установлено более выраженное изменение локальных уровней IL – 10 и IL-1 β в слюне. Это может быть связано с проявлением дисрегуляции иммунной реактивности и неспецифической защиты организма у больных сахарным диабетом II типа, что способствует более выраженному про-

грессированию хронического воспаления пародонта.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Худякова А.С., Таилов Т.Т., Петрова А.П. Изменения в тканях пародонта у пациентов с сахарным диабетом//Бюллетень медицинских Интернет-конференций (ISSN 2224-6150).- 2015.-Том 5.- № 4.-С. 245-246.
2. Зырянов Б.Н. Стоматологические маркеры поражения полости рта при сахарном диабете 2 типа у лиц среднего возраста//Молодой ученый. -2014.-№3.-С.178-181.
3. Кулаков А.А., Зорина О.А., Борискина Щ.А. Роль защитных факторов организма в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта//Стоматология.-2010.-№6.-С.72-77.
4. Шмидт Д.В., Шмагель К.В., Мозговая Л.А., Беляева О.В. Состояние местного иммунитета у больных с хроническим генерализованным пародонтизом// Стоматология.-2008.-№4.- С. 33-38.
5. Taylor J.J., Preshaw P.M., Lalla E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes//J Clin Periodontol.- 2013 Apr-Vol. 40 (14) -P.113.
6. Yun L.W., Decarlo A.A. Enhancement of Th2 pathways and direct activation of B cells by the gingipains of *Porphyromonas gingivalis*. Clin Exp Immunol.-2012.-134.-P.295-302.
7. Патрушева М.С., Михальченко В.Ф., Яковлева А.Т. Оценка цитокинового профиля и активности ферментов десневой жидкости у жителей г. Волгограда с интактным пародонтом и при пародонтите легкой степени тяжести//«Живые и биокосные системы».-2013.-№4.
8. Aggarwal A., Panat S.R. Oral health behavior and HbA1c in Indian adults with type 2 diabetes// Journal of Oral Science.-2012.-№4.- P. 293-301.
9. Deshpande K., Jain A., Sharma R., Prasha S. et al. Diabetes and periodontitis// J Indian Soc Periodontol.-2010.-№14 (4).- P. 207-212.
10. Даурова Ф.Ю., Лянова Д.К., Дроздова Г.А., Тарасова Т.В. Влияние противовоспалительной терапии на цитокиновый профиль больных пародонтизом на фоне сахарного диабета//Российский стоматологический журнал.- 2013.-№2.-С.12-13.
11. Дуда К.М., Клищ И.М., Марущак М.И. Уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс при остром пародонтите на фоне сахарного диабета 2 типа//Ж. Вестник проблем биологии и медицины.-2013.- №4.-С. 318-321.
12. Kanichiro, K. Tumor Necrosis Factor a Stimulates Osteoclast Differentiation* by a Mechanism Independent of the ODF / RANKL-RANK interaction/ K. Kanichiro, T. Naoyuki // J. Exp. Med.- 2010.- Vol: 191, N2.- P.175-185.
13. Доржиева З.В., Спасова О.О. Роль цитокинов в регуляции воспаления тканей пародонта у больных с сахарным диабетом 2-го типа//Российский стоматологический журнал.- 2008.-№6. -С.28-29.

АНАЛИЗ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА, ПОДВЕРГШИХСЯ ЧРЕСКОЖНЫМ КОРОНАРНЫМ ВМЕШАТЕЛЬСТВАМ

Грачев Н. И., Маркелова Е. В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток.

ANALYSIS OF INTERLEUKIN-6 IN PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION UNDERGOING PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION

Grachev N. I., Markelova E. V.

Pacific State Medical University, Vladivostok.

Среди заболеваний системы кровообращения, являющихся причиной смерти, основным остаётся ишемическая болезнь сердца (ИБС), в том числе острый инфаркт миокарда (ОИМ) [4]. Согласно данным зарубежных исследований, ишемическая болезнь сердца стала причиной смерти 7 249 000 человек на момент 2008

года, из них 659 000 в Российской Федерации [3, 8]. Согласно данным Федеральной службы государственной статистики, количество сердечно-сосудистых заболеваний увеличилось с 2000 года по 2012 с 2483 на 3814 человек на 100 тыс. населения. На протяжении 25 лет общий показатель заболеваемости инфарктом миокарда соста-

вил около трёх случаев на тысячу человек, при этом отметилась тенденция роста заболеваемости [1]. В связи с этим в современной литературе всё больше внимания уделяется изучению гуморальных факторов врожденного иммунитета, как прогностических маркеров у данной категории больных. Иммунопатогенез ИБС тесно связан с развитием неблагоприятных явлений. Особую роль в этом играют провосполительные цитокины, ярким представителем которых является интерлейкин-6 (ИЛ-6).

Изучение концентрации ИЛ-6 в плазме и влияние этого фактора на смертность даёт противоречивые результаты. В частности, исследование «The Woman's Health and Aging study» показало среди женщин с наличием коронарных заболеваний, что у тех, у кого была высокая концентрация ИЛ-6, вероятность развития летального исхода была в четыре раза выше [9]. Часть исследований показывало, что прогностическую ценность имеют С-реактивный белок и ФНО- α , а ИЛ-6 не ассоциирован с летальным исходом [6]. Другие исследования показывают, что повышенная концентрация ИЛ-6 в плазме помогает оценить риск отдалённой смертности у пациентов с инфарктом миокарда [7]. В проспективном исследовании J. Tan et al. (2009), которое включало в себя 263 пациента, изучались концентрации ИЛ-6 у пациентов с острым коронарным синдромом [11]. По его результатам был сделан вывод, что ИЛ-6 является независимым предиктором смертности у данной когорты пациентов. В другом проспективном исследовании D. Su et al. (2013), в котором приняло участие 718 пациентов, изучалась связь между концентрацией ИЛ-6 в плазме и риском летального исхода при коронарных заболеваниях. Было выяснено, что концентрация ИЛ-6 в плазме была ассоциирована со всеми случаями сердечно-сосудистой смерти, что соотносится с результатами предыдущей работы [10]. Рядом авторов рекомендуется использовать в клинической практике повышенный уровень ИЛ-6, как маркер крупноочагового инфаркта миокарда, в независимости от наличия или отсутствия осложнений [2]. Несмотря на приведённые выше данные, есть иные результаты, например, некоторые авторы указывают на недостоверность различия уровня ИЛ-6 у больных ОИМ и здоровых людей [5]. Таким обра-

зом, необходимо проведение дальнейших исследований для оценки прогностической ценности определения концентрации ИЛ-6 у пациентов с инфарктом миокарда.

Цель исследования: Оценить сывороточный уровень ИЛ-6 у пациентов с острым инфарктом миокарда до и после первичного чрескожного коронарного вмешательства.

Материалы и методы исследования: В исследование вошли 73 пациента обоего пола от 45 до 74 лет с острым инфарктом миокарда, подвергшиеся стентированию коронарных артерий. Группы пациентов формировали по развитию ранних (гемодинамически значимые нарушения ритма, нестабильность гемодинамики, тромбоз стента, смерть) или отдалённых (рестеноз стента, повторные реваскуляризации на целевом сосуде) послеоперационных неблагоприятных событий. Контролем служили сыворотка крови 30 практически здоровых лиц. Забор крови производился до вмешательства, на 1-е и 7-е сутки после операции. Определение ИЛ-6 в сыворотке крови производили методом твердофазного ИФА с использованием реактивов «R&D Diagnostics Inc.», USA. Для математической обработки полученных данных использовали программу StatPlus 2009 и непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Статистически достоверным считали различия при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты: Нами выявлены достоверно высокие значения ИЛ-6 в сыворотке крови у пациентов с ОИМ (3,43 (1,79-6,65) пкг/мл) по сравнению с контрольной группой здоровых лиц (1,5 (0,77-1,94) пкг/мл) ($p \leq 0,05$). Это, вероятно, указывает на повышенную экспрессию данного цитокина при атеросклеротическом поражении сосудистого русла и ишемическом повреждении миокарда. Изучение ИЛ-6 в зависимости от развития послеоперационных неблагоприятных событий не выявило статистически значимых различий в группах, однако наблюдалась тенденция в сторону увеличения концентрации данного цитокина у пациентов с более лучшим прогнозом (3,48 (1,56-6,0) против 2,84 (1,72-6,45) пкг/мл). Анализ уровня ИЛ-6 в сыворотке крови больных ОИМ выявил резкое его увеличение более чем в 2 раза на 1-е сутки после операции (7,36 (4,65-20,96) пкг/мл) по сравнению с исходной концентрацией

(2,84 (1,68-6,31) пкг/мл) ($p \leq 0,01$). Далее к 7 суткам послеоперационного периода наблюдалось снижение значений ИЛ-6 (4,15 (3,52-6,08) пкг/мл) по сравнению его уровнем на 1-е сутки (7,36 (4,65-20,96) пкг/мл) ($p < 0,05$). Эти изменения, по всей видимости, связаны с имплантацией стента, повреждением эндотелия и усилением воспалительной реакции в интиме артерий.

Выводы: Таким образом, ИЛ-6 может рассматриваться, как дополнительный маркер острого повреждения миокарда, наряду с общепринятыми биохимическими показателями. Имплантация стента в коронарную артерию сопровождается усилением воспалительной реакции в эндотелии, повышая сывороточный уровень ИЛ-6. Изучение ИЛ-6 в комплексе с другими цитокинами, показателями межклеточного матрикса, а также с общеклиническими данными, вероятно, сможет позволить более точно прогнозировать неблагоприятные события в отдалённом послеоперационном периоде больных с ОИМ, чтобы заблаговременно проводить коррекцию влияния данных факторов риска.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гарганеева А.А., Округин С.А., Зяблов Ю.И. Программа ВОЗ «Регистр острого инфаркта миокарда»: 25-летнее эпидемиологическое изучение инфаркта миокарда в среднеурбанизованном городе западной Сибири // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Т. 25. №2, выпуск. 1
2. Зорина В.Н. Реактанты острой фазы воспаления и провоспалительные цитокины при различных осложнениях инфаркта миокарда / В.Н. Зорина, К.П. Белоконева, Н.А. Бичан и др. // Клиническая лабораторная диагностика. -2012. -№ 1. -С. 28-30.
3. Оганов Р.Г. Эпидемиология и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний в России / Р. Г. Оганов, Г. Я. Масленникова // Сердечнососудистая патология. Современное состояние проблемы : сб. тр. к 80-летию акад. Е. И. Чазова. М., 2009. - С. 174-183.
4. Шальнова С.А., Конради А.О., Карпов Ю.А., Концевая А.В., Деев А.Д., Капустина А.В., Худяков М.Б., Шляхто Е.В., Бойцов С.А. Анализ смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 12 регионах Российской Федерации, участвующих в исследовании «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России»//Российский кардиологический журнал.-2012.-№ 5 (97).-С. 6-11.
5. Шевченко А.О. Новые лабораторные маркёры ангиогенеза и повреждения атеросклероти-

ческой бляшки: лекция / А. О. Шевченко // Клини. лаб. диагностика. — 2006. — № 6. — С. 23-34.

6. Arai Y., Takayama M., Gondo Y., Inagaki H., Yamamura K., Nakazawa S., Kojima T., Ebihara Y., Shimizu K., Masui Y., Kitagawa K., Takebayashi T., Hirose N. Adipose endocrine function, insulin-like growth factor-1 axis, and exceptional survival beyond 100 years of age // J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2008. T. 63. № 11. — С. 1209-18.
7. Fan Z. X., Hua Q., Li Y. P., Liu R. K., Yang Z. Interleukin-6, but not soluble adhesion molecules, predicts a subsequent mortality from cardiovascular disease in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction // Cell Biochem Biophys. 2011. T. 61. № 2. — С. 443-8.
8. Finegold J. A., Asaria P., Francis D. P. Mortality from ischaemic heart disease by country, region, and age: statistics from World Health Organisation and United Nations // Int J Cardiol. 2013. T. 168. № 2. — С. 934-45.
9. Palta P, Xue Q., Deal J., Fried L.P., Walston J.D., Carlson M.C. Interleukin-6 and C-Reactive Protein Levels and 9-Year Cognitive Decline in Community-Dwelling Older Women: The Women's Health and Aging Study II // J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2015 Jul; 70(7): 873–878.
10. Su D., Li Z., Li X., Chen Y., Zhang Y., Ding D., Deng X., Xia M., Qiu J., Ling W. Association between serum interleukin-6 concentration and mortality in patients with coronary artery disease // Mediators Inflamm. 2013. T. 2013. — С. 726178.
11. Tan J., Hua Q., Li J., Fan Z. Prognostic value of interleukin-6 during a 3-year follow-up in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction // Heart Vessels. 2009. T. 24. № 5. — С. 329-34.

МИАЛГИЧЕСКИЙ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТ / СИНДРОМ ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ: УРОВЕНЬ РЕПЛИКАЦИИ ЛИМФОТРОПНЫХ ГЕРПЕТИЧЕСКИХ ВИРУСОВ

Дидковский¹ Н.А., Огурцов¹ Д.П., Крынский^{1,2} С.А., Гурская¹ О.Г., Шипулина³ О.Ю., Домонова³ Э.А., Сильвейстрова³ О.Ю., Компанец¹ И.А., Малашенкова^{1,2} И.К.

¹ ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, г. Москва;

² НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва;

³ ФБУН «Центральный НИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва.

MYALGIC ENCEPHALOMYELITIS/CHRONIC FATIGUE SYNDROME: REPLICATION LEVELS OF LYMPHOTROPIC HERPESVIRUSES

Didkovsky¹ N.A., Ogurtsov¹ D.P., Krynskiy^{1,2} S.A., Gurskaya¹ O.G., Shipulina³ O.Y., Domonova³ E.A., Sylvestrova³ O.Y., Kompaneets¹ I.A., Malashenkova^{1,2} I.K.

¹ FSBIS FSCC of physical-chemical medicine, Moscow, Russia;

² National Research Center “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia;

³ Central Research Institute for Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia.

В настоящее время вместо термина «синдром хронической усталости» согласно International Consensus Criteria 2011 года [1] более употребительным является термин «Миалгический энцефаломиелит/Синдром хронической усталости» (МЭ/СХУ). ВОЗ рассматривает МЭ/СХУ как неврологическое расстройство, сопряжённое с дисфункцией иммунной системы. Основным проявлением МЭ/СХУ является немотивированная выраженная общая слабость, на длительное время лишаящая больного активного участия в повседневной жизни. Кроме общей слабости и повышенной утомляемости, больные часто жалуются на головную боль, артралгии, миалгии, ухудшение памяти, депрессию, расстройства сна, а в ряде случаев также на субфебрильную температуру, болезненные ощущения в горле, увеличение шейных лимфатических узлов [2]. Этиология МЭ/СХУ до настоящего времени остаётся окончательно неустановленной. Ранее мы сообщали о возможном участии в развитии данного заболевания вируса Эпштейна-Барр [3], что согласуется с данными ряда авторов. В литературе имеются единичные сообщения о выявлении ВГЧ-7 у пациентов с МЭ/СХУ [4,5,6]. До настоящего времени эффективные методы лечения

больных МЭ/СХУ не разработаны, что свидетельствует о недостаточном понимании патогенеза заболевания.

Цель исследования: изучить частоту и степень репликации лимфотропных герпесвирусов (вирус герпеса человека 7-ого типа ВГЧ-7, вирус Эпштейна-Барр ВЭБ, вирус герпеса человека 6-ого типа ВГЧ-6) у больных МЭ/СХУ.

Исследованы образцы слюны и периферической крови 35 больных МЭ/СХУ (основная группа) – 16 мужчин и 19 женщин (средний возраст $34,5 \pm 5,1$ лет), 24 пациентов с наличием признаков вторичного иммунодефицита (ВИД) без симптомов МЭ/СХУ (группа сравнения) – 10 мужчин и 14 женщин (средний возраст $36,2 \pm 5,8$ лет) и 24 условно здоровых добровольца (группа контроля) – 9 мужчин и 15 женщин (средний возраст $32,0 \pm 5,2$ года). Диагноз МЭ/СХУ ставился на основании критериев CDC (Center Disease Control) и международных консенсусных критериев миалгического энцефаломиелита 2011 года [1]. Количественное определение ДНК в образцах слюны и периферической крови проводили методом ПЦР при помощи наборов реагентов «АмплиСенс» (разработаны в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) в соответствии с

инструкцией производителя.

Статистическая обработка результатов была проведена при помощи пакета программ Microsoft Office Excel (Microsoft, 2007). Все численные данные представлены как $M \pm m$. Достоверность различий количественных показателей между группами определялась посредством U-критерия Манна–Уитни и критерия согласия Пирсона (χ^2). Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

При исследовании образцов слюны во всех группах практически во всех случаях была обнаружена ДНК исследованных герпесвирусов, либо одного, либо двух или трёх типов. Частоты обнаружения ВГЧ-7 в исследованных группах практически не различались (95%; 91% и 92% соответственно). Однако частота обнаружения ДНК одного только ВГЧ-7 в группе больных МЭ/СХУ была достоверно ниже по сравнению с пациентами группы сравнения и с контрольной группой (6%; 46% и 63% соответственно; $p < 0,005$). В то же время, частота обнаружения ДНК одновременно всех трёх исследованных вирусов, – ВГЧ-7, ВГЧ-6 и ВЭБ, была достоверно выше у больных МЭ/СХУ, чем в группе сравнения и группе контроля (29%, 4% и 4% соответственно; $p < 0,025$). Следует также отметить, что в группе больных МЭ/СХУ ВГЧ-7 чаще встречался в сочетании с ВЭБ, нежели в двух других группах (29%, 8% и 4% соответственно; $p < 0,025$), в то время как частоты одновременного обнаружения ДНК ВГЧ-7 и ВГЧ-6 практически не различались.

В группе больных МЭ/СХУ по сравнению с группой сравнения и с контролем была достоверно выше частота выявления ДНК ВЭБ (60%, 16% и 8% соответственно, $p < 0,005$). Также в группе больных МЭ/СХУ по сравнению с группой сравнения отмечалась тенденция к более частому выявлению ДНК ВГЧ-6 (63% и 46% соответственно; $p > 0,05$), при этом различие в частоте выявления ДНК ВГЧ-6 между основной группой и контролем было статистически достоверным (63% и 29% соответственно; $p < 0,025$).

Уровень репликации ВЭБ в основной группе также был достоверно выше, чем в группе сравнения (126129 ± 38446 копии/мл и 4746 ± 3422 копии/мл, $p < 0,01$) и в контроле (126129 ± 38446 копии/мл и 63 ± 56 копии/мл, $p < 0,01$). Уровень репликации ВГЧ-6 у больных МЭ/СХУ имел тенденцию к повышению по сравнению с группой сравнения (1731 ± 465 копии/мл и 942 ± 476 ко-

пии/мл соответственно, $p > 0,05$) и был достоверно выше показателя контрольной группы (1731 ± 465 копии/мл и 496 ± 319 копии/мл соответственно, $p < 0,01$).

Таким образом, результаты свидетельствуют о достоверно более частом выявлении ДНК лимфотропных герпесвирусов (ВГЧ-7, ВЭБ и ВГЧ-6) в крови и слюне пациентов МЭ/СХУ и о более высоком уровне их репликации по сравнению с пациентами с наличием ВИД. Это может быть обусловлено выявленным ранее нами и другими исследователями у пациентов с МЭ/СХУ снижением ряда показателей противовирусного иммунитета [7, 8]. Полученные данные свидетельствуют о важности включения противовирусной и иммуномодулирующей терапии (валтрекс или другие анормальные нуклеотиды, циклоферон или другие индукторы интерферона, препараты альфа и гамма интерферонов) в стандарты ведения пациентов с МЭ/СХУ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Carruthers B.M. et al. Myalgic encephalomyelitis: International Consensus Criteria. *Journal of International Medicine*, *Journal of Internal Medicine*, Volume 270, Issue 4, pages 327–338.
2. Дидковский Н.А., Малашенкова И.К. Синдром хронической усталости. *Русский медицинский журнал*. 1997.-Т.5, N 12.-С.756-762.
3. Малашенкова И.К., Дидковский Н.А., Говорун В.М. и соавт. К вопросу о роли вируса Эпштейна-Барр в развитии синдрома хронической усталости и иммунной дисфункции. *International Journal of Immunorehabilitation* vol. 2, №1, 2000, p. 102-112
4. Малашенкова И.К., Гурская О.Г., Зуйков И.А. и соавт. О роли вируса герпеса человека 7 типа в патогенезе синдрома хронической усталости // *Российский аллергологический журнал*. -2012, №5, Вып.1, С. 193-195.
5. Kondo K et al. Chronic fatigue syndrome and herpesvirus reactivation// *Nippon Rinsho*. 2007, Yun 65 (6), p. 1043 -1048.
6. Chapenko S. et al. Association of Active Human Herpesvirus-6, -7 and Parvovirus B19 Infection with Clinical Outcomes in Patients with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. *Adv Virol*. 2012;2012:205085.doi: 10.1155/2012/205085. Epub 2012 Aug 13.
7. Малашенкова И.К., Гурская О.Г., Праслова Е.И., Зуйков И.А., Дидковский Н.А. Уровень ряда провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у больных синдромом хронической усталости и иммунной дисфункции, ассоциированным с герпес-вирусной инфекцией // *Российский аллергологический журнал*. - 2011.- №4, вып. 1.- С. 214-216.
8. Brenu E.W., Huth T.K., Hardcastle S.L., Fuller K., Kaur M., Johnston S., Ramos S.B., Staines D.R., Marshall-Gradisnik S.M. Role of adaptive and innate immune cells in chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis. *Int Immunol*. 2014, 26(4):233-42.

ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЯ СОПОЛИМЕРА N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА И 2-МЕТИЛ-5-ВИНИЛПИРИДИНА ПРИ ВИРУСНОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ КРОЛИКОВ

Еремин Д.В.^{1,2}, Панов А.В.^{1,2}, Кочкина Ю.В.^{1,2}, Селянинов Ю.О.³, Зубаиров М.М.³, Кедик С.А.^{1,2}

¹ Московский технологический университет, г. Москва.

² ЗАО «Институт фармацевтических технологий», г. Москва.

³ ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии, 601125, Владимирская область, пос. Вольгинский.

IMMUNOSTIMULATORY ACTIVITY OF COPOLYMER N-VINYLPYRROLIDONE AND N-2-METHYL- 5-VINYLPYRIDINE AGAINST THE RABBIT VIRAL HEMORRHAGIC

Eremin D.V.^{1,2}, Panov A.V.^{1,2}, Kochkina Ju.V.^{1,2}, Selyaninov Y.O.³, Zubairov M.M.³, Kedik S.A.^{1,2}

¹ Moscow Technological University, Moscow.

² ZAO «Institute of pharmaceutical technologies», Moscow.

³ State Science Institution National Research Institute of Veterinary Virology and Microbiology of Russian Academy of Agricultural Sciences

Вспышки вирусной геморрагической болезни кроликов (ВГБК) регулярно регистрируются по всему миру [1]. Эпизоотология ВГБК характеризуется высокой контагиозностью и 80-100% летальностью, при этом болезнь в основном протекает в острой и сверхострой форме, без проявления клинических признаков до начала агонального периода [2]. Трудности в диагностике данного заболевания и отсутствие препаратов, способных эффективно бороться с возбудителем у заражённого животного, делают вопросы профилактики ВГБК особенно актуальными для животноводства.

Основными методами предупреждения распространения ВГБК является массовая вакцинация животных [3,4]. Однако известные к настоящему времени вакцины не позволяют сохранить 100% популяции животных в случае вспышки инфекции на животноводческом предприятии. Кроме того, эффективность существующих вакцин снижается вследствие изменения популяционной структуры вируса, что обуславливает необходимость поиска новых вакцин и способов повышения их активности.

В ходе проведённых исследований была изучена возможность повышения эффективности инактивированной вакцины путём комбинированного введения её с сополимером N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина, иммуноадьювантное действие которого показано ранее [5,6,7], определены оптимальные дозы сополимера и вакцины для формирования надёжного иммунитета у животных против вирусной геморрагической болезни кроликов.

Материалы и методы исследований Для приведения исследований использовали: сухую инактивированную вакцину против вирусной геморрагической болезни кроликов (ВГБК), производства ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии; сополимер N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина, полученный радикальной сополимеризацией при поддержании постоянства мономерного состава реакционной массы и очищенный методом ультрафильтрации [7,8,9]. В качестве основного объекта исследования был выбран водорастворимый образец сополимера [10] с содержанием звеньев 2-метил-5-винилпиридина 35 мол.% и средневязкозиметрической

молекулярной массой 27 кДа; Вирулентный вирус ГБК штамм «В-87», инфекционная активность не менее $10^{3,0}$ ЛД₅₀/см³ или активность в РГА 1/256 и выше.

В качестве подопытных животных использовались кролики породы «шиншилла» массой $3,0 \pm 0,5$ кг в количестве 28 голов. Предварительно у 10% кроликов брали кровь и сыворотку для определения реакции задержки гемагглютинации (РЗА) на наличие антител к возбудителю ВГБК.

Для оценки влияния сополимера на сроки формирования защиты (иммунитета) при заражении вирусной геморрагической болезнью кроликов содержимое 10 ампул (флаконов) с вакциной растворяли в стерильной дистиллированной воде или физиологическом растворе в количестве, равном количеству до лиофилизации. Готовили 6 групп кроликов по 4 головы в каждой и 4 головы использовали для контроля вирулентности вируса. Препарат и вакцину вводили однократно внутримышечно в область внутренней стороны бедра кролика в объеме 0,5 см³. Схема введения для 1 и 2 группы кроликов включала только вакцину в разведении 1:50 и 1:100 соответственно. Разведённая 1:50 вакцина для 3 и 4 группы кроликов содержала 50 и 150 мкг/кг сополимера соответственно. Препарат, вводимый 5 и 6 группе кроликов, содержал 50 и 150 мкг/кг сополимера соответственно при разведении вакцины 1:100. Контрольную группу из 4 кроликов оставляли не привитыми и содержали отдельно.

На 7, 14 и 21 сутки у кроликов 1 – 6 групп брали пробы крови и в сыворотках определяли наличие специфических к вирусу ВГБК антител в РЗА.

Через 21 день после иммунизации животных всех групп заражали внутримышечно в область внутренней поверхности бедра по 1,0 см³ вирулентным вирусом ГБК в дозе 1000 ЛД₅₀.

Для постановки реакции гемагглютинации (РГА) готовили общую пробу на физиологическом растворе и делали двукратные разведения вакцины от 1:2 до 1:4096. С этой целью во все лунки планшета одного ряда разливали физиологический раствор по 0,05 см³. В первую лунку планшета вносили равный объём вируса, трехкратно пипетировали и переносили 0,05 см³ во вторую лунку и т.д. Из последней лунки удаляли 0,05 см³ и обезвреживали в 2%-ном растворе ед-

кого натрия.

После разведения вируса во все лунки вносили 1% взвесь эритроцитов в объёме, равном исходному объёму физиологического раствора 0,05 см³. Планшеты встряхивали и оставляли при комнатной температуре 18-20°C. Учёт реакции проводят через 60-90 мин. Контролем эритроцитов на спонтанную гемагглютинацию служили две лунки с эритроцитами и физиологическим раствором (в равных объёмах). РГА оценивали положительно при оседании эритроцитов в виде хорошо выраженного «зонтика», а отрицательно – в виде «пуговки». За титр вируса принимают его наибольшее разведение, дающее четко выраженную агглютинацию в виде «зонтика».

Реакцию задержки гемагглютинации проводили в ряду лунок (по 10-12 лунок в ряду), внося по 0,025 см³ физиологического раствора, затем добавляя в первые лунки по 0,025 см³ испытуемые и контрольные (положительная и отрицательная) сыворотки, предварительно разведенные 1:2 и прогретые для инактивации термолабильных ингибиторов, и готовили их двукратные разведения, начиная с 1:4 до 1:9192. После этого вносили специфический антиген в рабочем разведении, содержащем 4 ГАЕ.

Одновременно ставили следующие контроли:

- контроль рабочего разведения специфического антигена на физиологическом растворе;
- контроль сывороток на наличие неспецифических гемагглютининов (в разведении от 1:4 до 1:256) на физиологическом растворе.

Пластины выдерживали в течение 1 часа при комнатной температуре или при 37°C, после чего вносили по 0,05 см³ 1,0%-ной взвеси эритроцитов человека группы 0 (I) и ставили контроль на спонтанную агглютинацию эритроцитов (0,05 см³ физиологического раствора + 0,05 см³ эритроцитов). После 50-60 минут инкубации при комнатной температуре проводили учет результатов.

В контролях эритроцитов на спонтанную агглютинацию и контролях сывороток на наличие неспецифических гемагглютининов эритроциты должны оседать в виде точки или компактного кольца. В контроле рабочего разведения антигена агглютинация эритроцитов должна быть в виде «зонтика» в первых четырёх лунках.

Титром антител в сыворотках крови считали

наивысшее её разведение, которое даёт полную задержку гематглютинации.

Результаты исследований Проведённые опыты *in vivo* показали, что использование комбинации сополимера N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина с инаktivированной вакциной против вирусной геморрагической болезни кроликов существенно активировало иммунитет в сравнении с консервативным использованием вакцин. Как было показано ранее, что сополимер стимулирует как гуморальное, так и клеточное звено в организме, за счёт активации выработки интерлейкина-1α и интерлейкина-1β, а также выброса в периферическую кровь клеточных элементов кроветворения [7,11].

Так в 1 и 2 группе животных, вакцинированных без сополимера, уровень вируснейтрализующих антител составлял 1:4 в реакции задержки гематглютинации на 14 сутки и практически отсутствовал спустя три недели, что совпадало со значениями контрольной группы. Использование комбинации вакцины в разведении 1:50 с иммуностимулирующим препаратом повысило уровень антител до 1:16 даже на 21 сутки. При этом проверка активности иммунитета путём контрольного заражения кроликов вирулентным вирусом в дозе 1000 ЛД 50 на 21 сутки после вакцинации с сополимером в дозе 150 мкг/кг показала 100% выживаемость животных опытной 4 группы, по сравнению с 80-100% гибелью в остальных. Использование сополимера совместно с вакциной в большем разведении также позволило поднять уровень вируснейтрализующих антител до 1:4 на 21 сутки у 50% особей в 5 и 6 группах.

Таким образом, используя различные комбинации сополимера N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина с инаktivированной вакциной против вирусной геморрагической болезни кроликов, было показано, что активация иммунитета у кроликов была достигнута однократным введением вакцины в разведении 1:50 с сополимером в дозе 150 мкг/кг и предохраняла от гибели 100 % животных опытной группы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Шевченко А.А. и др./ Вирусная геморрагическая болезнь кроликов // Ветеринария Кубани. 2014., № 5., С.11–17.

2. Новикова М.Б. и др. /Проблемы диагностики геморрагическая болезнь кроликов// Ветеринария Кубани. 2013. № 1. С.19–20.

3. Моргунов С.Ю., Луницын А.В., Моргунов Ю.П./ Некоторые особенности практического применения вакцинных препаратов против вирусной болезни кроликов// Кролиководство и звероводство. 2012. №3, С 29-30

4. Голубцов А.В., Кузьмин Г.Н., Лопатина В.Т., Лопатина Н.А. Иммуностимулятор «Миксоферон» в комплексе специфической профилактики вирусной геморрагической болезни кроликов// Ветеринарная патология. 2003. №1, С 109-111

5. Кедик С.А., Еремин Д.В., Панов А.В., Сакаева И.В., Кочкина (Черта) Ю.В., Суслов В.В./ Синтез, физико-химические свойства и биологическая активность физиологически активных сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина 1.СИНТЕЗ И МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ // Химико-фармацевтический журнал. 2012. Том 46, № 8, С 110-113

6. Кедик С.А., , Панов А.В., Сакаева И.В., Еремин Д.В., Кочкина (Черта) Ю.В., Суслов В.В., Зайцев М.А./ Синтез, физико-химические свойства и биологическая активность физиологически активных сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина. 2. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ // Химико-фармацевтический журнал 2014.Том 47 №10 С 569-571

7. Патент РФ №2430932 (2010)

8. Патент на полезную модель РФ №110743 (2011)

9. Патент на полезную модель РФ №110744 (2011)

10 Кедик С.А., , Панов А.В., Суслов В.В., Еремин Д.В., Кочкина (Черта) Ю.В., Малиновская Г.О./ Влияние различных факторов на растворимость сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина в воде // Химико-фармацевтический журнал 2013.Том 47 №2 С 99-101

11. Панов А.В., Измestьева О.С., Селиванова Е.И. и др., / Гемопoэтические показатели при остром облучении мышей, подвергнутых терапии сополимером N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилпиридина // Радиация и риск, Том 25 №1, 65-75 (2016).

МЕТАБОЛИЗМ МОНОЦИТОВ И ЕГО СВЯЗЬ С ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЦИТОКИНАМИ ПРИ ДИСКОИДНОЙ И СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

Ерыгина Е.Н., Романова Н.В., Романов В.А.
ФГБОУ ВО «ЯГМУ» Минздрава РФ, Ярославль
Государственный медицинский университет, Ярославль

METABOLISM OF MONOCYTES AND ITS RELATIONSHIP WITH PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN DISCOID AND SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Erygina E.N., Romanova N.V., Romanov V.A.
State Medical University, Yaroslavl

Актуальность. Данные литературы относительно участия моноцитов в иммунопатогенезе красной волчанки, в частности, по вопросу значимости метаболических функций моноцитов и их связи с цитокинами при кожных и системных формах заболевания весьма немногочисленны [3]. Исследования в этом направлении представляют интерес как с научной точки зрения с целью уточнения механизмов развития различных форм красной волчанки, так и в практическом отношении в плане дифференциации кожных форм этого заболевания, в частности, дискоидной красной волчанки (ДКВ) и её системной форме – системной красной волчанки (СКВ).

Цель работы – изучение кислородзависимых и кислороднезависимых функций моноцитов (Мн), а также их связей с провоспалительными цитокинами у больных ДКВ и СКВ.

Используемые методы. Обследован 121 человек в возрасте от 20 до 60 лет (54 больных СКВ, 34 – ДКВ, 33 здоровых лиц). В Мн исследовали кислородзависимые функции – спонтанную и индуцированную хемилюминесценцию (ХЛ), кислороднезависимый метаболизм – кислую фосфатазу (КФ) и катионные белки (КБ) спектрофотометрическими методами [5] с определением резервных функций клеток, активность лизосом с помощью лизосомального теста (ЛТ) – [2], уровень ДНК микроцитотестом

метрическим методом [4], провоспалительные сывороточные цитокины (IL-1 β , IL-6, TNF- α) иммуноферментным методом. Статистическая обработка данных проведена с помощью программного пакета Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.). Результаты исследований представлены в виде средней $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm SD$); сравнение величин проводилось с помощью t-теста или в тесте Манна-Уитни; для определения взаимосвязи явлений применялся корреляционный анализ; различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$ [1].

Основные результаты. Только при СКВ констатируется увеличение спонтанной продукции активных форм кислорода в сХЛ Мн ($2,1 \pm 1,8 \times 10^4$ имп/мин, а при ДКВ и в контроле – соответственно $1,1 \pm 1,0$ и $0,7 \pm 0,6 \times 10^4$ имп/мин) на фоне уменьшения индуцированной продукции (до $1,3 \pm 1,36 \times 10^4$ имп/мин) со снижением резервных функций Мн ($0,8 \pm 0,8$) по сравнению с данными больных ДКВ ($2,5 \pm 4,8$) и здоровых лиц ($2,5 \pm 1,8$). Установлено достоверное повышение ($p < 0,05$) спонтанной люминозависимой хемилюминесценции моноцитов при антифосфолипидном синдроме и у больных с кожным синдромом.

Уровень ДНК в Мн ($5,56 \pm 2,45$ мВ) у больных СКВ был существенно снижен по сравнению с данными пациентов с ДКВ ($8,36 \pm 1,55$ мВ, $p < 0,05$) и доноров ($8,85 \pm 2,42$ мВ). Содержание ДНК в Мн при

ДКВ не отличалось от показателей группы контроля ($p > 0,05$). С нарастанием активности СКВ отмечено уменьшение содержания ДНК в Мн ($c 5,28 \pm 1,67$ до $4,25 \pm 2,2$ mV, $p < 0,05$). Анализ взаимозависимостей исследованных показателей показал наличие прямой корреляционной связи между содержанием ДНК Мн и ХЛ Мн при СКВ.

Изменений кислороднезависимых функций циркулирующих моноцитов при ДКВ по данным определения уровней КФ ($171 \pm 41,8$ ODx10⁻³) и КБ ($65,3 \pm 20,5$ ODx10⁻³) в сравнении с данными группы контроля (КФ - $173,1 \pm 49,8$ ODx10⁻³, КБ - $61,7 \pm 18,0$ ODx10⁻³) не было установлено. У больных СКВ, в отличие от здоровых лиц и больных ДКВ, наблюдалось существенное увеличение в моноцитах спонтанной и индуцированной продукции КФ ($227,7 \pm 89,9$; $247,3 \pm 127,7$ ODx10⁻³) и КБ ($136,2 \pm 38,6$; $167,3 \pm 112,5$ ODx10⁻³; $p < 0,05$). Повышение продукции КБ в Мн ассоциировалось при СКВ с наличием у пациентов сосудистых поражений.

Показатели лизосомального теста Мн у больных СКВ ($4,12 \pm 1,06$) и ДКВ ($4,1 \pm 1,0$) существенно не отличались от значений здоровых лиц ($4,02 \pm 1,3$; $p > 0,05$ при всех сравнениях).

У больных ДКВ по сравнению с данными здоровых лиц констатируется достоверное увеличение уровней IL-1 β - ($45,4 \pm 31,9$ пкг/мл), у больных СКВ - IL-1 β - ($113,7 \pm 125,3$ пкг/мл), IL-6 - ($15,8 \pm 24,3$ пкг/мл), TNF- α - ($88,9 \pm 122,9$ пкг/мл), а в контроле соответственно IL-1 β - ($9,4 \pm 11,7$ пкг/мл), IL-6 - ($2,8 \pm 2,9$ пкг/мл), TNF- α - ($5,5 \pm 8,4$ пкг/мл, $p < 0,05$). С увеличением активности СКВ достоверно повышался уровень IL-1 β ($c 52,79$ ($39,8-89,69$) пкг/мл до $62,79$ ($46,36-89,1$) пкг/мл). Продемонстрировано статистически достоверное повышение содержания IL-1 β и IL-6 при наличии у больных СКВ кожного синдрома (соответственно $72,87$ ($56,36-148,15$ пкг/мл и $5,17$ ($0,0-$

$22,33$ пкг/мл) и синдрома Рейно - (соответственно $105,9$ ($65,8-346,1$ пкг/мл и $5,96$ ($3,15-26,42$ пкг/мл), TNF- α - $126,8$ ($36,2-148,45$ пкг/мл) при синдроме Рейно. Анализ взаимозависимостей исследованных показателей показал наличие корреляционной связи при СКВ между IL-1 β и TNF- α .

Выполненные исследования указывают на активацию кислородзависимых и кислороднезависимых метаболических функций Мн с выработкой мощных гистодеструктивных продуктов (активные формы кислорода, катионные белки - дефензины) на фоне снижения уровня ДНК фагоцитов и увеличения содержания сывороточных провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α исключительно при СКВ, тогда как у больных ДКВ констатируется лишь избирательное повышение IL-1 β . Эти данные указывают на существенный вклад увеличения метаболических функций моноцитов в развитии системного аутоиммунного процесса, определяя мишени для терапевтического воздействия, а также на возможность использования определения указанных показателей в качестве дополнительных лабораторных тестов с целью дифференциации ДКВ и СКВ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., Практика, 1998.
2. Долгушин И.И., Бухарин О.В. Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург: УрО РАН, 2001.
3. Ерыгина Е.Н., Романова Н.В., Романов В.А. Апоптоз и кислородзависимый метаболизм моноцитов при красной волчанке. Российский иммунологический журнал. - Том 9. - (18). - № 3. - (1). - 2015. - сентябрь. - с. 75-77.
4. Карнаухов В.Н. Люминесцентный анализ клеток. Пущино: 2002.
5. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М: ВНИРО; 1995.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ НА АУТОИММУННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ НА МОДЕЛИ АДЪЮВАНТНОГО ПОЛИАРТРИТА

Жернов Ю.В.¹, Аввакумова Н.П.², Хаитов М.Р.¹

¹ ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

² ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, Самара

EFFECTS OF HUMIC ACIDS ON AUTOIMMUNE INFLAMMATION IN ADJUVANT-INDUCED ARTHRITIS RAT MODEL

Zhernov Y.V.¹, Avvakumova N.P.², Khaitov M.R.¹

¹ National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow

² Samara State Medical University, Samara

Вмногочисленных исследованиях было показано, что пелоидотерапия оказывает определённый терапевтический эффект в клинических условиях при заболеваниях, в основе которых лежат аутоиммунные процессы [1-3]. Наряду с этим, гуминовые кислоты не обладают выраженным цитотоксическим эффектом [4]. При этом механизмы влияния гуминовых кислот, основного терапевтического компонента медицинских грязей, на развитие аутоиммунных реакций остаются невыясненными.

Целью нашей работы явилось изучение влияния гуминовых кислот на хронический аутоиммунный процесс в экспериментальной модели адъювантного полиартрита на крысах, в развитии которого преобладает элемент гиперчувствительности замедленного типа.

Материалы и методы. Гуминовые кислоты были получены путем фракционирования лечебных грязей (пелоидов) озера Молочка санатория ФГБУЗ МРЦ «Сергиевские минеральные воды» ФМБА России, Самарская область [5].

Хроническое иммунное воспаление моделировали у крыс линии Wistar субплантарным введением в правую заднюю лапу 0,1 мл полного адъюванта Фрейнда (взвесь БЦЖ 2,5 мг/мл в вазелиновом масле), который позволяет активировать макрофаги и костимулировать Т-клетки. Введение гуминовых кислот начинали с 14-го дня после инъекции адъюванта. Гуминовые кислоты в виде 0,1% водных растворов (рН=7,4) вводили ежедневно. Воспали-

тельная реакция оценивалась на 3, 7, 12 сутки после начала лечения. Оценивалось изменение содержания общего пула лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов в крови. Была определена концентрация гемоглобина, скорость оседания эритроцитов, количество нейтрофильных гранулоцитов, в том числе палочкоядерных и сегментоядерных, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов. Для более детального изучения влияния препарата на макрофагально-фагоцитарную и иммунную системы определяли уровень С-реактивного белка и циркулирующих иммунных комплексов, содержание фибронектина, а также провоспалительных цитокинов (интерлейкин 1-β и фактор некроза опухоли-α) в сыворотке крови. При развитии экспериментального полиартрита определяли содержание иммунорегуляторных субпопуляций лимфоцитов (CD4+ и CD8+ лимфоцитов) с расчётом иммунорегуляторного индекса.

Результаты. Анализ полученных данных показал, что в процессе воспроизведения экспериментального полиартрита у крыс выявлялись существенные сдвиги изучаемых показателей. Через 17 суток после введения адъюванта Фрейнда имело место более чем трёхкратное увеличение содержания в крови лейкоцитов, уровень которых достигал значений $25,2 \pm 2,0$ клеток $\cdot 10^9$ /л. СОЭ, относительное количество палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов были также существенно увеличены. Средние значения показателей составляли $7,2 \pm 0,2$

мм/час и $9,5 \pm 0,3\%$, что, соответственно, в 2,9 и 3,0 раза больше нормативных значений. Отмечались сдвиги и в содержании провоспалительных цитокинов: уровни интерлейкина $1-\beta$ и фактора некроза опухоли в сыворотке крови повышались, соответственно в 2,4 и 1,7 раза по сравнению с нормативными значениями, составляя $55,8 \pm 0,9$ и $60,6 \pm 1,5$ пкг/мл. Был также повышен уровень фибронектина в сыворотке крови: его концентрация достигала значений $317,5 \pm 12,3$ мкг/мл. Возрастало содержание циркулирующих в крови иммунных комплексов до $93,5 \pm 0,05\%$. Выявленные значительные изменения данных показателей активности воспалительного процесса сопровождались перераспределением в крови баланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов: у животных содержание CD4+ клеток в лимфограмме возрастало до $43,5 \pm 4,4\%$ (при норме $31,1 \pm 2,5\%$), а относительное количество CD8+ лимфоцитов падало до $11,2 \pm 0,5\%$ (при норме $18,8 \pm 1,0\%$). Вследствие этого возрастал иммунорегуляторный индекс, средние значения которого достигали $4,1 \pm 0,2$. Всё это свидетельствовало об интенсивном развитии воспалительных процессов с участием аутоиммунного компонента в организме экспериментальных животных.

Анализ полученных данных при введении гуминовых кислот показал, что инъекции животным с развившимся адьювантным полиартритом снижали выраженность воспалительного процесса с аутоиммунным компонентом, при этом терапевтический эффект нарастал с увеличением количества инъекций.

После 3 инъекций препарата (17 сутки эксперимента) лейкоцитоз в крови был менее выраженным, чем у интактных животных в тот же срок наблюдения – количество циркулирующих в крови лейкоцитов составляло $19,5 \pm 0,8$ клеток $\cdot 10^6$ /мл и превышало нормальные значения в 2,4 раза. Концентрации интерлейкина $1-\beta$ и фактора некроза опухолей были не столь высокими, как в группе сравнения, но превышали нормативные значения в 1,6 и в 1,5 раза, составляя $35,4 \pm 0,01$ и $51,4 \pm 1,3$ пкг/мл, соответственно. Уровень циркулирующих иммунных комплексов не был повышенным по сравнению с данным показателем у здоровых животных.

После семи инъекций гуминовых кислот противовоспалительное действие препарата было выражено более ярко. Так, уровень лейкоцитов в крови животных снижался до нормативных значений, средние значения СОЭ превосходили норматив-

ные лишь в 1,3 раза, количество полиморфноядерных нейтрофильных гранулоцитов снижалось до $4,2 \pm 0,1\%$. Содержание циркулирующих иммунных комплексов было в пределах нормальных значений, при этом наблюдался незначительный дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов.

Максимальный противовоспалительный эффект гуминовых кислот был выявлен к 26 суткам эксперимента (12 день введения). Препарат практически полностью восстанавливал гематологические и иммунологические показатели до нормативных значений.

Выводы. Таким образом, изучение влияния гуминовых кислот на активность воспалительного процесса и иммунологический статус животных с экспериментальным полиартритом, вызванным введением адьюванта Фрейнда, показало выраженный противовоспалительный и иммунокоррирующий эффекты гуминовых кислот, что проявлялось в нормализации лейкограммы, функционально-метаболических свойств моноцитарно-макрофагальной системы, нивелировании дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов. Это, по-видимому, является отражением уменьшения активности аутоиммунных реакций при экспериментальном поражении суставов у животных.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Вахт М.А., Вейнпалу Л.Э., Вейнпалу Э.Ю., Тринк Р.Ф., Юбнер М.Э. Терапевтическая эффективность гуминовых кислот морской лечебной грязи при остеоартрозе. Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК. 2000. №5 – с. 27-28
2. Сидоров В.Д., Мамиляева Д.Р. Современные аспекты пелоидотерапии больных ревматоидным артритом. Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК. 1997. №3 – с. 42-45
3. Мамиляева Д.Р. Пелоиды низких температур в терапии ревматоидного артрита. Автореферат дисс. канд. мед. наук, М.: 1995 – с. 13
4. Жернов Ю.В. Анализ цитотоксичности гуминовых веществ пелоидов. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. Т. 13. №1-8. – с. 1996-1998
5. Аввакумова Н.П., Глубокова М.Н., Кривопалова М.А., Жернов Ю.В., Жданова А.В., Семионова М.А. Сезонные изменения группового состава низкоминерализованных пелоидов Самарского региона как показатель уровня их биологической активности. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2015. Т. 17. № 5-1. – с. 247-250

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ДЫХАТЕЛЬНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ ИНФЕКЦИОННОГО И НЕИНФЕКЦИОННОГО ГЕНЕЗА

Жукова А.С., Ванько Л.В., Балашова Е.Н., Никитина И.В., Ионов О.В., Кречетова Л.В.
ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS IN PRETERM NEWBORNS WITH INFECTIOUS AND NONINFECTIOUS RESPIRATORY DISORDERS

Zhukova A.S., Vanko L.V., Balashova E.N., Nikitina I.V., Ionov O.V., Krechetova L.V.
«Research center for obstetrics, gynecology and perinatology» Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Механизмы иммунной системы новорожденных детей направлены на сдерживание избыточного и постепенное формирование нормергического иммунного ответа. Иммуносупрессивная направленность иммунных механизмов на фоне морфо-функциональной незрелости у недоношенных новорожденных обуславливает их высокую чувствительность к бактериальным и вирусным инфекциям [1]. Развитие высокоэффективной антиген-специфической иммунной реакции на патогены возможно лишь при участии эффекторов адаптивной иммунной системы, ключевыми из которых являются Т-лимфоциты. Преимущественная дифференцировка CD4⁺ Т-клеток у здоровых новорожденных в Th2 лимфоциты обуславливает важную роль гуморального звена неонатальной иммунной системы в защите от возбудителей инфекционных заболеваний. Однако синтез собственных иммуноглобулинов клетками новорожденных находится на низком уровне, интенсивность их продукции во многом определяется степенью дифференцировки В-лимфоцитов. Целью данной работы была оценка содержания субпопуляций Т- и В-лимфоцитов в пуповинной и периферической крови недоношенных детей в зависимости от наличия или отсутствия у них инфекционного заболевания.

Были обследованы 64 ребёнка, родившихся в ФГБУ «НЦ АГиП им. В.И. Кулакова». Родителями новорожденных было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

По гестационному возрасту, дети были разделены на 2 группы: основную, включавшую 45 новорожденных с гестационным возрастом 27-36 недель и группу сравнения, которую составили здоровые доношенные дети от матерей с физиологическим течением беременности. В возрасте 3 суток жизни детям из основной группы проводилось обследование, по результатам которого устанавливался окончательный клинический диагноз, согласно которому недоношенные новорожденные были разделены на подгруппу I (без признаков инфекции, n=17) и подгруппу II (с врожденной пневмонией, n=28). Материалом для исследования в основной группе послужила кровь из вены пуповины и периферическая венозная кровь детей в возрасте 3 суток, у детей из группы сравнения забиралась только пуповинная кровь. Критериями исключения были гемотрансфузии, врожденные пороки развития, сепсис, иммунодефицитные состояния. Данное исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «НЦ АГиП им. В.И. Кулакова». Фенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии на анализаторе FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с применением флуоресцентно меченных моноклональных антител. Данные анализировали, используя программное обеспечение CellQuest (Becton Dickinson, США). Статистическую обработку полученных

результатов проводили с применением программы MedCalc (Бельгия). Проверку нормальности распределения данных осуществляли с применением критерия Шапиро-Уилка. Для оценки различий применяли критерий Стьюдента для данных с нормальным распределением (t-тест), для оценки различий в выборках, где распределение данных отличалось от нормального, применяли непараметрические критерии: U-критерий Манна-Уитни для несвязанных выборок и критерий Вилкоксона – для связанных. Различия считали достоверными при уровне значимости $P < 0,05$. Корреляционные связи оценивали, исходя из показателей коэффициента корреляции Пирсона для значений, которые подчиняются нормальному распределению, и коэффициента корреляции Спирмена – для показателей, не подчиняющихся нормальному распределению.

Новорожденные из основной группы имели более низкую массу и длину тела при рождении, чем дети из группы сравнения. Средняя оценка по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах, отражающая состояние ребёнка и его потребность в реанимационных мероприятиях, также была ниже в подгруппах недоношенных новорожденных ($P < 0,001$). Дети с врождённой пневмонией (подгруппа II) имели более низкий гестационный возраст ($P < 0,001$), массо-ростовые показатели ($P < 0,01$), более выраженную степень асфиксии на 1-й ($P < 0,0001$) и 5-й ($P < 0,001$) минутах и наблюдались в условиях стационара существенно дольше ($P < 0,0001$), чем недоношенные без признаков инфекции (подгруппа I). Состояние новорожденных из данной подгруппы оценивалось как тяжёлое и крайне тяжёлое за счёт респираторных нарушений и течения инфекционно-воспалительного процесса: трое детей находились на искусственной вентиляции легких с первых суток жизни, два ребёнка потребовали применения высокочастотной осцилляторной вентиляции легких. В основной группе новорожденных была отмечена прямая корреляционная зависимость между гестационным возрастом и массо-ростовыми показателями ($P < 0,01$) и обратная корреляционная зависимость между гестационным возрастом и продолжительностью пребывания в стационаре ($P < 0,01$).

Оценка содержания исследуемых субпопуля-

ций Т-лимфоцитов в пуповинной крови не выявила существенных различий между подгруппой I и группой сравнения ($P > 0,05$). Однако было установлено, что в I подгруппе недоношенных детей лимфоциты с большей интенсивностью экспрессировали рецепторную молекулу CD4 (1098,2 (1060,06-1157,32) против 898,7 (862,92-966,68), $P = 0,0014$) и рецептор $\gamma\delta$ TCR (81,1 (64,60-101,76) против 57,5 (52,97-61,35), $P = 0,0038$) по сравнению с детьми, родившимися в срок. Интенсивность экспрессии данных маркеров обратно коррелировала с гестационным возрастом: $r = -0,396$, $P = 0,03$ и $r = -0,385$, $P = 0,039$. В процессе развития Т-клеток вначале на них экспрессируется $\gamma\delta$ TCR, экспрессия $\alpha\beta$ TCR обнаруживается позднее. Ранее было показано, что в крови плода число $\gamma\delta$ Т-клеток значительно сокращается к доношенному сроку [2].

При исследовании фенотипа В-лимфоцитов пуповинной крови было установлено, что в I подгруппе недоношенных детей содержание CD19+CD5+B1 клеток и незрелых CD19+CD27-IgM+IgD- В-лимфоцитов выше, а содержание CD19+CD27+В-клеток памяти – ниже, чем у доношенных новорожденных ($P < 0,05$). Формирование В-клеток памяти при участии Т-лимфоцитов может происходить в герминативном центре и вне его. В первом случае образуются В-клетки памяти с фенотипом CD19+CD27+IgM-IgD-, в которых произошло переключение классов синтезируемых иммуноглобулинов («переключенные»). Они способны быстро синтезировать IgG высокой специфичности в ответ на повторное попадание антигена. В случае образования В-лимфоцитов памяти вне герминативного центра, формируются CD19+CD27+IgM+IgD+ «непереключенные» В-клетки памяти, продуцирующие IgM [3,4]. Следует отметить, что среди В-лимфоцитов памяти у детей из подгруппы I преобладали «непереключенные» лимфоциты ($P < 0,05$). У новорожденных отсутствует второй сигнал при кооперации В-клеток с Th-лимфоцитами за счёт низкой экспрессии костимуляторных молекул. Это снижает способность В-лимфоцитов к изотипическому переключению классов иммуноглобулинов [5].

Факторами роста, пролиферации и дифференцировки для В-лимфоцитов являются цитоки-

ны, относящиеся к семейству TNF: BAFF (B-cell activating factor) и APRIL (a proliferation-inducing ligand). На поверхности В-клеток экспрессированы рецепторы BAFF-R (CD268) для BAFF и TACI (transmembrane activator and CAML interactor, CD267) для BAFF и APRIL [6]. Нами было установлено, что число В-клеток, экспрессирующих TACI, среди всей популяции В-лимфоцитов ниже в группе недоношенных новорожденных без признаков инфекции по сравнению с детьми, родившимися в срок ($P < 0,0001$). Доля лимфоцитов, несущих BAFF-R, не различалась в исследуемых группах ($P > 0,05$). Интенсивность экспрессии CD267 и CD268 была значимо выше на лимфоцитах пуповинной крови недоношенных детей по сравнению с доношенными ($P = 0,0018$ и $P = 0,0098$).

Наличие врожденной пневмонии у недоношенных детей характеризовалось более высоким содержанием клеток с фенотипом CD3+CD16,CD56+ в пуповинной крови по сравнению с детьми сходного гестационного возраста без признаков инфекции, что может быть следствием активации клеточного звена иммунной системы при внутриутробном заражении.

Повторное обследование недоношенных новорожденных на 3 сутки жизни выявило значимо более низкое содержание В-лимфоцитов в периферической крови детей из I подгруппы по сравнению с пуповинной кровью. Число Т-клеток, в том числе Т-хелперных и Т-регуляторных, напротив, к 3 суткам увеличивалось. Это может свидетельствовать о повышении роли Т-клеточного звена в иммунных реакциях у детей без инфекционно-воспалительных заболеваний. В отличие от новорожденных без признаков инфекции, у детей с врожденной пневмонией абсолютное содержание $\gamma\delta$ Т-клеток и их доля среди CD3+ лимфоцитов, число естественных киллерных клеток, CD16+ лимфоцитов и интенсивность экспрессии данного рецептора были значимо ниже в периферической крови по сравнению с пуповинной. Напротив, иммунорегуляторный индекс, интенсивность экспрессии апоптотической молекулы CD95 на лимфоцитах и рецептора к IL-2 (CD25) на Т-регуляторных клетках существенно повышались к 3 суткам ($P < 0,05$). Выявлена тенденция к увеличению доли CD19+CD27+ В-лимфоцитов памяти в группе детей с врожденной пневмони-

ей к 3 суткам жизни ($P = 0,06$) за счёт увеличения числа В-клеток памяти, в которых не произошло переключения классов иммуноглобулинов ($P = 0,0098$).

Таким образом, лимфоциты пуповинной крови недоношенных новорожденных имеют признаки незрелости: высокое содержание В1 и $\gamma\delta$ Т-клеток, относящихся к врожденному иммунитету, низкое содержание В-клеток памяти с преобладанием «непереключенных» форм, низкая экспрессия CD95 и высокая – рецепторов к ростовым факторам на Т- и В-клетках. Более высокое содержание Т-клеток с цитотоксической активностью в пуповинной крови недоношенных детей с пневмонией может свидетельствовать об активации клеточного иммунитета. В отличие от новорожденных без инфекционно-воспалительных заболеваний, у детей с врожденной пневмонией к 3 суткам жизни обнаруживаются признаки дифференцировки и «обучения» клеток адаптивной иммунной системы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Титов Л.П., Кирильчик Е.Ю., Канашкова Т.А. Особенности строения, развития и функционирования иммунной системы детского организма. Медицинские новости, 2009, № 5, с. 7-16.
2. Dimova T., Brouwer M., Gosselin F. et al. Effector $V\gamma 9V\delta 2$ T cells dominate the human fetal $\gamma\delta$ T-cell repertoire. PNAS, 2015, v. 112, № 6, p. E556-E565.
3. Kurosaki T., Kometani K., Ise W. Memory B cells. Nature reviews, 2015, v. 15, p. 149-159.
4. Shi Y., Agematsu K., Ochs H.D. et al. Functional analysis of human memory B-cell subpopulations: IgD+CD27+ B cells are crucial in secondary immune response by producing high affinity IgM. Clinical immunology, 2003, v. 108, p.128-137.
5. Kaur K., Chowdhury S., Greenspan N.S., et al. Decreased expression of tumor necrosis factor family receptors involved in humoral immune responses in preterm neonates. Blood, 2007, v. 110, p. 2948-2954.
6. Figgett W.A., Vincent F.B., Saulep-Easton D., et al. Roles of ligands from the TNF superfamily in B cell development, function, and regulation. Seminars in immunology, 2014, v. 26, № 3, p. 191-202.

РЕПЕРТУАРЫ АНТИ-ГЛИКАНОВЫХ АНТИТЕЛ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ И ОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Зиганшина М.М.¹, Шилова Н.В.², Хасбиуллина Н.Р.², Ракитко А.С.³, Кан Н.Е.¹, Тютюнник В.Л.¹, Тютюнник Н.В.¹, Мантрова Д.А.¹, Бовин Н.В.², Сухих Г.Т.¹

¹ ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва

² ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, механико-математический факультет, Москва

REPERTOIRES OF ANTI-GLYCAN ANTIBODIES IN NORMAL AND COMPLICATED PREGNANCY

Ziganshina M.M.¹, Shilova N.V.², Khasbiullina N.R.², Rakitko A.S.³, Kan N.E.¹, Tyutyunnik V.L.¹, Tyutyunnik N.V.¹, Mantrova D.A.¹, Bovin N.V.², Sukhikh G.T.¹

¹ Federal State Budget Institution «Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology» of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

² M.M. Shemyakin and Y.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Russian Federation, Moscow

³ M.V. Lomonosov Moscow State University, Department of Mechanics and Mathematics, Moscow

Одним из механизмов, которые обеспечивают формирование толерантности иммунной системы матери к фетальным алло-антигенам при беременности, является развитие противовоспалительного гуморального Th2-иммунного ответа, протективного в отношении плода [1]. Так, при беременности показана продукция протективных «блокирующих» антител, защищающих фетальные клетки от иммунного надзора материнской иммунной системы [2,3]. Также есть множество сообщений, что при патологии беременности наблюдается повышенный синтез антител, участвующих в иммунопатологических реакциях [4,5].

Все проводимые на сегодняшний день исследования гуморального иммунитета при беременности не учитывают исходно присутствующие в организме естественные антитела, которые выполняют регуляторную функцию в организме [6]. Известно, что значительное число естественных антител направлено к гликанам клетки и вне-

клеточного матрикса [7], что при беременности может оказывать существенное влияние на межклеточные контакты и плацентацию, т.к. гликаны являются ключевыми молекулами в этих процессах [8]. Известно, что нарушенные межклеточные контакты при формировании плаценты являются основным патогенетическим фактором развития преэклампсии (ПЭ) – одного из наиболее тяжёлых осложнений беременности, характеризующееся гиперактивацией иммунной системы, которое является одной из основных причин материнской и перинатальной заболеваемости и смертности во всем мире [9]. В этой связи, характеристика анти-гликановых антител (АгАТ) при ПЭ является приоритетной темой данного исследования. Наши исследования сфокусированы на антигликановых (IgG) антителах, поскольку антитела G класса являются наиболее распространёнными и стабильными молекулами в сыворотке крови и составляют основу защитного иммунитета [10]. Изучение профиля АгАТ

проводили с помощью гликанового микрочипа (гликочипа), лигандами которого являются природные и синтетические гликаны, входящие в состав большинства гликопротеинов и гликолипидов человека, в том числе антигенам групп крови АВ0, Lewis и т.д. и их производным [11].

Материал и методы В одномоментное исследование были включены 66 пациентов. Основную группу составили 26 пациенток с ПЭ (группа 1), группу сравнения составили 30 здоровых беременных (группа 2), и 10 условно здоровых небеременных женщин (группа 3).

Критерии включения: для групп 1 и 2: одноплодная беременность, наступившая в естественном цикле, третий триместр беременности; для группы 1: беременность, осложненная ПЭ; для группы 3: 19-24 дни менструального цикла, отсутствие приема комплексных оральных контрацептивов. Критерии исключения: тяжелая акушерская и экстрагенитальная патология, острые воспалительные и аутоиммунные заболевания, гемотрансфузии и трансплантации органов в анамнезе, применение препаратов человеческих иммуноглобулинов, и препаратов, влияющих на выработку и биодоступность антител.

Для определения АгАТ в периферической крови использовали микрочипы, содержащие 374 гликана, (ООО «Семиотик», Россия). Чипы инкубировали с исследуемыми сыворотками как описано в [11], после чего связавшиеся с гликанами антитела проявляли вторичными антителами против IgG флуоресцентно мечеными Alexa555 (Invitrogen, США). Сигналы считывали с помощью флуоресцентного сканера ScanArray Gx (Perkin Elmer, США). Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения ScanArrayExpress 4.0, используя метод фиксированных колец диаметром 70 мкм. Значимыми считались величины флуоресценции, превышающие фоновое значение (т.е. величину сигнала от поверхности, не содержащей лиганд) в 5 раз. Уровень АгАТ (отражающий аффинность антител и их количество) характеризовали с помощью медианы интенсивностей флуоресценции повторов лигандов гликочипа.

Статистическая обработка полученных данных производилась с помощью электронных таблиц Microsoft Office Excel и программного обе-

спечения R (разработчик – The R Foundation for Statistical Computing). Процедура контроля качества была выполнена перед обработкой данных, как описано в [12]. Полученные массивы данных были исследованы с помощью непараметрического теста Крускала-Валлиса; для установления межгрупповых различий были использованы попарный тест Крамера и непараметрический тест Вилкоксона-Манна-Уитни (WMW-тест). В данном исследовании была применена поправка на множественность [13], с учетом которой рассматривались значения при $p < 0,00075$. Данные представлены как средняя величина сигналов интенсивности флуоресценции (среднее $\pm$ ошибка среднего).

Результаты и обсуждение

1. Характеристика профилей антител в рассматриваемых группах

По результатам тестов на контроль качества данных из 374 были отобраны 134 АгАТ. Анализ распределения сигналов в рассматриваемых группах показал, что профили антител больных с ПЭ (группа 1), в целом, занимают промежуточное положение, отличное от здоровых беременных и условно здоровых вне беременности. Средняя величина сигналов интенсивности флуоресценции имеет максимальные значения у здоровых вне беременности (группа 3), и минимальные значения – у здоровых беременных (группа 2).

2. Межгрупповое сравнение спектров антигликановых антител

А. Различия в спектрах антигликановых антител в рассматриваемых группах

Максимальные отличия в спектрах антигликановых антител наблюдаются при попарном сравнении групп 2 и 3 (WMW-тест). Значимые отличия выявлены по АгАТ к изолактозамину - дисахариду LeC ($\text{Gal}\beta 1-3\text{GlcNAc}\beta$) и ряду его 3'-замещенных производных, а также по антителам к дисахаровой кислоте ($\text{Neu5Ac}\alpha 2-8\text{Neu5Ac}\alpha 2$).

Попарный WMW-тест выявил значимое отличие между группами 1 и 2 по антителам к сульфатированному ди-N-ацетиллактозамину $\text{GalNAc}\beta 1-4(6\text{-O-Su})\text{GlcNAc}\beta\text{-sp}$ ($p < 0,000479$); однако между группами 1 и 3 значимых отличий обнаружено не было (с учетом поправки на множественность).

Согласно тройному тесту Крускала-Валлиса

достоверные отличия между всеми тремя группами были выявлены только по АгАТ к сульфатированному ди-N-ацетиллактозамину GalNAc β 1-4(6-O-Su)GlcNAc β -sp ($p=0,00009$).

Б. Сходство в спектрах антигликановых антител в рассматриваемых группах

Если смотреть на относительное отклонение средних в группах, то можно выделить гликаны, по сигналам антител к которым все группы демонстрируют сходство. Это антитела к мальтолигосахаридам (Glc α 1-4Glc β -; (Glc α 1-6) $_4\beta$ -; (Glc α 1-6) $_5\beta$ -), N-ацетиллактозамину- α (Gal β 1-4GlcNAc α -) и бензильному производному α -N-ацетиллактозамина (6-Bn-Gal α 1-4(6-Bn)GlcNAc β -).

Проведенные нами исследования спектров АгАТ-IgG у здоровых доноров, а также у пациенток с физиологической и осложненной ПЭ беременностью показал, что, во-первых, при физиологической беременности выявлен системный эффект уменьшения общего уровня АгАТ-IgG: пациентки с ПЭ по уровню АгАТ-IgG, занимают промежуточное положение между здоровыми беременными и небеременными донорами. Во-вторых, различия между группами наиболее ярко выражены у здоровых небеременных доноров и пациенток с физиологической беременностью. Лидерами в этом сравнении являются антитела к Le^C и его аналогам. Сигналы анти-Le^C-IgG значимо ниже при беременности, что может быть свидетельством их возможной роли в формировании толерантности к плоду в качестве «блокирующих антител». В-третьих, различия между всеми тремя группами выявлены по АгАТ-IgG против сульфатированного ди-N-ацетиллактозамина (GalNAc β 1-4(6-O-Su)GlcNAc β -), что, возможно, демонстрирует потенциальную роль этих антител в формировании иммунологической толерантности при беременности, и патогенезе ПЭ. В-четвертых, выявлены АгАТ-IgG (антитела против GlcNAc α -терминированных гликанов, гликанов с коровой лактозой и мальтолигосахаридов), уровень которых остаётся неизменным у всех трех групп, что может указывать на их принадлежность к естественным антителам, а также на избирательность изменения антител при беременности, и, вероятно, регуляторную роль АгАТ-IgG.

Работа выполнена в рамках государственного

контракта «Изучение диагностической и прогностической роли молекулярно-генетических, иммунологических, эпигенетических факторов в развитии преэклампсии» № г.р.: 116082210002.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Dealtry G.B., O'Farrell M.K., Fernandez N. The Th2 cytokine environment of the placenta. *Int. Arch. Allergy. Immunol.*, 2000, v.123, p. 107-119.
2. Malan Borel I., Gentile T., Angelucci J. et al. IgG asymmetric molecules with antipaternal activity isolated from sera and placenta of pregnant human. *J. Rep. Immunol.*, 1991, v. 20, P. 129-140.
3. Barrientos G., Fuchs D., Schröcksnadel K. et al. Low levels of serum asymmetric antibodies as a marker of threatened pregnancy. *J. Rep. Immunol.*, 2009, v. 79, p. 201-210.
4. Dechend R., Müller D.N., Wallukat G. et al. Activating auto-antibodies against the AT1 receptor in preeclampsia. *Autoimmun. Rev.*, 2005, v. 4, p. 61-65.
5. Hanly, J.G. Antiphospholipid syndrome: an overview. *Can. Med. Assoc. J.*, 2003, v. 168, p. 1675-1682.
6. Lutz H.U. Homeostatic roles of naturally occurring antibodies: an overview. *J. Autoimmun.*, 2007, v. 29, p. 287-294.
7. Бовин Н.В. Естественные антитела к гликанам. *Биохимия*, 2013, т.78, №7. с. 1008-1022.
8. Gu J., Taniguchi N. Potential of N-glycan in cell adhesion and migration as either a positive or negative regulator. *Cell. Adh. Migr.*, 2008, v. 2, p. 243-245.
9. Kaufmann P., Black S., Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol. Reprod.*, 2003, v. 69, p. 1-7.
10. van de Bovenkamp F.S., Hafkenscheid L., Rispens T., Rombouts Y. The emerging importance of IgG Fab glycosylation in immunity. *J. Immunol.*, 2016, v. 196, p. 1435-1441.
11. Huflejt M.E., Vuskovic M., Vasiliu D. et al. Anti-carbohydrate antibodies of normal sera: findings, surprises and challenges. *Mol. Immunol.*, 2009, v. 46, p. 3037-3049.
12. Vuskovic M., Xu H., Bovin N.V. et al. Processing and analysis of serum antibody binding signals from Printed Glycan Arrays for diagnostic and prognostic applications. *Int.J. Bioinf. Res.*, 2011, v. 7, p. 402-426.
13. McDonald J.H. *Handbook of Biological Statistics*. Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland. 2014, p. 299.

ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ИММУННЫМ СТАТУСОМ И КОЛИЧЕСТВОМ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО ПРИ РАЗЛИЧНОЙ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ И ГИСТОГЕНЕЗЕ ОПУХОЛИ

Златник Е.Ю., Бахтин А.В., Новикова И.А., Селютин О.Н., Туркин И.Н., Лазутин Ю.Н., Айрапетова Т.Г., Пыльцин С.П., Чубарян А.В.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

CORRELATION BETWEEN IMMUNE STATUS AND AMOUNT OF CIRCULATING TUMOR CELLS IN LUNG CANCER PATIENTS WITH DIFFERENT STAGE AND HISTOGENESIS OF TUMOR

Zlatnik E.Y., Bakhtin A.V., Novikova I.A., Seliutina O.N., Turkin I.N., Lazutin Y.N., Airapetova T.G., Pyltzin S.P., Chubarian A.V.

Rostov Research Institute of Oncology

Взаимодействие между злокачественной опухолью и иммунной системой опухоленосителя может реализоваться в различных вариантах «иммуноредактирования» опухоли. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) считаются в настоящее время одним из важных механизмов метастазирования злокачественных опухолей, но они же могут нести опухолевые антигены и потенциально индуцировать иммунный ответ. К настоящему моменту накоплен ряд данных о роли ЦОК в прогнозе течения некоторых злокачественных опухолей [1], в частности, рака легкого (РЛ). Высокий уровень ЦОК коррелирует со сниженной общей выживаемостью при мелкоклеточном раке легкого (МРЛ); его изменения в динамике лечения, также были прогностически ценными [2,3]. Считается, что определение ЦОК при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) может быть ограничено слабой экспрессией его клетками молекул ЕpСAM, на обнаружении которых основана система их выявления CellSearch. Ряд исследований доказывает, что частота обнаружения ЦОК при НМРЛ ниже, чем при МРЛ [4,5]. Есть противоречивые сообщения

о связи ЦОК с тяжестью опухолевого процесса при НМРЛ [6,7].

Несмотря на то, что ЦОК играют ключевую роль в метастатическом каскаде, в частности, при РЛ, сведения об их возможном значении в процессе «иммуноредактирования» единичны.

Цель работы. Установить взаимосвязи между иммунным статусом и количеством циркулирующих опухолевых клеток у больных раком лёгкого при различной распространённости и гистогенезе опухоли.

Материалы и методы. Изучали содержание ЦОК и показатели иммунного статуса у больных РЛ; результаты анализировали в зависимости от распространённости (стадии), гистогенеза, количества ЦОК в крови. Обследовано 30 больных: 26 мужчин (86,7%) и 4 женщины (13,3%); средний возраст $62 \pm 1,3$ года. Гистологическим типом у 20 больных (66,7%) был мелкоклеточный РЛ, представляющий собой нейроэндокринную опухоль (МРЛ/НЭО), у 10 больных (33,3%) НМРЛ (аденокарцинома). На момент установления диагноза у 13 больных (43,3%) была III, у 17 (56,7%) – IV стадия заболевания. У 25 больных (83,3%) был

диагностирован центральный РЛ, у 5 (16,7%) – периферический РЛ. Среди пациентов с МРЛ подавляющее большинство составили мужчины – 19 из 20 (95%), в группе с НМРЛ было 3 женщины и 7 мужчин (30% и 70%). Средний возраст в обеих группах был идентичен: $62,2 \pm 1,6$ года и $62,8 \pm 2,2$ года. Распределение по стадиям: в группе МРЛ у 13 больных (65%) была III, у 7 (35%) – IV стадия заболевания; в группе с НМРЛ у всех 10 была диагностирована IV стадия. Среди пациентов с МРЛ у большинства был центральный рак – 18 больных из 20 (90%); в группе НМРЛ у 3 (30%) был периферический, у 7 больных (70%) центральный РЛ.

В крови больных до начала лечения определяли уровень ЦОК по технологии анализа в системе CellSearch System™ (Janssen Diagnostics, LLC) с микрочастицами железа, покрытыми антителами к маркерам адгезии эпителиальных клеток EpCAM, CD45 и цитокератинам 8,18,19. Качество работы системы оценивали с использованием стандартного контроля CTC control kit. Материал сканировали в анализаторе CellTracks® Analyzer II®. ЦОК регистрировали с учётом морфологических характеристик и экспрессии маркеров. В крови определяли субпопуляционный состав лимфоцитов на проточном цитометре FACSCantoII (BD): процент Т-В-NK-клеток, Т-reg; CD4+ и CD8+ клеток, экспрессирующих активационные маркеры (CD69+, CD38+, CD25+, HLA-DR+ CD95+); «наивных» Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти (CD45RA-/CD45RO+); среди NK-клеток определяли лимфоциты с различной экспрессией CD16 и CD56, а также экспрессирующие CD335, перфорин, гранзим В.

Статистическую обработку выполняли с использованием параметрических и непараметрических методов. Вычисляли среднюю, медиану, ошибку средней, достоверность различий, а также коэффициент корреляции (r); силу прямых и обратных корреляционных связей по критерию Пирсона.

Результаты. ЦОК были обнаружены у 27 больных (90%) в количестве от 1 до 6888, причем в группе МРЛ ЦОК выявлены у 17 больных (85%) в количестве 0-6888, среднее значение составило 655,7, медиана 38,5; в группе НМРЛ ЦОК найдены у всех 10 пациентов в количестве 1-486, сред-

нее значение составило 57,2, медиана 5,0. Были выделены группы больных РЛ с низким, средним и высоким уровнями ЦОК (<10, 10-100 и >100 в пробе соответственно).

При сравнении показателей уровня ЦОК и иммунного статуса больных РЛ разного гистогенеза, установлено, что отмеченное выраженное преобладание уровня ЦОК при МРЛ, сопровождалось более высоким содержанием CD3+CD4+ клеток с маркерами поздней активации (CD95+), а также CD3+CD4+ клеток с иммунофенотипом клеток «памяти» ($84,4 \pm 2,4$ и $72,2 \pm 3,7\%$; $73,2 \pm 4,1$ и $64,7 \pm 3,5\%$ соответственно, $p < 0,05$). У этих же больных уровень CD3+CD8+HLA-DR+ лимфоцитов был выше, чем у больных НМРЛ ($29,2 \pm 4,2$ и $19,8 \pm 2,2\%$ соответственно, $p < 0,05$). У больных МРЛ обнаружены более низкие показатели индекса CD3+CD4+/CD3+CD8+ ($1,4 \pm 0,1$ и $1,9 \pm 0,3$ соответственно, $p < 0,05$), активированных CD3+CD4+ лимфоцитов, экспрессирующих CD38 ($19,9 \pm 2,3$ и $27,8 \pm 3,5\%$ соответственно, $p < 0,05$), и NK-клеток, способных к продукции интерферона-гамма (CD16dimCD56bright) ($7,1 \pm 1,5$ и $15,3 \pm 3,8\%$ соответственно, $p < 0,05$).

Сравнительная характеристика показателей иммунного статуса у больных РЛ разных стадий показала, что при IV стадии количество ЦОК было выше, чем при III ($713 \pm 448,5$ и $44,6 \pm 18,7$ соответственно, $p < 0,05$), что сопровождается статистически значимыми различиями ряда показателей клеточного иммунитета. Среди основных популяций Т-В-NK-клеток отмечено только более высокое количество В-лимфоцитов у больных IV стадии по сравнению с III ($9,4 \pm 1$ и $6,7 \pm 1,1\%$ соответственно, $p < 0,05$), а большая часть различий выявлена при анализе Т-клеток с иммунофенотипом клеток «памяти» и активированных. Так, при IV стадии отмечен более низкий уровень Т-лимфоцитов «памяти» как среди CD3+CD4+ ($65,9 \pm 3,6$ и $77,6 \pm 4,0\%$ соответственно, $p < 0,05$), так и среди CD3+CD8+ клеток ($36,2 \pm 3,9$ и $43,5 \pm 7,1\%$ соответственно, $p < 0,05$). Кроме того, при IV стадии ниже, чем при III, было содержание активированных CD3+CD4+ и CD3+CD8+ с маркерами как ранней (CD38, CD25), так и поздней (HLA-DR, CD95) активации, а также количество активированных натуральных киллеров (CD335+ и Гранзим В+). При этом у больных с

IV стадией были выше по сравнению с III уровнем TNK-лимфоцитов ($7,4 \pm 1,2$ и $5,1 \pm 0,6\%$ соответственно, $p < 0,05$), CD3+CD4+CD38+ клеток ($26,6 \pm 2,9$ и $17,7 \pm 2,6\%$ соответственно, $p < 0,05$), и «наивных» CD3+CD4+ лимфоцитов ($12,2 \pm 2,5$ и $6,3 \pm 1\%$ соответственно, $p < 0,05$).

При проведении корреляционного анализа выявлен ряд различий коэффициентов корреляции между показателями иммунного статуса больных МРЛ и НМРЛ с уровнем ЦОК. Так, при МРЛ отмечены прямая связь с уровнем ЦОК количества наивных CD4 клеток ($r=0,5$) и обратная – с уровнем CD3+CD4+ клеток памяти ($r=-0,6$) и активированных (CD3+CD4+CD95+) лимфоцитов ($r=-0,7$). Разнонаправленные связи выявлены между уровнем ЦОК и характеристиками функциональной активности NK-лимфоцитов, причем перфорин демонстрирует прямую сильную связь ($r=0,9$), а гранзим В – умеренную обратную ($r=-0,6$). НМРЛ характеризуется прямой связью уровня ЦОК с процентом CD3+, CD3+CD8+ клеток ($r=0,8$) и сильной обратной – с количеством CD3+CD8+ клеток памяти ($r=-0,7$). Показана корреляция уровня ЦОК с количеством активированных CD3+CD4+CD25+ лимфоцитов ($r=0,6$) и CD3+CD4+HLA-DR+ ($r=0,9$), несмотря на обратную корреляцию с общим уровнем CD4+ клеток ($r=-0,7$) и её отсутствие с Tregs. Уровень ЦОК при НМРЛ обратно коррелирует с активностью фагоцитарного звена, включая как нейтрофильный ($r=-0,9$), так и макрофагальный фагоцитоз ($r=-0,5$). Как при МРЛ, так и при НМРЛ уровень ЦОК обратно коррелирует с количеством Т-лимфоцитов памяти, хотя при МРЛ она выявлена с CD4+ ($r=-0,6$), а при НМРЛ – с CD8+ клетками ($r=-0,7$).

Рассмотрение корреляционных связей уровня ЦОК с иммунологическими показателями больных различных стадий позволило установить при III стадии отрицательные связи количества моноцитов ($r=-0,5$), фагоцитирующих гранулоцитов ($r=-0,7$) и активированных CD3+/CD4+/CD38+ ($r=-0,5$). При IV стадии выявлены отрицательные связи уровня ЦОК с процентом фагоцитирующих моноцитов ($r=-0,8$) и положительная – с количеством перфорин-содержащих натуральных киллеров ($r=0,6$).

Заключение. У обследованных больных РЛ

выявляемость ЦОК с применением методики CellSearch® при НМРЛ/аденокарциномах была выше, чем при МРЛ/НЭО. Отмечено выраженное преобладание количества ЦОК при МРЛ по сравнению с НМРЛ и у больных генерализованным РЛ по сравнению с местно-распространенным. Выявлен ряд соответствий уровня ЦОК и показателей иммунного статуса, некоторые подтверждены корреляционным анализом. Как при МРЛ, так и при НМРЛ, различия обнаруживались не в основных субпопуляциях Т, В, NK-клеток и не среди Тregs, а в субпопуляциях активированных Т-лимфоцитов, Т-клеток памяти, функционально активных NK-клеток.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00244мол_а «Оценка взаимного влияния уровня циркулирующих опухолевых клеток и параметров иммунного статуса у больных раком легкого».

ЛИТЕРАТУРА:

1. Кит О.И., Новикова И.А., Бахтин А.В. и соавт. Первый опыт детекции циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови // Междунар. журн. экспериментального образования. 2013 - №11-12. - С.37-39.
2. Normanno N., Rossi A., Morabito A., et al. Prognostic value of circulating tumor cells' reduction in patients with extensive small-cell lung cancer // Lung Cancer. — Aug 1, 2014. — 85. — P.314-319.
3. Naito T, Tanaka F, Ono A, et al. Prognostic impact of circulating tumor cells in patients with small cell lung cancer // J Thorac Oncol. — 2012. — 7. — P.512-519.
4. Matthew G. Krebs, Robert Sloane, Lynsey Priest, et al. Blackhall Evaluation and Prognostic Significance of Circulating Tumor Cells in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer // J Clin Oncol. — Apr 20, 2011. — 29(12). — P.1556-1563.
5. Hofman V, Ilie MI, Long E, et al. Detection of circulating tumor cells as a prognostic factor in patients undergoing radical surgery for non-small-cell lung carcinoma: comparison of the efficacy of the CellSearch Assay™ and the isolation by size of epithelial tumor cell method // Int J Cancer. — 2011. — 129. — P.1651-1660.
6. Maheswaran S., Sequist L.V., Nagrath S., et al. Detection of Mutations in EGFR in Circulating Lung-Cancer Cells // N Engl J Med. 2008 - July 24; 359(4) - P.366-377.
7. Yuh-Pyng Sher, Jin-Yuan Shih, et al. Prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer Patients by Detecting Circulating Cancer Cells in the Peripheral Blood with Multiple Marker Genes // Clin. Canc. Res. 2005. - V. 11.№1. - P.173-179.

ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У ЖЕНЩИН С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ В РЕЗУЛЬТАТЕ ЛЕЧЕНИЯ

Каландарова А.Н., Мусаходжаева Д.А.

Нукусский филиал республиканского скрининг центра, РНЦ Иммунологии, Нукус, Ташкент, Узбекистан

DYNAMICS OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN WOMEN WITH CERVICAL DISEASE AS A RESULT OF TREATMENT

Kalandarova A.N., Musakhodjaeva D.A.

Nukus branch of the Republican screening center, RSC Immunology, Nukus, Tashkent, Uzbekistan

Эрозия (эктопия) шейки матки – это дефект её слизистой оболочки. Различают истинную эрозию и псевдоэрозию. Истинная эрозия обусловлена наличием дефекта на шейке матки и связана с гормональными причинами [1,2]. Псевдоэрозия является самой распространённой женской патологией (в половой сфере), её возникновение обусловлено тем, что цилиндрический эпителий, который в нормальном состоянии выстилает канал шейки матки, выходит за его пределы и распространяется на влагалищную часть шейки матки. Эрозия (эктопия) шейки матки может возникнуть при регулярном раздражении шейки матки химическими или механическими агентами (аборт, роды, неудачная гистероскопия матки). Эрозия также возникает при снижении гормонального фона в организме женщины или при инфекционных заболеваниях (сальпингоофорит, аднексит, кольпит), хламидии и трихомонады, разрушающие клетки эпителия и выделяющие токсины, также могут быть причиной возникновения эрозии [3,4].

Определенную роль играют медиаторы иммунного ответа – цитокины: интерлейкин-2 и гамма интерферон являются провоспалительными цитокинами и способны ограничивать опухолевой рост, а цитокины интерлейкин-4 и интерлейкин-10 являются противовоспалительными цитокинами и, соответственно, могут стимулировать

рост опухолевой [5,6].

Лечение эрозии шейки матки может быть радикальным и консервативным с применением противовоспалительных препаратов и физиотерапевтических методов [2,3].

В связи с вышесказанным целью данного исследования явилось изучение локального уровня про- и противовоспалительных (ФНО α , ИЛ-4 и ИЛ-10) цитокинов у женщин с эктопией шейки матки в динамике лечения папаинов (фермент растительного происхождения).

Материал и методы исследования. Нами проведено клиничко-лабораторное обследование 84 женщин репродуктивного возраста, обратившиеся в Нукусский Скрининг Центр (Каракалпакстане). Обследование включало: сбор анамнеза, гинекологический осмотр, кольпоскопию, бактериоскопическое исследование вагинального отделяемого, обследование на инфекции, передаваемые половым путем (метод полимеразной цепной реакции, ИФА, бактериологическое исследование вагинального секрета).

18 практически здоровых женщин составили контрольную группу. Изучение иммунного статуса включало определение уровня интерлейкинов во влагалищном отделяемом (ФНО α , ИЛ-4, ИЛ-10) с использованием наборов реагентов ООО «Цитокин», Санкт-Петербург до и после лечения.

Математическую обработку данных проводили

ли методами вариационной статистики с помощью стандартных математических пакетов прикладных программ с определением средней, её ошибки, критерия *t* Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Возраст больных колебался от 18 до 38 лет, средний возраст составил $23,7 \pm 0,66$. Диагноз «эктопия шейки матки» установлен впервые у 70 женщин. В результате обследования у 43 пациенток выявлен вирус папилломы человека (ВПЧ). Доминирующее положение (51,4%) занимал 16 тип, что соответствует данным других исследователей. ВПЧ 18 обнаружен в 19 случаях (17,1%), 31 – в 15 (13,5%), 33 тип – в 12 (10,8%), 52 тип – в 8 (7,2%).

Возрастной анамнез пациенток с ВПЧ показал, что 36,1% женщин были в возрасте до 20 лет, 29,7% – 21-25 лет, 19,8% – 26-30 лет, 14,4% – 31-35 лет. Т.е. с увеличением возраста отмечается уменьшение частоты встречаемости ВПЧ у пациенток с эктопией шейки матки.

Для анализа результатов лечения пациентки были распределены на три группы:

I группа (28 женщин) – получала традиционное лечение: санация влагалища и химическая коагуляция солковагином;

II группа (42 пациентки) – получали комплексную терапию (санация влагалища и химическая коагуляция солковагином и свечи проктозан).

III группа (54 женщин) – получали комплексную терапию: санация влагалища, солковагин, гормональные таблетки «Логест» и с 5 суток после коагуляции – аппликация растительным ферментом Папаин в течение 7-8 дней.

Обследование проводили до лечения, по окончании курса терапии и после очередной менструации. На время лечения рекомендовался половой покой, а затем – барьерная контрацепция на период наблюдения и контрольного обследования.

Доминирование Th1 цитокинов сопряжено с вирусной нагрузкой. Вместе с тем, рядом авторов показано, что воспалительный процесс в шейке матки может быть сопряжён одновременным возрастанием уровня Th1 и Th2 цитокинов.

Нами проведено исследование уровня цитокинов во влагалищном секрете у женщин в зависимости от наличия или отсутствия ВПЧ при эктопии шейки матки.

Уровень изученных цитокинов достоверно от-

личался от показателей контрольной группы. Выявлено увеличение уровня ФНО α во влагалищном секрете ($P < 0,05$), который свидетельствует о развитии локального воспаления. Необходимо отметить, что повышение уровня ФНО α среди женщин с эктопией шейки матки на фоне ВПЧ выявлено в 63% случаях (в среднем $42,3 \pm 2,8$ против $24,6 \pm 0,5$ пг/мл в контроле, $P > 0,01$), тогда как среди женщин с эктопией шейки матки без ВПЧ в 38% ($31,02 \pm 2,6$ пг/мл, $P > 0,05$).

В результате высвобождения ФНО α повышается проницаемость капилляров, повреждаются эндотелий сосудов, возникает внутрисосудистый тромбоз. Кроме того, ФНО α , осуществляя киллинг клеток, поражённых вирусом, тем самым вызывает вирусемию и заражение новых лимфоцитов. Наши результаты подтверждают данные литературы, что экспрессию этого цитокина индуцируют вирусы. При этом высокие концентрации данного цитокина могут усиливать воспаление и запускать механизмы активации апоптоза.

Одновременно, нами были изучены уровни противовоспалительных цитокинов – ИЛ-4 и ИЛ-10 во влагалищном секрете женщин с эктопией шейки матки. Уровень данных интерлейкинов был повышенным относительно контрольных значений. Причём, у женщин с эктопией шейки матки и с ВПЧ уровень ИЛ-4 был выше контрольных значений в 1,66 раза ($P > 0,01$). ИЛ-4 продуцируется преимущественно Т-лимфоцитами, относящимися к субпопуляции Th2. Основная функция ИЛ-4 – это контроль пролиферации, дифференцировки и функций В-лимфоцитов, т.е. антительного ответа. ИЛ-4 снижает экспрессию FcR всех типов, угнетая тем самым антителозависимую цитотоксичность. ИЛ-4 блокирует продукцию провоспалительных цитокинов, повышая одновременно продукцию G-CSF и M-CSF, а также продукцию супероксидных радикалов и PGE $_2$, но стимулирует продукцию PAF. Обладает местной противоопухолевой активностью. Его повышенный уровень наблюдается при многих воспалительных процессах, протекающих в организме. Анализ результатов изучения уровня ИЛ-10 показал его повышение у женщин с эктопией шейки матки, который в среднем составил $16,3 \pm 1,0$ пг/мл ($P > 0,05$), однако у женщин с ЭШМ на фоне ВПЧ уровень ИЛ-10 был в 2,4 раза выше,

чем в контрольной группе ($P > 0,001$) и в 1,7 раза выше, чем у женщин с ЭШМ ($P > 0,05$). Известно, что активность IL-10 обычно связана с подавлением противовирусного иммунитета, что ведёт к хронизации заболевания.

Таким образом, во всех группах женщин с ЭШМ выявляли дисбаланс синтеза цитокинов, но характер и степень этого дисбаланса зависели от степени поражения шейки матки. Именно эта неспособность к сбалансированной выработке провоспалительных цитокинов, по-видимому, играет значительную роль в поддержании или прогрессирования ЭШМ и обуславливает особенности состава микроорганизмов, поддерживающих воспалительный процесс.

Результаты исследования проведённых после лечения показали, что при комплексной терапии заживление наблюдалось в течение 14 дней, тогда как при традиционной терапии и в группе сравнения на 30-й день. Наряду с клиническим эффектом (снижение количества выделений после коагуляции, отсутствии болезненных ощущений), кольпоскопическая картина регенерации шейки матки была более выражена при комплексной терапии.

Через 1 месяц после проведённой терапии определяли уровень изученных цитокинов. Анализ полученных результатов показал, что проведённая терапия оказала воздействие на концентрацию изученных цитокинов. Наблюдались некоторые изменения. Однако, наиболее выраженные изменения наблюдались при комплексной терапии с включением Папаина. Наблюдалась тенденция к снижению уровня ФНО α в группе пациенток, получавших базисную терапию. А у женщин 2-й группы концентрация ФНО α снизилась в 1,2 раза ($P < 0,05$), в то время как у женщин получавших комплексную терапию с включением Папаина ФНО α снизилась в 1,34 раза ($P < 0,01$).

Во всех группах через месяц после лечения наблюдали снижение уровня провоспалительных цитокинов. При этом в I группе дисбаланс в содержании цитокинов сохранялся. Такое соотношение, вероятно, свидетельствует о недостаточной эффективности терапии и может являться предрасполагающим фактором для развития рецидивов заболевания. В то время как в группе пациенток в терапию которых был под-

ключен Папаин наблюдалось достоверное снижение уровня провоспалительных цитокинов ($P < 0,01$).

Проведённое контрольное клиничко-лабораторное обследование, которое включало обнаружение ВПЧ (метод ПЦР) и кольпоскопию, показало, что в III группе ВПЧ обнаружен у 2 пациенток, т.е. эффективность терапии составила 93,5%. Во II группе положительными были 9 проб, эффективность – 71,8%.

При кольпоскопии полная эпителизация раневой поверхности отмечена у 28 пациенток III группы и у 25 – II группы. Повторная де-струкция участков эктопии была проведена 1 пациентке в III группе и 5 – во II группе. Рецидивов остроконечных кондилом не наблюдали.

Таким образом, лечение эктопии шейки матки с местным применением Папаина в комплексной терапии является патогенетически оправданным, высокоэффективным и перспективным. Комплексная терапия обладает провоспалительным и иммуномодулирующим действием, способствует ускорению репаративных процессов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Борзенко Е.В., Симкина Т.В. Эффективность метода аргонплазменной коагуляции в лечении доброкачественных заболеваний шейки матки// Материалы Российского национального конгресса «Человек и лекарство. Урал 2007» в журнале Медицинская наука и образование Урала. - Тюмень. - 2007. - С. 36.
2. Борзенко Е.В., Чернецова Л.Ф., Кашуба Э.А. Роль воспаления в патогенезе заболеваний шейки матки// Материалы международной практической конференции «Профилактика рака шейки матки; взгляд в будущее». - М. - 2008. - С. 11-12.
3. Кашуба Э.А., Борзенко Е.В., Курлович Н.А. Спонтанная и стимулированная продукция цитокинов цервикального секрета у женщин с патологией шейки матки// Материалы Международного конгресса по реабилитации в медицине и иммунореабилитации в журнале Аллергология и иммунология. - М. - 2009. - Т. 10. - 1. - С. 91.
4. Юрьев С.Ю., Чернецова Н.А., Курлович Н.А., Борзенко Е.В. Иммунологические параметры цервикального секрета у больных эктопией шейки матки с сопутствующей генитальной инфекционной патологией// Медицинская наука и образование Урала.-Тюмень.-2009.-2.-С. 14-17.
5. Прилепская В.Н., Рудакова Е.Б., Кононов А.В. Эктопии и эрозии шейки матки. М: МЕДпресс 2002; 175.
6. Шайков К.Л. Состояние локального иммунитета шейки матки при воспалительных заболеваниях органов малого таза и методы его коррекции иммуномодулятором кипферон: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М 2004; 24.

УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

Камалов З.С., Музафарова С.А., Хайдарова Ф.А.

РНЦ Иммунологии РУз, РСНПМЦ Эндокринологии, Ташкент, Узбекистан

THE LEVEL OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Kamalov Z. S., Muzafarova S.A., Khaydarova F.A.

RSC Immunology RUz, RSSPC Endocrinology, Tashkent, Uzbekistan

Существующие теории развития синдрома поликистозных яичников (СПКЯ), отображая изменения, обнаруженные у большинства больных [1,3], не объясняют, что же является первичным нарушением при развитии этой патологии. В свете имеющихся данных о возможной роли внутрияичниковых факторов роста в патогенезе СПКЯ, а также возможном наследовании этой патологии логично предположить, что в основе СПКЯ могут лежать генетические дефекты, приводящие к патологическим изменениям в женских гонадах. Одним из яичниковых факторов, напрямую связанным с генотипом плода, и определяющим развитие гонад в раннем эмбриональном периоде, является Антимюллеровский фактор (АМФ). В эмбриональном периоде АМФ вырабатывается исключительно клетками Сертоли (т.е. только гонадами мужского плода). Гранулезные клетки яичников начинают вырабатывать АМФ только после рождения, но продукция АМФ в яичниках происходит на протяжении всего репродуктивного периода жизни женщины [3,4,6]. Эти наблюдения позволяют предположить наличие регуляторного влияния АМФ на функцию яичников и обосновать теоретически возможные последствия гиперпродукции АМФ в фолликулярном аппарате яичника. Иммунная система функционирует в тесной взаимосвязи с эндокринной. Не вызывает сомнения тот факт, что эндокринная система контролирует иммунологическую реактивность организма, с другой стороны, убедительно аргументировано афферент-

ное влияние иммунной системы на эндокринные функции. Эндокринная регуляция иммунных функций реализуется с помощью гормонов. В свою очередь подавляющее большинство цитокинов, вырабатываемых иммунокомпетентными клетками, регулируют эндокринные функции. Согласно современным представлениям, присутствующие в тканях яичника клетки иммунной системы являются потенциальными модуляторами функций яичника и наряду с клетками гранулезы и теки осуществляют своё регулирующее действие через продукцию цитокинов. Цитокины, как универсальные посредники, реализуют взаимодействие иммунной системы с другими системами организма, обеспечивающими сохранение гомеостаза. Было установлено, что TNF α , равно как и IL-1, редуцирует базальную секрецию тестостерона и активность ключевых ферментов стероидогенеза. Xiong Y. и Hales D. (1993) на гранулезных клетках яичника обнаружили сайты связывания TNF α и выявили, что сам цитокин блокировал фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и инсулин-индуцированный синтез прогестерона, ингибировал ароматазную активность и биосинтез прогестерона, эстрогена и эстрадиола [1,3]. Оказалось, что способностью ингибировать ароматазу обладает и IL-1 [2]. Можно полагать, что нарушение репродуктивной функции при патологии половой сферы может быть обусловлено топической гиперпродукцией провоспалительных цитокинов.

Цель исследования – определить взаимосвязь

уровней провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-1 β , IL-6) и антимюллеровского фактора (АМФ) у практически здоровых женщин и при СПКЯ.

Материалы и методы. В исследование были включены 56 женщин с СПКЯ, которые наблюдались амбулаторно в консультативной поликлинике НИИ Эндокринологии МЗ РУз. Контрольную группу составили 18 практически здоровых женщин репродуктивного возраста с нормальным менструальным циклом. Диагноз СПКЯ был установлен на основе Роттердамского консенсуса, т. е. наличие двух из трех критериев: олиго- или ановуляция, клинические признаки гиперандрогенизма и/или поликистоз яичников. Всем пациенткам было проведено клиническое обследование, которое включало определение индекса массы тела (ИМТ), отношения объёма талии к объёму бедра (ОТ/ОБ), гирсутиное число. Оценку гирсутизма (патологическое оволосение в андрогензависимых участках лица, туловища и конечностей) проводили по шкале Ферримана и Голлвея.

Уровень АМФ (тест-системы – Immunotech, ВССО), провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6 и TNF α) (тест-системы – ООО «Цитокин», С.-Петербург) определяли в сыворотке крови методом ИФА. Всем пациенткам проводилось определение в крови лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), тестостерона (Т) на 5 (пролиферативная фаза) и 21 (секреторная фаза) день самостоятельного или индуцированного менструального цикла. Уровень гормонов определяли радиоиммунологическим методом с использованием стандартных наборов IMMUNOTECH (Чехия).

Математическую обработку данных проводили методами вариационной статистики с помощью стандартных математических пакетов прикладных программ с определением средней, её ошибки, критерия t Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Отражением работы репродуктивной системы является нормальный менструальный цикл (МЦ), который в среднем длится 28 дней. Основной функцией МЦ является развитие фолликулов, в которых созревает яйцеклетка. Созревание яйцеклетки – очень сложный процесс, при котором принимают участие иммунная и эндокринная системы. На каждом этапе МЦ происходит изменение синтеза определенных гормонов при активном участии

параметров иммунной системы.

Исследование по изучению уровня АМФ у женщин, составивших контрольную группу, в зависимости от фазы менструального цикла показало, что в сыворотке крови концентрация АМФ достоверно выше в пролиферативную фазу ($P < 0,01$). Как известно, пролиферативная фаза характеризуется преобразованиями, возникающими под влиянием эстрогенов, а секреторная фаза отражает изменения, обусловленные воздействием прогестерона. Снижение уровня АМФ в секреторной фазе указывает, что лютеинизация фолликула оказывает отрицательный эффект на синтез АМФ гранулезными клетками. При изучении уровня цитокинов в сыворотке крови у практически здоровых женщин было выявлено, что в пролиферативной фазе уровень IL-6 составил в среднем $32,9 \pm 1,96$ пг/мл, в этот период наблюдается пик синтеза ФСГ, а в секреторной фазе наблюдалось достоверное снижение данного цитокина – $18,6 \pm 1,6$ пг/мл. ($P < 0,01$).

Нужно отметить, что секреция АМФ прекращается, когда наступает атрезия фолликула. Секреторная фаза характеризуется повышенным уровнем ЛГ ($7,25 \pm 0,9$ мкЕД/мл против $5,15 \pm 1,0$ мкЕД/мл), которая сопровождается повышением IL-1 β ($34,6 \pm 1,76$ пг/мл против $22,4 \pm 1,9$ пг/мл) и TNF α ($32,9 \pm 2,1$ пг/мл против $25,7 \pm 2,5$ пг/мл) с включением процесса апоптоза.

TNF α , IL-1 β и IL-6 оказывают плеiotропный эффект на функцию яичников. Эти цитокины найдены в фолликулярной жидкости, предположительно их продуцируют гранулезные клетки [1,4]. Гонадотропины находятся во взаимосвязи с секрецией цитокинов. Уровень и количественное соотношение цитокинов меняется в зависимости от фазы фолликулогенеза. Процесс овуляции сопряжён с разрывом здоровой ткани на поверхности яичника и происходит в присутствии каскада воспалительных медиаторов, включающих провоспалительные цитокины. С этой точки зрения разрыв овуляторного фолликула в секреторной фазе напоминает воспалительную реакцию, которая может инициироваться и опосредоваться с участием лейкоцитов. Установлено, что под влиянием лютеинизирующего гормона происходит аккумуляция IL-1 β в клетках Лейдига [1].

Уровень АМФ положительно коррелирует с уровнем IL-6 и ФСГ. Таким образом, у практически здоровых женщин репродуктивного возраста

уровень АМФ и цитокинов меняется в зависимости от фаз МЦ, т.е. в зависимости от гормонального фона.

Анализ результатов исследования показал, что у пациенток с СПКЯ уровень АМФ и цитокинов достоверно ($P < 0,001$) повышен по сравнению с данными контрольной группы, и, что особенно важно отметить, нет колебаний в зависимости от фаз менструального цикла. При СПКЯ, характеризующимся нарушением фолликулогенеза, наблюдается повышенный синтез провоспалительных цитокинов. IL-1 вовлечен в многочисленные нейрогуморальные связи гипоталамического узла [2,6]. Анализ результатов исследования уровня IL-1 β у женщин с СПКЯ показал, что синтез данного цитокина повысился в 3 раза по сравнению с данными контрольной группы ($P < 0,001$). IL-6 ключевой медиатор воспаления. Более 30% циркулирующего IL-6 синтезируется в жировой ткани. Циркулирующий IL-6 – повышается с увеличением ИМТ, что связано со снижением инсулин-чувствительности тканей. Пропорционально нарастанию массы жировой ткани в крови увеличивается концентрация IL-6. Нами было проведено исследование по изучению взаимосвязи уровней АМФ и IL-6 с количеством антральных фолликулов у женщин с СПКЯ в зависимости от типа МЦ. Проведённые нами исследования показали, что увеличение числа растущих фолликулов отражаются в 2х-3х-кратном увеличении уровня АМФ. В процессе анализа полученных результатов нами был выведен индекс цитокиновой регуляции IL-6/АМФ, который составил в среднем у женщин контрольной группы $8,7 \pm 1,1$. Уровень цитокинового индекса снижался по мере возрастания уровня АМФ. Так, у пациенток с СПКЯ и нормальным МЦ соотношение IL-6/АМФ был ниже контрольных значений в 2,2 раза ($P < 0,05$), а по сравнению с пациентками с олигоменореей этот индекс был ниже в 3,0 раза ($P < 0,001$). А у женщин с аменореей соотношение IL-6/АМФ было ниже в 4,4 раза ($P < 0,001$). Однако, следует отметить, что среди пациенток с СПКЯ с нормальным МЦ у 4 женщин (13,3%) цитокиновый индекс был выше 8. Т.е. у этих женщин уровень АМФ был в пределах нормальных колебаний. Секреция АМФ уменьшается в фолликулах с увеличением размера и уже исчезает в фолликулах больше 8 мм, где только отмечаются очень слабые следы АМФ. Эта секретирующая

модель предполагает, что, возможно, АМФ может играть роль в начале отбора фолликулов и в селекции доминантного фолликула.

Анализ результатов исследования показал, что уровень АМФ у женщин с СПКЯ с регулярным менструальным циклом повышен в 4,2 раза ($P < 0,001$), у женщин с олигоменореей – более чем в 6 раз ($P < 0,001$), а при аменорее – в 9,86 раза ($P < 0,001$).

АМФ, IL-1 β , IL-6 и TNF α играют важную роль в регуляции функции яичников в репродуктивном периоде. Продукция их гранулезными клетками зависит от стадии развития фолликула, т.е. изменения внутри растущих фолликулов и выработка АМФ, IL-6 и TNF α взаимосвязаны. Таким образом, АМФ, IL-1 β , IL-6 и TNF α можно рассматривать как один из возможных внутрифолликулярных факторов, играющих роль в механизме селекции доминантного фолликула.

Позитивная корреляция между концентрацией АМФ и числом фолликулов у женщин с СПКЯ подтверждается в настоящем исследовании, но не ясно, играет ли АМФ регуляторную роль в развитии фолликула или увеличение концентрации АМФ является следствием увеличения числа антральных фолликулов при СПКЯ. Хотя АМФ показан как ингибитор отбора фолликулов и ФСГ стимулирующего роста фолликулов в исследованиях над животными и клеточных культурах, точная роль АМФ в регуляции развития человеческого фолликула остаётся для дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Дедов И.И., Мельниченко Г.А. Синдром поликистозных яичников: руководство.-М.: Медицина – 2008.- с.
2. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины, СПб. «Фолиант», 2008., 550с
3. Назаренко Т.А. Синдром поликистозных яичников - М.: МЕДпресс - информ, 2005. - 207с.
4. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus statement from the International Diabetes Federation. Diabet Med 2006;23:469–480.
5. Carlsson IB, Scott JE, Visser JA, Ritvos O, Themmen AP and Hovatta O Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. Hum Reprod 2006 21,2223–2227.
6. El-Halawaty S, Rizk A, Kamal M, Aboulhassan M, Al-Sawah H, Noah O, Al-Inany H. Clinical significance of serum concentration of anti-Mullerian hormone in obese women with polycystic ovary syndrome. Reprod Biomed Online. 2007 Nov; 15(5):495-9.

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЕЙ ДЕФЕНЗИНОВ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ

Карпук И.Ю., Новиков Д.К.

УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск

INTERRELATION OF THE DEFENZINOV LEVELS AND METABOLIC ACTIVITY OF NEUTROPHILS AT PATIENTS WITH HYPERSENSITIVITY TO STOMATOLOGIC MATERIALS

Karpuk I.U., Novikov D. K.

EI «Vitebsk State Medical University»

Раскрытие механизмов негативного влияния протезов и протезных материалов на состояние органов и тканей рта и организм человека обуславливает необходимость изучения роли иммунной системы в возникновении непереносимости стоматологических материалов (НСМ).

Уровни дефензинов в ротовой жидкости (РЖ) могут быть маркером для оценки риска и ранней диагностики патологических состояний, связанных с воздействием различных конструкций зубных протезов на слизистую оболочку полости рта (СОПР) [1].

Выделяют два основных подсемейства, а именно – α -дефензины и β -дефензины [2]. α -Дефензины (HNP1, HNP2, HNP3, HNP4) продуцируются нейтрофилами [3], в то время как β -дефензины (hBD1, hBD2, hBD3, hBD4) продуцируются эпителиальными клетками слизистой оболочки [4, 5].

Именно поэтому углубленное изучение влияния неблагоприятного действия стоматологических материалов на уровни α - и β -дефензинов в РЖ вызывает научный интерес, а также взаимосвязь уровня нейтрофильного α -1-дефензина в РЖ и метаболической активности нейтрофилов.

Материалы и методы исследования

1. Клиническая характеристика и принципы

деления на группы пациентов с НСМ.

Проведено обследование 20 пациентов в возрасте от 44 до 68 лет, из них 2 мужчин и 18 женщин, направленные в клинику с жалобами на НСМ. У всех пациентов выявлена причинно-следственная связь между возникновением симптомов непереносимости зубопротезного материала и фактом контакта с ним, а также положительные результаты постановки аппликационных проб (АП).

Во вторую группу (контрольную) вошли 19 пациентов (2 мужчины и 17 женщин) без жалоб на НСМ.

Все пациенты, включенные в исследование, дали и собственноручно заполнили добровольное информированное согласие на участие в работе.

Сформированные группы сопоставимы по возрастной и половой категориям, количеству зубопротезных единиц, виду ортопедических конструкций и срокам пользования ими.

Аппликационное накожное тестирование с растворами солей металлов.

Всем участникам исследования в двух группах осуществлялась постановка аппликационного накожного тестирования с растворами солей металлов в различных концентрациях на вазелиновой основе с использованием в качестве апплика-

тора лейкопластыря «Унипласт Фиксирующий» 5X500 см. Результаты постановки АП оценивались через 3, 24 и 48 часов. Использованы следующие соли NiCl_2 (3%), CrCl_3 (3%), CoCl_2 (1%).

В качестве негативного контроля использовался чистый медицинский вазелин.

Интерпретация результатов кожного тестирования проводилась согласно общепринятой методике [6].

2. Забор и подготовка РЖ для определения уровней α -1- и β -1-дефензинов до и после снятия ортопедических конструкций у пациентов опытной и контрольной групп.

Методика забора и подготовки к исследованию ротовой жидкости.

Проба №1 забиралась в момент обращения и спустя 1 месяц после снятия причинных конструкций (проба №2).

Ротовую жидкость (РЖ) получали с 9 до 11 часов дня путем сплевывания в стерильные пробирки без стимуляции утром, натощак, без предварительной чистки зубов. РЖ хранили в жидком азоте.

Образцы РЖ (1-1,5 мл) центрифугировали при 7000 об/мин в течение 20 минут. Далее пробы фильтровали через фильтры шприцевые Corning® с мембраной из полиэфирсульфона PES, 0,22 мкм, 28 мм, стерильные, в индивидуальной упаковке.

Лабораторные методы обследования.

Определение уровней Human DEF α 1 (Defensin Alpha 1, Neutrophil) и Human DEF β 1 (Defensin Beta1) осуществляли с использованием ИФА тест-систем (номера по каталогу E-EL-H0833 и E-EL-H0995 соответственно).

Постановка НСТ-теста осуществлялась в спонтанном (без антигена) и в индуцированном (с добавлением в пробу специфического антигена) вариантах. В качестве индуктора использована живая взвесь стафилококков [6].

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи STATISTICA 10.0.

Цель исследования: определить взаимосвязь уровней дефензинов и метаболической активности нейтрофилов у пациентов гиперчувствительностью к стоматологическим материалам.

Результаты исследований Определение и клиническое значение α -1- и β -1-дефензинов в РЖ пациентов с жалобами на НСМ до и через 1 месяц после снятия причинных ортопедических конструкций.

У пациентов с НСМ аллергической этиологии (n=20) показатели среднего уровня α -1-дефензина в РЖ до снятия причинных ортопедических конструкций составил 1,56 [1,19; 1,95] нг/мл, а спустя 1 месяц после снятия – 0,61 [0,44; 0,68] нг/мл. Уровень β -1-дефензинов у пациентов данной группы менялся статистически значимо: до снятия 2,9 [2,3; 3,4] нг/мл после снятия ортопедических конструкций, а после снятия – 3,8 [3,1; 4,9] нг/мл. Следовательно, устранение индуктора аллергии снижало уровень α -1-дефензина в РЖ, а уровень β -1-дефензинов – повышало. По-нашему мнению, снижение уровня α -1-дефензина в РЖ может быть связано с гиперчувствительностью нейтрофилов к компонентам дентальных сплавов, так как основным источником α -1-дефензина являются азурофильные гранулы нейтрофилов. Повышение уровня β -1-дефензина после снятия ортопедических конструкций может быть связано с улучшением регенерации эпителия, так как основным источником β -дефензинов является эпителий СОПР.

Уровень α -1-дефензина в РЖ у пациентов контрольной группы (n=19) до снятия ортопедических конструкций составил 0,57 [0,43; 0,69] нг/мл, а спустя 1 месяц после снятия – 0,58 [0,46; 0,73] нг/мл. Исходный уровень α -1-дефензина в этой группе (0,57 нг/мл) был существенно ниже ($P_{\text{Mann-Whitney}} \leq 0,05$), чем в первой группе (1,56 нг/мл), что указывает на влияние ортопедических конструкций на выброс α -1-дефензина нейтрофилами у пациентов с гиперчувствительностью. При исследовании уровня β -1-дефензина в РЖ пациентов контрольной группы были получены следующие результаты: концентрация до снятия составила 3,1 [2,9; 3,6] нг/мл, и после – 3,2 [3,2; 3,8] нг/мл не имели статистически достоверных различий ($P_{\text{Wilcoxon}} > 0,05$), однако отмечалась тенденция к росту уровня β -1-дефензина после снятия ортопедических конструкций. В ходе анализа полученных данных было установлено, что концентрация бета-1-дефензина у пациентов опытной группы была достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p=0,036$), что также может указывать на угнетение мукозального иммунитета у пациентов с гиперчувствительностью к дентальным сплавам.

Поэтому можно судить о том, что уровень α -1-дефензина в РЖ позволяет объективно оценивать влияние зубопротезных материалов на гиперреактивность нейтрофильных лейкоцитов,

а уровень β -1-дефензина – на местную реактивность эпителия СОПР.

У больных первой группы с развитием НСМ, с более выраженной симптоматикой и выявленной сенсибилизацией к ионам металлов по АП уровень α - и β -1-дефензинов в РЖ был выше, чем у пациентов контрольной группы.

По изменению уровня α -1-дефензина в РЖ до и после снятия причинных конструкций можно сделать выводы об участии нейтрофилов в патогенезе гиперчувствительности к дентальным сплавам. У пациентов с НСМ и гиперчувствительностью отмечается снижение концентрации α -1-дефензина в РЖ через месяц после снятия протезов по сравнению с исходным уровнем.

Установлена гиперактивность клеток врожденного иммунитета, а именно нейтрофильных гранулоцитов по результатам спонтанного ($15,3 \pm 4,5\%$) и индуцированного ($55,2 \pm 3,8\%$) НСТ-теста у пациентов с НСМ и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов, что достоверно ($p < 0,05$) различалось с аналогичными показателями пациентов контрольной группы: НСТ-тест спонтанный ($12,4 \pm 1,8\%$) и индуцированный ($41,4 \pm 5,3\%$). Через месяц после снятия ортопедических конструкций у пациентов с НСМ и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов результаты спонтанного ($11,3 \pm 2,1\%$) и индуцированного ($41,4 \pm 4,2\%$) НСТ-теста достоверно ($p < 0,05$) снизились.

Показатели повышенной метаболической активности нейтрофилов у пациентов с жалобами на НСМ и выявленной гиперчувствительностью к дентальным сплавам и их компонентам, определяемой в НСТ-тесте, коррелировали с уровнем α -1-дефензина ($R=0,76$; $p < 0,05$).

Выводы

1. У пациентов с НСМ аллергической этиологии ($n=20$), доказанной аппликационными пробами с солями металлов, показатели среднего уровня α -1-дефензина в РЖ до снятия причинных ортопедических конструкций составили $1,56 [1,19; 1,95]$ нг/мл, а спустя 1 месяц после снятия – $0,61 [0,44; 0,68]$ нг/мл ($P_{\text{Wilcoxon}} \leq 0,05$). Уровень α -1-дефензина в РЖ у пациентов без непереносимости стоматологических материалов ($n=19$) до снятия ортопедических конструкций составил $0,57 [0,43; 0,69]$ нг/мл, а спустя 1 месяц после снятия – $0,58 [0,46; 0,73]$ нг/мл и не имел достоверных отличий ($P_{\text{Wilcoxon}} > 0,05$).

2. Взаимосвязь уровня α -1-дефензина и метаболической активности нейтрофилов ($R=0,76$; $p < 0,05$) отражают развитие иммунного ответа организма у пациентов с гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов. Повышенная концентрация нейтрофильного α -1-дефензина в РЖ и повышение метаболической активности нейтрофилов до снятия причинных ортопедических конструкций, и снижение этих показателей после снятия указывает на возможность участия нейтрофилов в развитии гиперчувствительности организма к компонентам дентальных сплавов.

3. Уровень β -1-дефензина у пациентов с жалобами на НСМ аллергической этиологии ($n=20$) составил до снятия протезов – $2,9 [2,3; 3,4]$ нг/мл и возрос после снятия ортопедических конструкций до $3,8 [3,1; 4,9]$ нг/мл ($P_{\text{Wilcoxon}} > 0,05$). При исследовании уровней β -1-дефензина в РЖ пациентов без НСМ ($n=19$) его концентрация до снятия протезов составила $3,1 [2,9; 3,6]$ нг/мл, а после – $3,2 [3,2; 3,8]$ нг/мл и между ними не имелось статистически достоверных различий ($P_{\text{Wilcoxon}} > 0,05$). В ходе анализа полученных данных было установлено, что концентрация бета-1-дефензина у пациентов с НСМ была достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p=0,036$), что может указывать на угнетение его продукции эпителием у пациентов с гиперчувствительностью к дентальным сплавам и снижение мукозального иммунитета.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kucukkolbasi H, Kucukkolbasi S, Ayyildiz HF, Dursun R, Kara H. Evaluation of hbetaD-1 and hbetaD-2 levels in saliva of patients with oral mucosal diseases. West Indian Med J. 2013 Mar; 62(3):230-8.
2. Sawaki K, Mizukawa N, Yamaai T, Fukunaga J, Sugahara T. Immunohistochemical study on expression of alpha-defensin and beta-defensin-2 in human buccal epithelia with candidiasis. Oral Dis. 2002; 8:37–41.
3. Ji S, Hyun J, Park E, Lee BL, Kim KK, Choi Y. Susceptibility of various oral bacteria to antimicrobial peptides and to phagocytosis by neutrophils. J Periodontal Res. 2007;42:410–419.
4. Premratanachai P, Joly S, Johnson GK, McCray PB, Jr, Jia HP, Guthmiller JM. Expression and regulation of novel human beta-defensins in gingival keratinocytes. Oral Microbiol Immunol. 2004; 19:111–117.
5. Lu Q, Jin L, Darveau RP, Samaranayake LP. Expression of human beta-defensins-1 and -2 peptides in unresolved chronic periodontitis. J Periodontal Res. 2004; 39:221–227.
6. Новиков, П. Д. Иммунодиагностика. – Витебск, 2006. – 250 с.

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛИМФОИДНЫХ И ФАГОЦИТАРНЫХ КЛЕТОК РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПОВ ПРИ ОЖГОВОЙ БОЛЕЗНИ

Земсков В.М.¹, Козлова М.Н.¹, Барсуков А.А.¹, Шишкина Н.С.¹, Земсков А.М.², Алексеев А.А.¹, Демидова В.С.¹

¹ ФГБУ «Институт хирургии им. А. В. Вишневского» Минздрава России, Москва

² Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж

THE STUDY OF LYMPHOID AND PHAGOCYTIC CELLS OF DIFFERENT PHENOTYPES IN BURN DISEASE

Zemskov V. M.¹, Kozlova M. N.¹, Barsukov A.A.¹, Shishkina N. S.¹, Zemskov A. M.², Alekseev A.A.¹, Demidova V. S.¹

¹ Vishnevsky Institute of surgery of the Ministry of Health of Russia, Moscow

² Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

Иммунопатологические нарушения являются важнейшим звеном патогенеза ожоговой болезни. У пациентов с тяжёлой термической травмой выраженные изменения иммунной системы, сопряженные с воспалительной реакцией и иммуносупрессией часто приводят к инфекционным осложнениям [1].

Для уточнения типа нарушений иммунной системы и поиска ещё неизвестных ключевых звеньев этих нарушений при развитии ожоговой болезни у тяжелообожжённых пациентов проведён анализ иммунофенотипических маркеров, которые ранее прицельно не изучались. На разных стадиях ожоговой болезни обследовано 39 пациентов – 19 женщин и 20 мужчин, средний возраст которых – 45 лет. Площадь ожогового поражения составила в среднем (М) 46,7% поверхности тела, из них глубоких ожогов – М=17,5% поверхности тела. Иммунный анализ фенотипа фагоцитарных и лимфоидных клеток у пациентов выполняли в цельной венозной крови (антикоагулянт КЗЭД-ТА) на проточном цитофлуориметре FACSCalibur Becton Dickinson (США) с панелью меченых флуорохромами (PE, FITC) с соответствующими изотипическими маркерами и прописью мето-

дики фирмы Becton Dickinson. Группу сравнения составили 16 здоровых добровольцев. Изучали клетки с экспрессией HLA-DR+ антигенов ГКГС, естественных киллеров и их субпопуляций, Т-киллеров, Т-регуляторных лимфоцитов, клетки с экспрессией L-селектинов, рецепторов комплемента, эндотоксинов бактерий и ЛПС, аналогов рецептора ФНО, а также общие лимфоциты, гранулоциты и моноциты с соответствующими фенотипическими маркерами, различные иммунные индексы, представляющие соотношения ключевых клеток иммунной системы. Результаты показали, что в стадии острой ожоговой токсемии (3-10 день после ожоговой травмы) отмечено преимущественное достоверное возрастание содержания HLA-DR+ ЛФ ($p<0,05$ относительно группы сравнения) максимально до 44,1%. В более поздние сроки ожоговой болезни наблюдался дефицит HLA-DR+ЛФ до 3,6% (М=5,97%). В стадии ожоговой септикотоксемии, через 10-12 дней и более после травмы, у 18% больных возрастало содержание CD 3+/HLA-DR+ Лф на фоне глубокого дефицита HLA-DR+ МН, отражающих степень выраженности системной воспалительной реакции и инфекционно-воспалительного про-

цесса, особенно при развитии сепсиса. Причем, у пациентов с критическими для жизни ожогами более 80% п.т. с сепсисом и летальным исходом данный показатель имел крайне низкий уровень, составляющий 10 - 25% (при норме > 50%). Независимо от стадии ожоговой болезни, отмечено достоверное возрастание CD54+Лф у 61,5% пациентов с наибольшим отклонением числа клеток до 56,8% (норма 13%). Похожие изменения, но у меньшего числа больных касались повышения CD54+Gr, причем в некоторых случаях до очень высоких цифр – 81%, тогда как изменение моноцитарных клеток с экспрессией CD54+Мн, напротив происходило в сторону дефицита, что может свидетельствовать о локальной миграции и аккумуляции лимфоидных и гранулоцитарных клеток в очаги ожогового поражения с формированием местного иммунитета. Обнаруженные достоверные изменения только в сторону повышения в среднем до 28,1% CD56+Мн – у 66,6 % обследованных больных, возможно, были связаны с развитием воспалительно-деструктивного процесса в организме. Известно, что естественные Т-киллеры CD3+CD56+Лф представляют субпопуляцию Т-клеток со свойствами Т-лимфоцитов и естественных киллеров, обеспечивают цитотоксическую функцию (цитоллиз инфицированных или повреждённых клеток организма). Они обладают цитотоксичностью против внутриклеточных микробных и вирусных патогенов и участвуют в регуляции аутоиммунных реакций (иммуносупрессия) [2]. Глубокий дефицит этих клеток мы обнаружили у 50% тяжёлых ожоговых больных на фоне инвазивной раневой инфекции, с преобладанием в тканевых биоптатах полирезистентной микрофлоры и (или) ассоциации различных возбудителей (грибы, Gr+ и Gr- бактерий), наличия эндогенной интоксикации с микробным или аутоиммунным компонентом. Кроме того, на протяжении длительного времени сохранялся глубокий дефицит субпопуляций естественных регуляторных и эффекторных киллеров. Фактически, это очень важные субпопуляции, т. к. первая активно синтезирует цитокины, в том числе и интерфероны, и обладает слабым киллингом, т.е. может быть отнесена к регуляторным НК-клеткам, тогда как вторая имеет мощную цитотоксичность и слабую секрецию цитокинов. У пациентов с площадью ожогов > 50% поверхности тела, выявлено возрастание

гранулоцитов с экспрессией активационных маркеров, в т.ч. с экспрессией аналогов рецепторов семейства ФНО, эндотоксина и ЛПС. Изменения оказывались значительно более выраженными у ожоговых больных с септическим осложнением, преимущественно в сочетании с токсическим повреждением нейтрофилов, тяжёлой эндогенной интоксикацией с микробным компонентом, на фоне выраженного лейкоцитоза со сдвигом формулы крови влево, появлением миелоцитов и юных форм нейтрофилов, возрастанием оксидативного стресса фагоцитов, острофазовых реактантов (СРБ, ПКТ, пресепсин). Нейтрофилы у выше представленной когорты пациентов претерпевали и значительные функциональные изменения. Наблюдалось нарушение подвижности клеток – хемотаксиса и спонтанной миграции (анализ выполняли *in vitro* [3]), причём в ряде случаев у пациентов с тяжёлым сепсисом регистрировался инвертированный характер хемотаксиса, когда нейтрофилы мигрировали от градиента хемоаттрактанта. У некоторых пациентов с ожогами и сепсисом, наблюдали повышенную продукцию нейтрофилами кислородных радикалов при фагоцитозе не опсонизированного зимозана. При этом в норме этот показатель был снижен почти в два раза по сравнению с фагоцитозом опсонизированных частиц. Такое повышение опсонов в крови больных, по-видимому, можно связать с нарастанием бактериальной инвазии, что является прогностически важным признаком. К тому же негативным моментом у пациентов с сепсисом оказывалось также наблюдаемое нами частое и значительное снижение аффинности рецептора CD16 на мембране нейтрофилов (одной из его функций является фагоцитоз опсонизированных патогенов [4]), что также снижает антимикробный потенциал фагоцитов. Как уже отмечалось, иммунные индексы представляют собой соотношения клеток с экспрессией маркеров активации (CD25, HLA-DR), адгезии (CD11b) и апоптоза (CD95) и применяются нами в диагностике нарушений клеточно-молекулярных функций Т-системы иммунитета. Изменения данных соотношений могут свидетельствовать о нарушении активации иммунокомпетентных клеток крови за счёт развития дефицита функциональной активности клеток с истощением их резерва, адгезивной и активационной способности Т-лимфоцитов на фоне повышенной готовности

к апоптозу и позволяет косвенно судить о развитии иммунодефицитного состояния, возможной хронизации и персистенции инфекции, а также отражать наличие острого воспаления [5]. Высокоинформативным оказывается индекс CD4+ \ CD8+ (соотношение Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов). На разных этапах нормально протекающего воспаления количество этих клеток в крови мало меняется и индекс остается > 1,0. Однако при тяжёлом течении воспаления этот индекс падает < 1,0, возможно за счёт миграции в воспалительные очаги Т-лимфоцитов, особенно при развитии воспалительных септических процессов на фоне инвазивной инфекции. Таким образом, применение в обследовании у ожоговых больных мало использованных ранее фенотипических маркеров Т-лимфоцитов и других клеток, ряда иммунных фенотипических индексов, отражающих соотношение различных субпопуляций Т-лимфоцитов с экспрессией соответствующих маркеров, способствует получению крайне важной и принципиально новой информации о состоянии иммунной системы, воспалении, бактериальных осложнениях пациентов. Данный алгоритм обследования широко используется нами для более точной диагностики и прогноза инфекционных осложнений не только

у всех больных с ожогами, но и у других наиболее тяжёлых пациентов Института хирургии им. А. В. Вишневского, т.к. являются важным подспорьем для оценки иммунного статуса и назначения иммунотропной и других видов терапии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Яковлев В.П., Ожоговая инфекция, «Вузовская книга», М, 2010.
2. Zemskov VM, Alekseev AA, Gnatenko DA, Kozlova MN, Shishkina NS, Zemskov AM, Zhegalova IV, Bleykhman DA, Bahov NI, Suchkov SV. Composite Biomarker Panel as a Highly Informative and Reliable Tool for Predicting Septic Complications. // Jacobs Journal of Biomarkers – 2016. – Vol. 2(1): 016, p.1-10
3. Mollison KW, Carter GW, Krause RA. Chemotaxis of human polymorphonuclear leukocytes under agarose: lack of requirement for media protein and differential effects of buffer and agarose type on locomotion. // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. - 1981 Jul;167(3):419-427.
4. Bae M.H., Park S.H., Park C.J., Cho E.J., Lee B.R., Kim Y.J., Park S.H., Cho Y.U., Jang S., Song D.K., Hong S.B. Flow cytometric measurement of respiratory burst activity and surface expression of neutrophils for septic patient prognosis. // Cytometry B. Clin. Cytom.- 2016 Jul; 90(4):368 -375.
5. Титов Л. П., Тарасюк В. В., Черношей Д. А., Жмурская Л. С. Метод оценки Т системы иммунитета у больных гепатитом С и микст-гепатитом В+С с использованием индексов активации и апоптоза. Инструкция по применению, НИИ эпидемиологии и микробиологии, МЗ Беларуси, Минск, 2007.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Козлова О.С.¹, Жестков А.В.¹, Букина Т.В.², Шишковская Т.И.¹

¹ ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара.

² Самарская областная клиническая больница имени В.Д. Середавина, г. Самара

CHARACTERISTICS OF THE DISEASE IN PATIENTS WITH PRIMARY IMMUNODEFICIENCY SAMARA REGION

Kozlova O.S.¹, Zhestkov A.V.¹, Bukina T.V.², Shishkovskaya T.I.¹

¹ Samara State Medical University Russian Ministry of Health, Samara

² Samara Regional Clinical Hospital named after VD Seredavina, Samara

Первичные иммунодефицитные состояния (ПИДС) – врождённые нарушения системы иммунитета, связанные с генетическими дефектами одного или нескольких компонентов

системы иммунитета, а именно – клеточного, гуморального иммунитета, фагоцитоза, системы комплемента [1]. Суммарная частота их встречаемости – около 1:10000 человек. На сегодня

расшифровано около 200 разнообразных генетических дефектов, приводящих к стойким иммунным дисфункциям. Такие дефекты обнаружены в 21 из 23 соматических и половых хромосом, при этом картированы дефектные гены и установлены связанные с ними аномальные продукты и пораженные клетки различных форм ПИДС [3,4]. Е.А. Латышевой [2] приводятся данные о 708 пациентов с ПИДС, проживающих на территории России в 2010 году. Заболевание чаще манифестирует в детском возрасте, и качество жизни таких больных, как правило, низкое, в то время как своевременная диагностика и терапия позволяют значительно улучшить их состояние. В связи с этим актуальным является изучение особенностей течения заболевания у пациентов с ПИДС в Самарской области.

Цель исследования. Выявить особенности анамнеза и клинической картины заболевания у пациентов с диагнозом «первичное иммунодефицитное состояние» в Самарской области.

Материалы и методы. Изучались истории болезни 12 пациентов с диагнозом «первичное иммунодефицитное состояние» в возрасте от 7 до 47 лет. Распределение по полу было следующим: 7 мужчин и 5 женщин. По данным историй болезни нами были проанализированы и систематизированы частота встречаемости разных групп ПИДС, начальные клинические проявления заболевания, первичный диагноз, с которым длительное время наблюдался пациент. Также оценивались частота встречаемости различных синдромов иммунопатологии, характерных для ПИДС, возраст установления диагноза; время, прошедшее с момента появления начальных проявлений заболевания до постановки диагноза, а также наличие патологии в антенатальном анамнезе и частота проведения генетического обследования для подтверждения диагноза.

Результаты. Исходя из выявленных нарушений в том или ином звене системы иммунитета, нами были получены следующие данные: у 8 пациентов (66,7%) заболевание было из группы дефицитов гуморального звена иммунитета, у 4 (33,3%) – из группы комбинированных иммунодефицитов.

В 67% случаев начальными клиническими проявлениями ПИДС были инфекционные заболевания бронхолегочной системы, например, крайне частые ОРВИ (практически каждый месяц), пневмонии и хронический бронхит. Реже встречались инфекционные заболевания других органов и систем (конъюнктивит, менингит, гастроуденит). В 17% случаев в дебюте заболевания наблюдались аллергические заболевания, такие

как аллергический альвеолит, атопический дерматит. Особенностью ПИДС является тот факт, что даже в дебюте заболевания выявлялись поражения одновременно нескольких органов или систем у одного и того же пациента.

Исследуя клинические проявления заболевания у пациентов с ПИДС, было выявлено, что инфекционный синдром, наблюдался у всех больных. В подавляющем большинстве случаев (92%) проявлениями инфекционного синдрома были заболевания органов дыхания. В 58,3% случаев у пациентов был выявлен хронический бронхит, в 50% случаев – рецидивирующая пневмония, в 25% случаев – бронхоэктатическая болезнь, пневмофиброз.

У 68% пациентов встречались заболевания ЛОР-органов, такие как, хронический гайморит, хронический риносинусит, мезоэпителиотимпанит, хронический отит, хронический тонзиллит.

В 33% случаев встречались заболевания органов пищеварительного тракта (хронический гастродуоденит, дисбиоз кишечника). При этом инфекционный синдром у одного и того же пациента чаще всего проявлялся поражением сразу нескольких органов или систем. Инфекционные заболевания при ПИДС характеризуются хроническим, рецидивирующим течением, а также имеет место неполный эффект от лечения.

У 6 пациентов с ПИДС был выявлен аллергический синдром, который проявлялся пищевой аллергией, атопическим дерматитом, бронхиальной астмой, аллергическим альвеолитом и аллергической крапивницей.

В 25% случаев у пациентов наблюдались проявления аутоиммунного синдрома. По данным историй болезни, встречались такие заболевания как ревматоидный артрит, аутоиммунная гемолитическая анемия и тромбоцитопения.

Исследуя встречающиеся у пациентов заболевания, мы не выявили ни одного случая развития лимфопролиферативного синдрома.

В историях болезни данные о первичном диагнозе, с которым наблюдались пациенты изначально, есть только у 75% пациентов, в остальных случаях такие сведения указаны не были. Лишь в 1 случае (8%) в раннем детском возрасте врач-педиатр клинически заподозрил дефект в иммунной системе пациента. После проведенного иммунологического обследования был сразу выставлен диагноз «первичный иммунодефицит» и назначено соответствующее лечение. В 3 случаях (25%) имеющуюся иммунопатологию у часто болеющего ребёнка долгое время трактовали как вторичный иммунодефицит. В 5 случаях (75%) пациентов наблюдали с аллергическим заболева-

нием, которое было первым проявлением ПИДС.

У всех пациентов заболевание манифестировало в раннем детском возрасте. Более чем в половине случаев (58,3%) дебют ПИДС состоялся на первом году жизни ребёнка. При этом средний возраст постановки диагноза «первичное иммунодефицитное состояние» составил 15,6 лет. В 16,7% случаев диагноз был выставлен в возрасте до 5 лет, в 25% случаев – в возрасте от 5 до 10 лет. Большинству пациентов (58,3%) диагноз был выставлен в возрасте старше 25 лет. Время, которое проходит с момента появления начальных клинических проявлений заболевания до момента постановки диагноза, в среднем составило 8,5 лет.

Для подтверждения диагноза молекулярно-генетическое исследование было проведено у 6 пациентов, которое подтвердило мутации соответствующих генов.

Только в 6 историях болезни есть данные о том, как протекала беременность у матери пациента с ПИДС. В 5 случаях из 6 встречалась патология беременности. В 4 случаях беременность протекала на фоне воспалительного заболевания у матери (кольпит, гидраденит, хронический пиелонефрит) и в 1 случае – на фоне гипертонической болезни.

Выводы.

1. В структуре первичных иммунодефицитов в Самарской области преобладают дефекты гуморального звена иммунитета (66,7%).

2. У всех пациентов ПИДС проявляется ин-

фекционным синдромом, чаще всего поражаются органы дыхательной системы (91,7%).

3. Инфекции при ПИДС имеют ряд отличительных особенностей: хроническое, рецидивирующее течение, одновременное поражение нескольких органов и систем, а также неполный эффект от лечения.

4. У всех пациентов с ПИДС заболевание манифестировало в раннем детском возрасте. Однако, диагноз «первичное иммунодефицитное состояние» был выставлен в среднем через 8,5 лет от начала заболевания, что свидетельствует о гиподиагностике ПИДС.

5. У трети пациентов в анамнезе матери была выявлена патология течения беременности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Аллергология и иммунология: национальное руководство / под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009, 291с.

2. Латышева Е.А. Первичные иммунодефициты: состояние проблемы на сегодняшний день. JMF-центры России // Вопросы современной педиатрии. 2013, 12 (6), с. 73-77.

3. Primary Immunodeficiency Diseases. Definition, Diagnosis and Management. Ed. By Rezaei, Aghamohammadi, Notarangelo. 2008, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

4. Российский аллергологический журнал. Приложение. Сборник тематических статей в рамках проекта «Олимп» по основам клинической иммунологии для педиатров, 2010, 32 с.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПЛЕКСОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Колесникова А.Г., Колесников А.Н.

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького г. Донецк.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEX OBTAINED FROM MEDICINAL PLANTS

Kolesnikova A.G., Kolesnikov A.N.

Donetsk National Medical University named after M.Gorky, Donetsk.

Антибиотики, как известно, широко применяются в клинической педиатрии для лечения инфекционной патологии у детей, но они являются таким классом лекарственных средств,

активность которых снижается со временем. При этом растущая резистентность микроорганизмов к антибиотикам усиливается их нерационально избыточным использованием. Всемирная

организация здравоохранения еще в 2000 году подчеркивала, что «наши прадеды жили без антибиотиков, и может случиться так, что и наши правнуки будут жить без них». В 2001 году была разработана Глобальная стратегия по сдерживанию резистентности к противомикробным препаратам, а в 2011 году именно эту проблему объявили темой Всемирного дня здоровья [1]. Несмотря на то, что растения, как лекарственные средства, человечество использует несколько тысячелетий, в медицинскую практику термин «фитотерапия» вошёл благодаря Анри Леклерку (1870–1955) только в начале прошлого века. В отличие от химических лекарственных препаратов, фитопрепараты обладают более широким терапевтическим диапазоном, и их назначение сопровождается более низкой частотой побочных реакций. Президент Ассоциации врачей-интернистов Украины, член-корреспондент НАМН Украины, доктор медицинских наук, профессор В.З. Нетяженко подчёркивает, что фитопрепараты отличаются такими преимуществами, как мягкое терапевтическое действие, комплексное влияние на различные звенья патологического процесса, низкая токсичность, а также возможность длительного применения в различных возрастных группах. По данным ВОЗ, 80% населения земного шара использует природные средства и средства народной медицины. Однако рациональная фитотерапия должна характеризоваться высокой эффективностью и безопасностью, что может быть достигнуто за счёт новых технологий изготовления фитопрепаратов, одной из которых является фитониринг, используемый фирмой Bionorica.

Термин «фитониринг» возник из сочетания phyto- (растение, природа) и -neering (engineering — технология, производства) и означает расшифровку активных компонентов растений с целью создания современных эффективных стандартизованных фитопрепаратов. Группой ученых Донецкого национального медицинского университета были созданы новые уникальные препараты растительного происхождения «БАКПЛАН» (а.с. № 919184).

Термин «БАКПЛАН» возник из сочетания «бак» – (биологические активные комплексы), «план» – (растения). На основе уникальной раз-

работки технологии были получены три типа препарата (БАКСП) из сосновых почек, (БАККД) коры дуба, (БАКТЗ) травы зверобоя.

Запатентованные Комитетом Российской Федерации по патентам и товарным знакам в 1993 году. Фармакокомитет Украины разрешил выпуск медпрепаратов с 23 ноября 1993 года. Препараты прошли все стадии клинических испытаний в ряде ведущих клиник Украины и показали эффективные результаты. Министерство охраны здоровья Украины выдало лицензию № 8876-юр от 13.12.94 года. В ходе разработки препаратов было проведено 56 химических и биохимических исследований, 365 – микробиологических, 826 – иммунологических, 490 – гистологических и морфометрических. Химические и биохимические исследования проводились на современной аппаратуре, методами, предлагаемыми ВОЗ для расшифровки составов вновь полученных биологически активных веществ растительного происхождения и контроля за их стабильностью, это, прежде всего, ИК- и УФ-спектрометрические методы и атомно-адсорбционный метод, а также методы, предлагаемые Х Госфармакопеей (перманганатометрические и др.).

БАК являются растительными фенольными соединениями, содержащими флавоноиды, органические кислоты, альдегиды, сапонины, дубильные вещества и микроэлементы [9,10]. Впервые в микробиологических опытах доказано, что полученные биологически активные комплексы обладают выраженным антимикробным действием в отношении патогенного стафилококка P-209, *Staphylococcus wood* 46, *Staphylococcus aureus* 209~Pr *Staphylococcus aureus* ПВ 259 10/1987, *Escherichia coli* 0111 Stoke W, *Escherichia coli* 055: K 59 (Su 3912/41), *Escherichia coli* 262, *Escherichia coli* 055-345, *Escherichia coli* 0142-438 *Escherichia coli* 075-29, *Shigella flexneri* B-55K, *Shigella flexneri* 6-280, *Shigella Sonael* 106, *Salmonella millesi* 519K гр. *Corynebacterium diphtheroides*, *Corynebacterium diphtherias*. [2] Биологически активные комплексы, приготовленные по разработанному способу, обладали более выраженной антимикробной активностью в отношении грамположительный и грамотрицательной микрофлоры, чем препараты, приготовленные согласно рекомендациям Государственной фармакопеи.

Антимикробное действие биологически активных комплексов, полученных оригинальным способом, зависит от источника сырья (вида лекарственного растения), концентрации в среде, вида возбудителя. По этому признаку испытываемые препараты оказались значительно более эффективными, чем импортные препараты [3]. Как показали исследования, БАК являются нетоксичными веществами, у которых отсутствуют мутагенное и тератогенное действия [7,8], что определено комплексом патоморфологических, иммунологических исследований, а также в опытах острой и хронической токсичности [6]. Установлено, что БАК обладают иммуномодулирующим действием, проявляющимся в способности в дозах 48-1200 мкг/кг повышать, а в дозе 2400 мкг/кг ингибировать величину показателей неспецифической резистентности макроорганизма на 21 день после введения [4]. Эффективность БАК в условиях целостного организма при экспериментальном заражении вирулентной культурой стафилококка и коклюшными микробами зависит от антимикробного, десенсибилизирующего и иммуномодулирующего действий одновременно [5]. Показано, что БАК не теряют антимикробной активности при длительном хранении, для которого не требуют особой упаковки и помещений. Удобны для точной дозировки приготовления различных лекарственных форм. Полученные препараты разрешены для применения в клинике при лечении язвенной болезни желудка и 12-ти перстной кишки, неспецифического язвенного колита (особенно у детей), рожистого воспаления, кожных заболеваний, острого ринита, синусита, уретрита, простатита, гинекологической и офтальмологической патологий, ожогов, благодаря вышеперечисленным свойствам. Как показали проведенные исследования, БАК могут быть использованы в ветеринарии, снижая заболеваемость молодняка. Разработаны следующие формы выпуска:

- порошок (сухой экстракт);
- таблетки 0.1, 0.2 гр;
- мазь 1 %, 3%;
- лосьон;
- косметический крем;
- тонизирующий напиток;
- аэрозоль (противоожоговое).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Абатуров А.Е. Проблема антибиотикорезистентности и возможности фитотерапии в лечении респираторных инфекций у детей. // Современная педиатрия. - Киев: 2014.- 23 с.
2. Акимов Ю.А., Осипчук И.Ф. Действия эфирных масел на патогенную микрофлору органов дыхания // Симпозиум по эфирно масленным растениям и маслам. 4-й. - тезисы докладов.- Симферополь, 1985. - Ч.2. - С.42.
3. Андропова Н.Н. Антимикробное действие фитонцидов некоторых хвойных пород ботанического сада Ужгородского университета // Фитонциды. Бактериальные болезни растений. - Киев, 1985. - Ч. 1. - С. 47-48.
4. Балицкий К.П., Коган В.Е., Козлов Ю.П., Ритов В.Б. Эндогенные перекиси липидов - модификаторы проницаемости биологических мембран // Патология мембранной проницаемости. М., 1975. - С. 13-16.
5. Марчук Н.М., Лещинский Я.С., Лебедева А.Ф. и др. Антимикробное действие фитонцидов и их влияние на общую реактивность организма // Актуальные вопросы курортной фитотерапии. - Пятигорск, 1985. - С. 66-67.
6. Макачук Н.М., Кривенко В.В, Акимов Ю.А, Сгибнев А.К. Изменение общей реактивности организма в процессе трудовой активности под влиянием фитоиноаэрозолей // Фитонциды. Роль в биогеоценозах, значение для медицины. - Киев, 1981. - С.189-192.
7. Тумянн М.А., Дуплищева Т.К., Гордеева М.Е., Синилова П.Г. Количественные функциональные изменения лимфоидных клеток при стимуляции естественного иммунитета // Иммунология. - 1980. - №4. - С. 29-32.
8. Тумянн М.А., Кириличева Г.Б. Изменение 5-нуклеотидазной активности в макрофагах перитонеального экссудата мышей при введении различных иммуностимуляторов // Иммунология. - 1984. - № 5. - С. 29-31.
9. Ушаков А.С, Козинец Г.И, Иванова С.М., Матвиенко В.П. Характеристика структурно-функциональных свойств и энергетического обмена Эритроцитов при космических полетах различной продолжительности // Кос. Биол. - 1982. - № 1. - С. 34-37.
10. Фетхуллина Г.А., Буленков Т.И. Спектофотометрическое определение флавонолов и изофлавонов в настойке софоры японской // Фармация. - №2. - С. 42-44.

ФЕРМЕНТЫ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В ПАТОГЕНЕЗЕ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Косякова Н.И.¹, Захарченко М.В.², Кондрашова М.Н.²

¹ ФГБУЗ Больница Пущинского Научного Центра РАН, г.Пущино

² ФГБНУ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино

ENZYMES OF ENERGY METABOLISM IN THE PATHOGENESIS OF ATOPIC ASTHMA

Kosyakova N.I.¹, Zakharchenko M.V.², Kondrashova M.N.²

¹ FGBHF Hospital of Pushchino Scientific Center RAS, Pushchino

² FSSI Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Pushchino

Ведущая роль МХ установлена в формировании многих патологических состояний: при метаболическом синдроме, сахарном диабете 2 типа, гипертонии, сердечно-сосудистых заболеваниях, ожирении [1.2.]. Другой очень важной проблемой практического здравоохранения стала проблема хронических заболеваний бронхов и легких [3.4.], где одним из ведущих факторов патогенеза хронического воспаления является оксидативный стресс, особенно у курящих и страдающих ожирением пациентов [5.6.]. Центральную роль в развитии этих заболеваний играет нарушение нормальных процессов окисления в митохондриях, метаболизма энергетических субстратов, что формирует дополнительный порочный метаболический круг развития патологических изменений на уровне клеточного дыхания. Работами Кондрашовой М.Н. было показано, что симпатическая регуляция тесно связана с митохондриями через янтарную кислоту и окисляющий её фермент – сукцинат-дегидрогеназу (СДГ), которая играет ключевую роль в энергообеспечении функциональной деятельности клеток [7.8.]. В пределах физиологической нормы симпатическая активация усиливает энергетическое обеспечение физиологических функций за счёт усиления распада жиров и углеводов. Однако симпатическая гиперактивация приводит к дисбалансу между процессами катаболизма и восстановительными биосинтетическими процессами, и это формирует дополнительный порочный метаболический круг развития патологии на уровне клеточного дыхания. Исследования последних лет показали, что СДГ также является и мишенью и посредником действия адреналина/норадреналина в МХ. Активность СДГ избира-

тельно активируется при экспериментально вызванном усилении адренергической регуляции в организме [9.10.11.].

Изучение выраженности таких нарушений при хронических респираторных заболеваниях послужило целью настоящего исследования.

Цель. Изучить показатели активности митохондриального фермента – сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и фермента гликолиза – лактатдегидрогеназы (ЛДГ) у пациентов атопической бронхиальной астмой (АБА).

Материалы и методы. Под динамическим наблюдением в течение 12 месяцев находились 74 пациента (м.-44 и ж.-30) с верифицированным диагнозом АБА, среднетяжёлой, персистирующей. В течение последнего года все больные сохраняли хороший контроль над симптомами АБА на фоне терапии ДДБА/ИГКС. Пациенты 1гр. (n=36) получали форматерол/будесонид (Ф/БД) в режиме гибкого дозирования и 2гр. (n=38) – салметерол/флутиказона пропионат (С/ФП) в режиме постоянного дозирования. Объём форсированного выдоха $69,9 \pm 11,6\%$ D. Суточная вариация пиковой скорости $27,9 \pm 8,1$. Сопутствующие аллергические заболевания регистрировались у 53 пациентов (71,6%). Сенситизация к бытовым аллергенам – у 22 (29,7%) больных, к пыльцевым – у 19 (25,7%) и грибковым аллергенам – у 11 (14,8%). Средний возраст – $44,2 \pm 6,2$ г. (16-72). По длительности заболевания больные распределились следующим образом: до 5 лет – 6 больных (8,1), 5-10 лет – 18 (24,3%), 11-15 лет – 34 (45,9%), свыше 15 лет – 16 (21,6%). Курящих было 37 человек (70,2%), м.-26 (59,4%), ж.-11 (29,8%). Индекс массы тела $34,2 \pm 8,2$ (18,6 – 39,7). При обострении разрешалось пользо-

ваться β -2-агонистами короткого действия. Обострения и ночные симптомы на фоне лечения ДДБА/ИГКС отсутствовали, регистрировались только редкие приступы в дневное время (менее 2 за неделю), которые быстро купировались β 2-агонистами короткого действия. В течение 12 месяцев 2-кратно цитобиохимическим методом – ЦБХ [8.] исследовалась активность ферментов митохондрий и цитозоля в лимфоцитах на мазке крови: - сукцинатдегидрогеназы (СДГ) – проба с добавлением в среду инкубации 5 мМ янтарной кислоты (ЯНТ) - субстрат СДГ; которая является ключевым ферментом, характеризующим окислительную активность митохондрий (МХ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) проба с добавлением 5 мМ лактата (ЛАК), которая участвует в распаде глюкозы до молочной кислоты в анаэробных условиях активность митохондриального фермента (СДГ) и фермента гликолиза (ЛДГ) изучены у пациентов 1 и 2 гр. и в контрольной группе практически здоровых ($n=10$) = 3гр. Статистическая обработка осуществлялась с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0. Различия показателей считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При анализе показателей активности митохондриального фермента СДГ и фермента гликолиза – ЛДГ у пациентов АБА в зависимости от длительности заболевания было установлено, что у пациентов с длительностью аллергического воспаления до 10 лет, не зависимо от проводимой терапии, уже выявлялись нарушения их активности: средние значения активности СДГ составили $2,9 \pm 3,2$ у.е. и одновременно самые высокие значения ЛДГ - $6,8 \pm 7,6$ у.е. ($p < 0,05$).

В контрольной группе СДГ – $1,3 \pm 1,8$ у.е. и ЛДГ – $3,9 \pm 2,9$ у.е. ($p < 0,05$). Такие значения всегда настораживают, так как высок риск, когда активация может перейти в гиперактивацию и в дальнейшем в ингибирование, что и наблюдалось у пациентов, имеющих длительность аллергического воспаления более 10 лет. Была выявлена значительная активация дыхания (активность СДГ) со снижением гликолиза (активность ЛДГ), которое может отражать ослабление восстановительных биосинтетических процессов. Такая активация СДГ, а, следовательно, и активация адренергической системы может быть следствием более выраженной гипоксии.

На фоне терапии С/ФП наблюдалось повышение активности СДГ ($p < 0,05$) и она была выше по сравнению с остальными группами. В группе пациентов с базисной терапией Ф/БД повышение СДГ превышало значения контрольной группы ($p > 0,02$), но были ниже, чем в группе С/ФП. Ак-

тивность фермента гликолиза была выше у пациентов гр 2. Соотношение ЛДГ/СДГ в 1гр оказалось значительно ниже, чем у пациентов 2 и 3гр. наблюдений. Через 2 месяца отмечено дальнейшее постепенное снижение активности СДГ в 1гр. и снижение активности ЛДГ, что указывало на более глубокие нарушения энергетического обмена. Режим дозирования также влиял на активность митохондриальных ферментов и у пациентов 2гр. эти нарушения были менее выражены. Отношение ЛДГ/СДГ выступает в качестве интегрального и более чувствительного показателя энергетического обмена, который изменяется даже при незначительном повышении активности СДГ. Таким образом, митохондриальные ферменты лимфоцитов отражают снижение энергетического обмена у пациентов АБА, а соотношение ЛДГ/СДГ оказалось более чувствительным показателем изменений энергетического обмена. Кроме того, активность СДГ и соотношение ЛДГ/СДГ зависели как от режима дозирования, так и от длительности аллергического воспаления.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Очерки митохондриальной патологии. Сухоруков В.С. М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2011. 288 с.
2. Царегородцев А.Д., Сухоруков В.С. Митохондриальная медицина: проблемы и задачи. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2012; 57: 4(2): 4-13
3. Чучалин А.Г. Пульмонология: Национальное руководство. ГЭОТАР-Медиа, 2014, с.800
4. Курбачева О.М. Бронхиальная астма. Что можно сделать для достижения контроля заболевания // Практическая медицина. 2012. 09. № 6 (61)
5. Bowler R.P Oxidative stress in the pathogenesis of asthma // Curr Allergy Asthma Rep. – 2004. – V. 4, № 2. – P. 116-122.
6. Chung K.F. Molecular mechanisms of oxidative stress in airways and lungs with reference to asthma and chronic obstructive pulmonary disease / K.F. Chung, J.A. Marwick // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2010. – № 1203. – P. 85-91. Diet and asthma: vitamins and methyl donors / Y.Y. Han [et al.] // Lancet Respir. Med. – 2013. – № 1(10). – P. 813-822.
7. Ercan H., Birben E., Dizdar E. A. et al. Oxidative stress and genetic and epidemiologic determinants of oxidant injury in childhood asthma // J Allergy Clin Immunol. 2006. V.118, № 5. P. 1097–1104.
8. Патент Кондрашова М.Н., ОАО ДИОД, Захарченко М.В., Хундерякова Н.В., Маевский Е.И. Пат. № 2007143021/15 (047111). Россия. Цитобиохимический способ определения активности сукцинатдегидрогеназы, окисления эндогенной янтарной кислоты, сигнального действия микромольных концентраций янтарной кислоты, его применение для количественной оценки уровня адренергической регуляции в организме, среда и набор для осуществления способа. 23 Бюллетень Роспатента. 20.08.2009, №2364868
9. Kondrashova M, Zakharchenko M, Zakharchenko A, Khunderyakova N, Maevsky E. Study of Succinate Dehydrogenase and α -Ketoglutarate Dehydrogenase in

Mitochondria inside Glass-Adhered Lymphocytes under Physiological Conditions. The Two Dehydrogenases as Counterparts of Adrenaline and Acetylcholine Regulation. In: Dehydrogenases. ISBN 978-953-307-019-3. Book edited by: Prof. Rosa Angela Canuto. Dept. of Experimental Medicine and Oncology, University of Turin, 2012. Italy.

10. Сухоруков В.С. Проблемы диагностики митохондриальной недостаточности. Клинико-лабораторный консилиум. 2012; 2: 41-47.

11. Кондрашова М.Н., Захарченко М.В. и др. Состояние сукцинатдегидрогеназы в организме – «выведенное из равновесия» или гиперактивность // Биофизика, 2013, том 58, вып. 1, с. 106–116

РЕСПУБЛИКА КАРЕЛИЯ: АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ (НА ПРИМЕРЕ БОЛЬНИЦЫ СКОРОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ Г. ПЕТРОЗАВОДСКА)

Кривонкина Е.А., Юдина С.М., Бакхирев А.М.

Больница скорой медицинской помощи г. Петрозаводск.

KARELIA: ALLERGIC SHEET (FOR EXAMPLE EMERGENCY HOSPITAL IN PETROZAVODSK)

Krивonkina E.A., Yudinа S.M., Bakhirev A.M.

Emergency hospital in Petrozavodsk.

Республика Карелия является одним из субъектов РФ, приравненных к территории Крайнего Севера [4]. Уровень общей заболеваемости северян в 3-5 раз превышает общероссийские показатели, среди них лидирующие позиции занимают респираторные заболевания, болезни сердечно-сосудистой системы, онко- и эндокринная патология, нарушения репродуктивной функции [4,11]. В последнее десятилетие в регионе отмечается высокий рост аллергопатологии, а количество впервые зарегистрированных случаев аллергических заболеваний в Карелии увеличилось в 2,5 раза.

Следует отметить, что структура аллергопатологии в Карелии несколько отлична от общероссийской, где лидирующие позиции занимают бронхиальная астма, аллергический ринит и атопический дерматит [6]. По данным официальной статистики в Карелии, в структуре аллергических болезней преобладает также бронхиальная астма (34,9%), далее следуют крапивница и ангиоотеки (26,2%), аллергический ринит (16,8%), контактно-аллергический (15,2%) и атопический дерматит (6,9%). Наиболее частыми причинами госпитализации в БСМП г. Петрозаводска являются генерализованные формы крапивницы и

ангиоотеки, на долю которых приходится 41,6% и 22,5% соответственно всех госпитализаций по поводу аллергических заболеваний. Высоким остаётся процент госпитализации больных с бронхиальной астмой (30,2%).

Наблюдающийся рост аллергопатологии в мире, в том числе в нашей стране, рассматривают как неинфекционную эпидемию, характеризующую состояние здоровья населения [2]. По данным ВОЗ, в тройку лидирующих патологий по уровню высокого социально-экономического ущерба, негативному влиянию на индекс здоровья и качество жизни пациентов вошли и аллергические заболевания [3]. В связи с этим, изучение причин, механизмов развития аллергопатологии и на основании этого разработка национальных программ, направленных на снижение аллергозаболеваемости, оптимизацию способов оказания специализированной помощи, являются приоритетными направлениями, особенно в регионах с высокой заболеваемостью, таких как Карелия [17].

Географическое расположение Карелии обуславливает негативные природно-климатические условия региона, приводящие к напряжению регуляторных механизмов, снижению резервных

возможностей и формированию дисбаланса в иммунной системе. Этому способствуют перепады атмосферного давления, повышенная активность магнитного поля Земли, длительные периоды низких температур, повышенная влажность воздуха, особенности фотопериодичности, приводящие к световому голоданию в зимний период и световому изобилию в летний, снижение концентрации кислорода и высокая ионизация воздуха, дефицит микроэлементов (фтора, йода, селена, магния, кальция) в воде [4]. На основании медико-экологических исследований климатические условия Европейского Северного региона, в том числе и Карелии, признаны экстремальными [5].

Длительное проживание в условиях Севера приводит к постоянной активации регуляторных иммунных механизмов, мобилизация которых необходима северянам для адаптационной перестройки и правильного функционирования жизненно важных систем организма [13,15]. Иммунологический профиль северян характеризуется частой нейтропенией, дефицитом фагоцитарной активности нейтрофилов, относительным лимфоцитозом, высоким уровнем лимфопрлиферации, низким содержанием в периферической крови функционально активных Т-лимфоцитов, пониженной концентрацией IgA. Т-клеточный дисбаланс развивается вследствие нарушения клонального равновесия из-за длительного преобладания активации клеточного звена иммунитета [9,10,16].

Одним из факторов развития иммунного дисбаланса и, как следствие, высокой распространенности аллергопатологии является неблагоприятная экологическая обстановка региона, характеризующаяся высокой техногенной нагрузкой. Республика Карелия является одним из ведущих регионов по загрязнению воздуха и воды [18]. Промышленные предприятия являются основными источниками таких опасных веществ, как: фенол, формальдегид, диоксид азота, фторид водорода, этилбензол, свинец, соединения цинка и меди, бензапирен, аммонийный и нитратный азот, легко окисляемые органические вещества, нефтепродукты [5,7,8,12].

Как известно, воздействие аэрополлютантов является одной из причин респираторных за-

болеваний, в том числе аллергических [1,2,19], а уровень загрязнённости воды коррелирует с уровнем заболеваемости аллергопатологией и в первую очередь атопическим дерматитом [5].

Так, в трехлетнем исследовании, среди пациентов, госпитализированных с аллергопатологией в стационар БСМП г. Петрозаводска, 86,2% составили жители города, при этом 44,1% пациентов проживали в крайне неблагоприятных условиях экологической обстановки. Более четверти (25,7%) госпитализированных пациентов – работники предприятий с высокой техногенной нагрузкой. Обращает также внимание высокий показатель госпитализированных с аллергическими заболеваниями старших школьников и студентов – 18,4%.

Особенности климатических условий региона в сочетании с антропогенными факторами оказывают своё влияние на формирование определённого спектра сенсibilизации у жителей республики. Неблагоприятные климатические условия Севера не способствуют вегетации [14,20], т. о. растительная флора Карелии представлена в основном «не пылящими» растениями, что ведёт к снижению пыльцевой сенсibilизации у жителей региона. В спектре сенсibilизации у жителей республики пыльцевые аллергены составляют всего 15,8%, в то время, как лидирующую позицию занимают бытовые (43,9%) и эпидермальные (45,5%) аллергены, что ещё раз доказывает значимость влияния антропогенного фактора и техногенной нагрузки региона.

Одним из важных факторов, влияющих на развитие иммунного дисбаланса у населения, является социальный. Длительное проживание в условиях Севера приводит к эмоциональной лабильности, повышению психоэмоционального напряжения, тревожности, нарушениям сна и, как следствие, к высокому уровню табакокурения и употребления алкоголя, высокой инфекционной заболеваемости [19,4]. Из всех пациентов, госпитализированных в БСМП г. Петрозаводска с аллергопатологией, 13,3% – курильщики, 3,6% пациентов – с алкогольной и 0,1% – наркотической зависимостью. Среди пациентов с бронхиальной астмой показатель табакокурения составляет 17,2%.

С учётом изложенного приоритетными задача-

ми снижения заболеваемости аллергопатологией в регионе является разработка мероприятий, направленных на уменьшение профессиональных вредностей и улучшение экологической обстановки региона, оптимизации методов диагностики, лечения и профилактики аллергических болезней, и, как следствие, улучшение качества жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Абраматец Е.А., Ефимова Н.В. Некоторые эпидемиологические аспекты аллергопатологии у подростков промышленных центров// Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 105. – № 6. – С. 216-218.
2. Безрукова Д.А., Джумагазиев А.А., Мясищев А.Б., Шелкова О.А. Распространенность аллергических заболеваний у детей и подростков, проживающих в условиях йодного дефицита и антропогенного загрязнения атмосферы// Экология человека. – 2009. – № 8. – С. 55-60.
3. Богова А.В., Ильина Н.И., Лусс Л.В. Тенденции в изучении эпидемиологии аллергических заболеваний в России за последние 10 лет// Российский аллергологический журнал. – 2008. – №6. – С. 3-14.
4. Доршакова Н.В., Карапетян Т.А. Особенности патологии жителей Севера// Экология человека. – 2004. – № 6. – С. 48-52.
5. Дыбунова Л., Модестов А.А., Терлецкая Р.Н., Торшхоева Р.М. Распространенность аллергических заболеваний у детей, проживающих в различных эколого-географических условиях оригинальные статьи// Вопросы современной педиатрии. – 2007. – Т. 6. – № 4. – С. 12-16.
6. Иванова О.Н. Особенности иммунного и аллергологического статуса у детей разных климато-географических зон РС(Я)// Успехи современного естествознания. – 2006. – № 7. – С. 58-59.
7. Масюк В.С. Состояние иммунной системы детей и подростков республики Карелия// Вопросы современной педиатрии. – 2006. – № 5. – С. 369а.
8. Молокова М.Н., Юдина С.М., Раздорская И.М., Коршикова М.Ю. Роль мониторинга факторов внешней среды в анализе заболеваемости и разработке лечебно-диагностической и фармацевтической помощи больным с аллергопатологией// Медицинская иммунология. – 2009. – Т. 11. – № 4-5. – С. 354.
9. Полетаева А.В., Морозова О.С. Особенности иммунологической защиты и содержание кортизола у человека на Севере// Экология человека. – 2010. – № 5. – С. 42-45.
10. Сергеева Т.Б., Некрасова М.В., Щеголева Л.С., Меньшикова М.В. Соотношение хелперных, супрессорных и киллерных клеток у человека в условиях Полярного региона// Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – № 4 (41). – С. 231.
11. Товкач М.Н. Заболеваемость населения и условия ее снижения: региональный аспект (на примере Карелии)// Вестник Российского государственного гуманитарного университета. – 2008. – № 2. – С. 264-274.
12. Троценко А.А. Эколого-физиологические аспекты неспецифического иммунитета человека в условиях Севера// Вестник Костромского государственного университета им. Н.А. Некрасова. – 2009. – Т. 15. – № 3. – С. 22-26.
13. Хаснулин В.И., Хаснулина А.В. Психоэмоциональные проявления северного стресса и состояние иммунитета у пришлых жителей Севера// Экология человека. – 2011. – № 12. – С. 3-7.
14. Шамгунова Б.А., Заклякова Л.В. Эпидемиология поллинозов: факты, основные тенденции// Астраханский медицинский журнал. – 2010. – Т. 5. – № 2. – С. 10-18.
15. Щеголева Л.С. Резервные возможности иммунного гомеостаза у человека на Севере// Экология человека. – 2010. – № 10. – С. 12-22.
16. Щеголева Л.С. Иммунные реакции у взрослых-северян в условиях стандартной антигенной нагрузки// Экология человека. – 2010. – № 5. – С. 11-16.
17. Haahtela T., Laatikainen T., Alenius H., Auvinen P., Fyhrquist N., Hanski I., von Hertzen L., Jousilahti P., Kosunen T.U., Markelova O., Makela M.J., Pantelejev V., Uhanov M., Zilber E., Vartiainen E. Hunt for the origin of allergy - comparing the Finnish and Russian Karelia// Clinical And Experimental Allergy. – 2015. – № 45 (5). – P. 891-901.
18. Koskinen J.P., Kiviranta H., Vartiainen E., Jousilahti P., Vlasoff T., von Hertzen L., Makela M., Laatikainen T., Haahtela T. Common environmental chemicals do not explain atopy contrast in the Finnish and Russian Karelia// Clinical and Translational Allergy. – 2016. – № 4. – P. 6-14.
19. Vartiainen E., Petays T., Haahtela T., Jousilahti P., Pekkanen J. Allergic diseases, skin prick test responses, and IgE levels in North Karelia, Finland, and the Republic of Karelia, Russia// Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2002. – № 109(4). – P. 643-648.
20. Orovitg A., Guardia P., de la Torre F., Rodriguez R., Villalba M., Salcedo G., Monteseirin J., Conde J. Enhanced diagnosis of pollen allergy using specific immunoglobulin E determination to detect major allergens and panallergens// Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology. – 2011. – № 21(4). – P. 253-259.

ИММУНОПАТОГЕНЕЗ ГЕНИТАЛЬНОГО ЭНДОМЕТРИОЗА

Левкович М.А., Ермолова Н.В., Аванесова Т.Г.

ФГБУ "Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии" Министерства здравоохранения России, Ростов-на-Дону

THE IMMUNOPATHOGENESIS OF GENITAL ENDOMETRIOSIS

Levkovich M.A., Ermolova N.V. Avanesova T. G.

Rostov research Institute of obstetrics and Pediatrics Ministry of health of Russia, Rostov-on-don

Эндометриоз является хроническим воспалительным заболеванием, поражающим приблизительно от 10% до 50% женщин репродуктивного возраста и характеризуется присутствием эндометриальной ткани вне полости матки, дисменореей, диспареунией, хронической тазовой болью [1,2,3]. Особого внимания заслуживает наружный генитальный эндометриоз (НГЭ), так как он приводит не только к инвалидизации, нарушению эмоционального и психического состояния женщины, но часто является причиной бесплодия [4,5,6].

В настоящее время существуют сложности в прогнозировании развития заболевания, в этой связи своевременное выявление и корректное лечение эндометриоза остается крайне затруднительным.

Различные теории, объясняющие патогенез эндометриоза, указывают, на то, что этиология эндометриоза является сложной и многофакторной, включая гормональные, генетические, иммунные компоненты. В то время как ретроградная менструация может быть одним из иницирующих шагов в патогенезе наружного генитального эндометриоза, генетические факторы и факторы окружающей среды, которые инактивируют разрушение эктопических очагов и ремоделируют брюшину, обеспечивают распространение эндометриоидных гетеротопий [7,8]. Известно, что эндометриоз возникает вследствие ретроградного потока эндометриальных клеток через фаллопиевы трубы в брюшную полость во время менструации. Гормональные или иммунологические факторы, очевидно, стимулируют преобразование нормальной ткани брюшины в подобную оболочке матки ткань [9].

Выход провоспалительных продуктов и факторы оксидативного стресса вызывают развитие воспаления, которое приводит к увеличению численности лимфоцитов и активированных макрофагов, продуцирующих цитокины, происхо-

дит окисление ферментов, что способствует эндотелиальному росту [10].

Многими учёными отмечено, что у женщин с эндометриозом часто встречаются аутоиммунные заболевания, этот факт позволяет выдвинуть предположение о возможной роли нарушения иммунного ответа в патогенезе эндометриоза у этих пациенток. Известно, что эндометриоз является заболеванием с нарушением антирепликативных механизмов иммунной системы. У женщин с эндометриозом регистрируется более высокая концентрация активированных макрофагов, снижение компонентов клеточного иммунитета и подавление функции НК-клеток [11]. Выявленное снижение способности лимфоидных клеток к секреции интерферонов подтверждает предположение о нарушении при эндометриозе надзорных функций иммунной системы, регулирующих процессы пролиферации и локализации клеток. Регургитация эндометриальных клеток в брюшную полость запускает воспалительный ответ, вовлекая активированные макрофаги и лейкоциты на местном уровне. Такой воспалительный ответ может вызвать изменения в «иммунном контроле», который обеспечивает ежемесячную утилизацию обломков эндометриальных клеток и препятствует их внедрению и росту в эктопических очагах [12,13].

Чрезвычайная важность локального взаимодействия компонентов иммунной системы и патологически изменённых клеток в развитии системной воспалительной реакции проявляется появлением в перитонеальной жидкости высокого содержания активированных макрофагов, продуцирующих провоспалительные цитокины (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8), фактора роста эндотелия сосудов, фактора роста фибробластов, что является токсичным для сперматозоидов [12].

Считается, что одной из причин повышенной выработки различных воспалительных медиаторов при НГЭ является активация факторов

врождённого иммунитета, в частности, толл-подобных рецепторов (TLRs), связывание которых микробными продуктами приводит к воспалительному ответу, опосредованному продукцией цитокинов, хемокинов, что в дальнейшем определяет характер, направление и интенсивность адаптивного иммунного ответа. Повышение концентрации ЛПС в перитонеальной жидкости может вызвать TLR-опосредованный синтез цитокинов и развитие воспаления тазовых органов, приводя к стимуляции роста эндометриозных гетеротопий [4]. Считается, что эндометриоз-ассоциированное бесплодие может быть обусловлено нарушениями в иммунной системе и опосредоваться несколькими путями. Бесплодие может развиваться из-за повышенного фагоцитоза макрофагами сперматозоидов и яйцеклеток, в свою очередь, повышенное содержание макрофагов в перитонеальной жидкости обусловлено развитием воспаления, вызванного присутствием самих гетеротопий, а активация фагоцитарной активности обусловлена наличием повышенного содержания ионов железа, попадающих в брюшную полость с ретроградной менструацией, наличием антител к фосфолипидам, эндометрию и сперматозоидам. Еще одна причина бесплодия при эндометриозе – количественные изменения в цитокиновой системе на локальном уровне [4].

Выживание и резистентность к обеспечиваемому иммунными клетками апоптозу, осуществляется за счёт маскировки эктопических клеток от иммунной системы, модуляции экспрессии молекул HLA класса I [14]. Как клетки иммунной системы, так и эндометриальные клетки выделяют цитокины и факторы роста, которые вызывают пролиферацию клеток и неоангиогенез; таким образом, способствуя внедрению и росту эктопических очагов. Вследствие чего, возможно, у женщин с эндометриозом отмечается более высокая экспрессия цитокинов и сосудисто-эндотелиальных факторов роста в перитонеальной жидкости, которые способствуют быстрому увеличению эндометриальных клеток и развитию кровеносных сосудов [15].

Альтерация эндометриозных клеток поддерживает антиапоптотический и пролиферативный фенотип, который является основополагающим для выживания эндометриальных клеток в брюшной полости, образования эктопических очагов и для их дальнейшего существования и роста [16].

Существует ряд доказательств, предполагающих стимуляцию антиапоптотических генов и угнетение генов, регулирующих апоптоз в эктопических эндометриальных клетках. Клетки эн-

дометрия у больных с эндометриозом вырабатывают более высокие уровни антиапоптотических факторов. Подавление апоптоза эндометриальных клеток может также быть опосредованно транскрипционной активацией генов, которые обычно поддерживают воспаление, неоангиогенез и пролиферацию клеток [17].

В патогенезе эндометриоза принимают участие гены, кодирующие ферменты детоксикации, рецепторы эстрогена и врожденного иммунитета. Генетические мутации, которые вызывают повреждения клетки, способствуют развитию эндометриоза [18,19].

Таким образом, нарушение иммунного надзора и генетическая предрасположенность позволяют эктопическим очагам расти в aberrантной микросреде, могут также способствовать прогрессированию заболевания. Улучшение понимания патогенеза эндометриоза позволит разработать новые подходы к профилактике, лечению этого заболевания и приведёт к восстановлению репродуктивной функции.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Giudice L. C. Endometriosis//The-New England Journal of Medicine. - 2010. -vol. 362.-n.25. - p. 2389–2398.
2. Carneiro M. M., Filogônio I. D., Costa L. M. P., De Ávila I., Ferreira M. C. Accuracy of clinical signs and symptoms in the diagnosis of endometriosis.- //Journal of Endometriosis.- 2010.-v. 2.-n. 2.- p. 63–70.
3. Burney R. O., Giudice L. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis// Fertility and Sterility. - 2012. - v. 98. - p. 511–519.
4. Адамян Л.В., Демидов В.Н., Гус А.И. и др. Диагностика эндометриоза // В кн.: «Лучевая диагностика и терапия в акушерстве и гинекологии». – М.: ГЭОТАР- Медия.- 2012. – С.409–451.
5. Ярмолинская М.И., Тарасова М.А., Сельков С.А. и др. Наружный генитальный эндометриоз: пособие для врачей / СПб., 2010. – 84 с.
6. Sourial S., Tempest N., Hapangama D. Theories on the Pathogenesis of Endometriosis//International Journal of Reproductive Medicine.-V.2014.-Article ID 179515.- p. 9.
7. Koninckx R., Ussia A., Adamyan L., Wattiez A., Donnez J. Deep endometriosis: definition, diagnosis, and treatment// Fertility and Sterility.- 2012. -v. 98.- p. 564–571.
8. Santamaria X., Massasa E. E., Taylor H. S. Migration of cells from experimental endometriosis to the uterine endometrium//Endocrinology.-2012. - vol. 153. - p. 5566–5574,
9. Burney R. O., Giudice L. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis// Fertility and Sterility.- 2012. v. 98.- p. 511–519.
10. Gupta S., Agarwal A., Krajcir N., Alvarez J. G. Role of oxidative stress in endometriosis// ReproductiveBioMedicine Online.-2006.- v. 13.- n. 1.-p. 126–134.
11. Sikora J., Mielczarek-Palacz A., Kondera-Anasz Z. Role of Natural Killer cell activity in the pathogenesis of

endometriosis// Current Medicinal Chemistry.-2011.- v. 18.- n. 2.- p. 200–208.

12. Kyama C. M., Mihalyi A., P. Simsa et al. Role of cytokines in the endometrial-peritoneal cross-talk and development of endometriosis//Frontiers in Bioscience. - 2009. - v. 1. - p. 444–454.

13. Christodoulakos G., Augoulea A., Lambrinoudaki I., et al. Pathogenesis of endometriosis: the role of defective 'immunosurveillance'// European Journal of Contraception and Reproductive Health Care.- 2007.-v.- 12, n. 3.-p. 194–202.

14. Semino C., Semino A., Pietra G. et al. Role of major histocompatibility complex class I expression and natural killer-like T cells in the genetic control of endometriosis//Fertility and Sterility.-1995.- v. 64.- n. 5.- p. 909–916.

15. Laschke M. W., Giebels C., Manger M. Vasculogenesis: a new piece of the endometriosis puzzle// Human Reproduction Update.- 2011.-v.- 17.-n. 5.- p. 628–

636.

16. Hapangama D. K., Turner M. A., Drury J. et al. Aberrant expression of regulators of cell-fate found in eutopic endometrium is found in matched ectopic endometrium among women and in a baboon model of endometriosis// Human Reproduction.- 2010.- v. 25.- n. 11.- p. 2840–2850.

17. González-Ramos R., Van Langendonck A., Defrre S. et al. Involvement of the nuclear factor-κB pathway in the pathogenesis of endometriosis//Fertility and Sterility.- 2010.- v. 94.-n. 6.-p. 1985–1994.

18. Augoulea A., Alexandrou A., Creatsa M., Vrachnis N., Lambrinoudaki I. Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress//Archives of Gynecology and Obstetrics.- 2012.-p. 1–5.

19. Albertsons H. M., Chatter R. , Farrington P., Ward K. Genome-wide association study link novel loci to endometriosis//PLOS ONE.-2013.- v. 8.- Art.ID e58257.

Влияние генетических маркеров эндотелиальной дисфункции на течение бронхиальной астмы во время беременности

Лучникова Т.А., Приходько О.Б.

ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава РФ, г. Благовещенск

INFLUENCE OF GENETIC MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION ON THE COURSE OF ASTHMA DURING PREGNANCY

Luchnikova T.A., Prikhodko O.B.

Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk

Изучение вопроса взаимногоотягощения бронхиальной астмы (БА) и беременности остаётся актуальным в связи с увеличением распространённости БА у женщин репродуктивного возраста, а, следовательно, повышением риска развития акушерских осложнений, увеличением случаев неблагоприятных перинатальных исходов, заболеваемости новорожденных и детей [1,2,3,4]. Влияние беременности на течение БА до сих пор остаётся спорным вопросом и варьирует в широких пределах: улучшение отмечают 18-69% женщин, ухудшение – 22-48,6%, отсутствие влияния беременности на течение БА – 27-43% случаев [2,3,5,6].

За последние 5 лет в Амурской области выявлено утяжеление течения БА у беременных, что связано с изменением социального портрета женщины, изменением климатических условий

(наводнение 2013 г.) [7,8]. За последние десятилетия проведено множество исследований, касающихся влияния определённых генов на течение БА, в том числе и генов эндотелиальной синтазы (eNOS). В частности, широко обсуждается роль полиморфизма 4a/4b в 4 интроне в утяжелении течения БА [9]. Также хорошо изучена роль полиморфизма eNOS 894 G>T и 786 T>C при развитии сердечно-сосудистых заболеваний и влияние на сосудистый эндотелий. Но при этом отсутствуют работы по определению роли полиморфизма генов метаболизма фолатов на течение БА, хотя, по мнению ряда авторов [9,10], у больных БА отмечается гипергомоцистеинемия, которая также ведёт к повреждению сосудистого эндотелия.

Цель исследования – определить влияние генетических полиморфизмов метаболизма фолатов и эндотелиальной синтазы оксида азота как

на течение БА в период гестации, так и на течение беременности и состояние плода.

Материалы и методы. Материалом для молекулярно-генетического исследования послужили образцы ДНК 52 беременных с БА и 30 беременных без бронхолегочной патологии (группа сравнения). Анализ генетических полиморфизмов осуществляли коммерческими наборами реагентов методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в «режиме реального времени» со снятием кривых плавления продуктов амплификации. Анализ результатов ПЦР проводили в автоматическом режиме программного обеспечения, детектирующего амплификатора ДТпрайм (ООО «ДНК-Технология», Россия). Исследовали следующие полиморфные варианты генов: полиморфные варианты генов ключевых ферментов обмена фолата: MTHFR 677 C>T, MTHFR 1298 A>C, MTR 2756 A>G, MTRR 66 A>G и полиморфные варианты генов эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) 786 T>C, 894G>T. Наблюдаемое распределение полиморфных генов метаболизма фолатов, соответствовало равновесию Харди-Вайнберга во всех группах беременных, как с БА, так и в группе сравнения. Полученные результаты обрабатывались в программе STATISTICA 6.1, методами непараметрической статистики с применением двустороннего точного критерия Фишера, статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. При оценке частоты встречаемости генотипа 677CT и 677TT в зависимости от наличия БА было установлено, что в группе беременных с БА полиморфный генотип встречался в 36 случаях (69,23%) из 52 ($\chi^2=9,95$, $p=0,0025$, $df=1$), что статистически значимо выше, чем в группе сравнения – 10 (33,3%) из 30. При этом в случае наличия патологической гомозиготы в гене MTRRA66G повышается риск развития тяжелой, атопической БА, отношение шансов (ОШ) составило 9,5 (ДИ 1,52;59,05).

При наличии полиморфного генотипа 677TT обострения БА во время беременности отмечаются чаще, чем у беременных с нормальным генотипом 677CC ($\chi^2=4,27$, $p=0,03$, $df=1$). Наличие мутантного аллеля 677T имели 11 беременных, отметивших ухудшение течение БА во время беременности, при этом всего у 3 беременных с аллелем 677T отмечено улучшение БА ($\chi^2=5,11$, $p=0,04$ $df=1$). Относительный риск (ОР) ухудшения течения БА в периоде гестации составил 5,13 (ДИ 0,68;38,62). При этом ОР выше 2,5, т.е. риск очень высокий. ОШ – 6,47 (ДИ 0,54;56,13).

Выявлено, что из всех генов на развитие эндо-

телиальной дисфункции большее значение оказывают гены MTHFR677 и MTRR66. При этом установлено, что у беременных с БА, имеющих полиморфизмы данных генов, достоверно чаще встречаются угроза прерывания беременности, гестоз, хроническая фетоплацентарная недостаточность (ХФПН), хроническая внутриутробная гипоксия (ХВУГ), задержка внутриутробного развития плода (ЗВРП) различной степени тяжести. ОШ развития осложнений беременности при наличии полиморфизма генов метаболизма фолатов MTHFR677 и MTRR66 составляет 6,29 (ДИ 3,44; 11,27) и достоверно выше, чем при отсутствии мутаций в данных генах. Также определено, что чем тяжелее протекает БА во время беременности, тем выше риск развития осложнений беременности, связанных с эндотелиальной дисфункцией. Наши результаты исследования согласуются с данными литературы по исследованию генов метаболизма фолатов и поражением эндотелия сосудов [11].

Наличие мутантного аллеля MTRR66 достоверно влияет на антропометрические показатели новорожденного, при нормальном генотипе MTRR66 AA масса составляет $3359 \pm 77,22$ и рост $51,88 \pm 0,55$, а при наличии в генотипе беременной с БА патологической гомозиготы MTRR66GG масса новорожденного равняется $2880 \pm 124,8$ ($p=0,004$) и рост $49,5 \pm 0,7$ ($p=0,03$). У новорожденных от матерей с БА при наличии полиморфного генотипа MTHFR 677CT и 677TT чаще выявляется перинатальное поражение ЦНС, чем у беременных с БА и нормальным генотипом по данному гену. ОР 1,66 (ДИ 1,09;2,53). ОШ перинатального поражения ЦНС 4,04 (ДИ 1,33;12,27).

При оценке встречаемости полиморфного генотипа 894GT и 894TT и мутантного аллеля 894T выявлено, что мутантный аллель T достоверно чаще встречался у беременных с БА ($p=0,04$), а нормальный генотип 894 GG достоверно реже, чем в группе сравнения ($p=0,01$). Что же касается гена T-786C, полиморфный генотип 786CT достоверно чаще выявляется у беременных с БА ($p=0,03$), также, как и мутантный аллель 786C ($p=0,0006$), что соответствует данным литературы [12]. Доказано, что полиморфный генотип 894TT и мутантные аллели 894G и 786C достоверно ухудшают течение БА и являются маркером тяжелой БА ($p_1=0,0006$; $p_2=0,03$).

Подтверждена роль участия eNOS в формировании дисфункции эндотелия. Выявлено влияние eNOS на развитие осложнений беременности, связанных с эндотелиальной дисфункцией: гестоза, угрозы прерывания беременности, анемии, наличием выкидышей в анамнезе у беременных с

БА. Для этого были определены корреляционные связи: eNOS894/гестоз ($r=0,31$, $p=0,02$); eNOS786/выкидыш в анамнезе ($r=0,29$, $p=0,034$); eNOS894/анемия ($r=0,34$, $p=0,012$); eNOS786/перинатальное поражение ЦНС ($r=0,391$, $p=0,003$); eNOS894/гомоцистеин ($r=0,71$, $p=0,00000$); eNOS894/MTNFR1298 ($r=0,34$, $p=0,01$); eNOS894/MTR66 ($r=0,43$, $p=0,001$). Наличие сильной связи между генами eNOS и генами метаболизма фолатов подтверждает литературные данные о его влиянии на сосудистый эндотелий.

Изученные полиморфизмы генов являются предикторами ухудшения течения БА и большей частоты осложнений беременности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бабцева А.Ф., Приходько О.Б., Романцова Е.Б. и др. Динамика течения легкой персистирующей бронхиальной астмы у беременных // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып. 46. С. 39-43.
2. Приходько О.Б., Бабцева А.Ф., Романцова Е.Б. Роль контролируемой бронхиальной астмы в развитии осложнений беременности и влияние на состояние здоровья новорожденных // International journal on immunorehabilitation. 2009. Т.11, №1. С.38-39.
3. Приходько О.Б. Клинико-функциональные особенности бронхолегочной системы и нейровегетативной регуляции у больных бронхиальной астмой во время беременности и их влияние на потомство: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Благовещенск, 2010. 44 с.
4. Приходько О.Б., Бабцева А.Ф., Романцова Е.Б. Влияние клинико-функциональных особенностей бронхолегочной системы у беременных с бронхиальной астмой на состояние потомства / International journal on immunorehabilitation. 2010. Т. 12, № 2. С.114а.

5. Luchnikova T.A., Prikhodko O.B., Babtseva A.F., et.al. Evolution clinical and epidemiological course of bronchial asthma in during pregnancy // The 11th Sino-Russia forum of biomedical and pharmaceutical science: the conference proceedings. Harbin, 2014. P.166-167.

6. Global Initiative for Asthma (GINA), 2016.-p.147.

7. Лучникова Т.А., Приходько О.Б. Особенности социально-экономического статуса у беременных, больных бронхиальной астмой // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2015. Вып. 56. С. 78-82.

8. Лучникова, Т.А., Приходько О.Б. Взаимосвязь уровня контроля бронхиальной астмы и оксида азота в выдыхаемом воздухе у беременных в Амурской области [Текст] // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2016. – №4. – С. 20-26.

9. Воронина Л.П. Клинико-диагностическое и прогностическое значение исследования дисфункции эндотелия и ремоделирования миокарда при бронхиальной астме [текст.]: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Астрахань, 2012. 48 с.

10. Де Сильва Н.М., Немцов В.И., Трофимов В.И. Маркеры дисфункции эндотелия у больных бронхиальной астмой // Российский аллергологический журнал. 2015. № 2.- с.15-18.

11. Спиридонова М.Г., Трифонова Е.А., Фадюшина С.В. и др. Молекулярно-генетический анализ полиморфных маркеров генов метилентетрагидрофолатредуктазы, эндотелиальной синтазы окиси азота и ангиотензинпревращающего фермента у женщин с осложненным протеканием беременности // Сиб. мед. журн. – 2006. – № 4. – С. 21-25.

12. Пасишвили Т. М. Особенности аллельного полиморфизма гена эндотелиальной NO-синтазы в формировании генетически детерминированной эндотелиальной дисфункции у больных ожирением и бронхиальной астмой // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. -2012.- №22 (141).- С.154-157.

Анализ частоты сенсибилизации к лимону у детей с пищевой аллергией на основании клинических показателей и SIGE-АНТИТЕЛ

Прилуцкий А.С., Лыгина Ю.А.

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького, г. Донецк

ANALYSIS OF FREQUENCY OF SENSITIZATION TO LEMON IN CHILDREN WITH FOOD ALLERGY ON THE BASIS OF CLINICAL INDICATORS AND SIGE- ANTIBODIES

Prylutskiy O.S., Lyhina Y.A.

Donetsk National Medical University named after M.Gorky, Donetsk

Лимон является одним из наиболее употребляемых пищевых продуктов и ценным источником витамина С. Его компоненты широко используются в косметической и парфюмер-

ной промышленности, а также применяются в качестве вкусовых добавок [1]. Всё это приводит к высокой возможности аллергических реакций у сенсибилизированных к нему лиц, в особенности

детей.

Исследования, посвящённые изучению частоты клинических проявлений аллергии к лимону, в мире единичны, а имеющиеся результаты показывают широкую вариабельность данного признака [2,3,4,5]. Согласно отдельным научным публикациям, сенсибилизация к лимону у лиц с отягощённым аллергологическим анамнезом, определяемая методом диагностики sIgE в сыворотке крови, выявлялась с несколько большей частотой [6,7]. Однако, эти исследования также единичны и проводились на малом объёме выборки. Следует отметить также, что проанализированные нами вышеупомянутые исследования (как лабораторные, так и клинические) характеризуются разнородностью обследованных контингентов (исследования проводились у больных бронхиальной астмой, атопическим дерматитом, эозинофильным эзофагитом и др.), различным возрастным составом обследуемых. Кроме того, необходимо учитывать, что большинство доступных нам исследований было проведено более 10 лет назад, и имеются данные о существенных изменениях структуры аллергопатологии в последние годы. Вместе с тем, изучение частоты аллергии и сенсибилизации к лимону проводилось в разных странах с различным пищевым поведением населения.

В свете вышеизложенного, нам представляется актуальным изучение частоты клинических проявлений аллергии к лимону среди детей различного возраста с симптомами атопического дерматита в момент обследования или имеющих проявления его в анамнезе (пищевую аллергию), а также выяснение частоты сенсибилизации к данному продукту у лиц, имеющих вышеуказанную патологию, посредством определения у них уровней специфических IgE-антител.

Материалы и методы. Нами было проведено исследование частоты клинически регистрируемых проявлений аллергии на лимон путём детального опроса с помощью специализированных анкет (7 разработанных нами опросников) и клинического осмотра пациентов. В исследование включены 39 детей в возрасте от 3 месяцев до 17 лет с установленным диагнозом атопический дерматит, имеющих пищевую аллергию. Также нами были исследованы сыворотки крови 317 детей в возрасте от 1,3 месяца до 17 лет с диагностированными кожными аллергическими заболеваниями (пищевой аллергией) в момент обследования

или в анамнезе. Определение уровня sIgE-антител к лимону проводилось с помощью отечественной тест-системы производства ООО «Укрмед-Дон», г. Донецк. Данная тест-система характеризуется высокой чувствительностью (0,05-0,075 МЕ/мл), позволяющей определять sIgE в более низкой концентрации, чем ряд зарубежных аналогов. Концентрация исследуемого показателя определялась, исходя из калибровочной кривой, которая включена в состав тест-системы в готовом виде, и состоит из 5 точек с концентрацией IgE 0; 0,35; 3,5; 17,5; 100,0 МЕ/мл. Статистическая обработка данных выполнялась при помощи программ «Statistica 6.0» и «MedStat». Проводилась проверка распределений выборок показателей на нормальность (тест хи-квадрат, Колмогорова-Смирнова и Лилиефорса, W-тест Шапиро-Уилка). В связи с непараметрическим характером данных были рассчитаны медиана, ошибка медианы, правая и левая границы 95% доверительного интервала (ДИ). Все обследованные были разделены на 5 возрастных групп (до 1 года, 1-2 года, 3-6 лет, 7-11 лет, 12-17 лет). Для множественных сравнений выборок использовались ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса и критерий Данна. Разница в частотах встречаемости различных уровней исследованных показателей оценивалась по критерию Фишера.

Результаты и их обсуждение. В ходе проведённой работы клинические проявления аллергии на лимон были зарегистрированы у 3 из 39 детей с установленным диагнозом атопический дерматит, пищевая аллергия. Таким образом, частота их составляла $7,69 \pm 0,04$ %, что согласуется с данными научных публикаций, в которых этот показатель варьируется в пределах 1,2-23,0 % [2,3,4,5]. Все дети, у которых часть обострений атопического дерматита клинически была связана с употреблением в пищу лимона, имели высокие, диагностически значимые показатели sIgE. В ходе этого же исследования нами параллельно была изучена частота клинических проявлений аллергии к другим цитрусовым (апельсину, мандарину). Удельный вес обследованных, реагирующих обострениями атопического дерматита при употреблении апельсина, составил $23,08 \pm 0,07$ %. Этот показатель был существенно выше количества лиц, реагирующих обострениями при использовании в пищу лимона ($p < 0,05$). В то же время, удельный вес пациентов, у которых часть обострений болезни была связана с употре-

блением мандаринов, не существенно превышал ($p<0,05$) количество аллергиков, у которых обострения атопического дерматита регистрировались при введении в диету лимона.

При проведении последующих исследований установлено, что у 84 пациентов из 317 обследованных лабораторно лиц с проявлениями аллергии или отягощенным аллергологическим анамнезом в сыворотке крови обнаружены повышенные концентрации sIgE к лимону, которые достоверно превышали диагностические их уровни, характерные для здоровых лиц. Полученный результат лабораторных обследований свидетельствует о наличии сенсибилизации к данному продукту у $26,49\pm 0,02$ % пациентов. Следует отметить, что этот показатель оказался несколько ниже по сравнению с данными отдельных научных исследований ($35,9 - 79,0$ %) [6,7], однако достоверно превышал ($p<0,05$) установленную нами частоту клинических проявлений аллергии.

При сравнении частоты сенсибилизации к лимону среди детей различного возраста установлено следующее: в возрастной группе до 1 года диагностически значимые уровни антител выявлены у $50,05\pm 0,13$ % пациентов ($p<0,01$ в сравнении с группами 1-2 года, 3-6 лет, 7-11 лет), среди детей 1-2 лет – у $20,55\pm 0,05$ % ($p<0,01$ в сравнении с группами до 1 года, 3-6 лет), 3-6 лет – у $16,39\pm 0,03$ % ($p<0,01$ в сравнении с группами 1-2 года, 12-17 лет), 7-11 лет – у $29,51\pm 0,06$ % ($p<0,01$ в сравнении с группами до 1 года, 12-17 лет). Следует отметить, что все исследованные дети (22 человека) в возрасте 12-17 лет с установленным диагнозом пищевой аллергии имели лабораторно подтвержденную сенсибилизацию к лимону.

Таким образом, в нашем исследовании установлено, что уровень частоты сенсибилизации к аллергенам лимона у детей с пищевой аллергией достоверно более высок ($p<0,05$), чем частота регистрации среди них лиц, имеющих обострения проявлений аллергии, связанных с употреблением вышеуказанного продукта. Данное обстоятельство, вероятно, связано с тем, что аллергия к антигенам лимона, в зависимости от её интенсивности, может не вызывать клинически выраженных реакций [8]. Кроме того, на выявление связи обострений аллергии с различными продуктами играют роль и другие факторы (полисенсибилизация, особенности клинического течения болезни и др.). Поэтому исследование специфической сенсибилизации с помощью од-

ного из основных показателей, способных диагностировать причину аллергических реакций, а именно – уровней IgE-антител к комплексу аллергенов лимона, играет существенную роль в постановке точного диагноза. Результаты наших исследований показали, что лимон является одним из значимых пищевых аллергенов наряду с другими цитрусовыми, и данное обстоятельство должно учитываться при составлении индивидуальной гипоаллергенной диеты.

Выводы.

1. Определена частота клинических проявлений аллергии к лимону среди детей с пищевой аллергией ($7,69\pm 0,04$ %).
2. Методом определения уровней sIgE-антител установлена частота сенсибилизации к лимону среди детей с пищевой аллергией как в полной выборке ($26,49\pm 0,02$ %), так и в зависимости от возраста.
3. Выявлено наличие у детей с диагностированной пищевой аллергией скрытой сенсибилизации к лимону, которая выявляется только методами лабораторного исследования в отсутствии убедительных анамнестических данных о связях обострений заболевания на этот продукт.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Витковский В.Л. Плодовые растения мира. – СПб : Лань, 2003. – с. 525-530.
2. Kavaliūnas A. et al. Foods that cause adverse reactions and ailments: the EuroPrevall survey results in Vilnius (Lithuania) //Acta medica Lituanica. – 2013. – Т. 20. – №. 1. – С. 33-42.
3. Rance F, Grandmottet X., Grandjean H. Prevalence and main characteristics of schoolchildren diagnosed with food allergies in France //Clinical & Experimental Allergy. – 2005. – Т. 35. – №. 2. – С. 167-172.
4. Kristjansson I. et al. Adverse reactions to food and food allergy in young children in Iceland and Sweden //Scandinavian journal of primary health care. – 1999. – Т. 17. – №. 1. – С. 30-34.
5. Eriksson N. E. et al. Self-reported food hypersensitivity in Sweden, Denmark, Estonia, Lithuania and Russia //Journal of investigational allergology and clinical immunology. – 2004. – Т. 14. – №. 1. – С. 70-79.
6. Дубровина Л. Н. и др. Атопический дерматит у подростков: факторы риска, триггерные факторы и спектр сенсибилизации //Вестник Новороссийского государственного университета. – 2009. – №. 2. – С. 108-114.
7. Agarkhedkar S. R., Bapat H. B., Bapat B. N. Avoidance of food allergens in childhood asthma //Indian Pediatr. – 2005. – Т. 42. – №. 4. – С. 362-366.
8. Muraro A. et al. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: diagnosis and management of food allergy //Allergy. – 2014. – Т. 69. – №. 8. – С. 1008-1025.

ДИСБАЛАНС ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С МИАЛГИЧЕСКИМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТОМ / СИНДРОМОМ ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ

Дидковский¹ Н.А., Огурцов¹ Д.П., Крынский^{1,2} С.А., Гурская¹ О.Г., Компанец¹ И.А., Хайлов² Н.А., Малашенкова^{1,2} И.К.

¹ ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, г. Москва;

² НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва.

IMMUNE DYSREGULATION IN PATIENTS WITH MYALGIC ENCEPHALOMYELITIS/ CHRONIC FATIGUE SYNDROME

Didkovsky¹ N.A., Ogurtsov¹ D.P., Krynskiy^{1,2} S.A., Gurskaya¹ O.G., Kompanets¹ I.A., Hailov² N.A., Malashenkova^{1,2} I.K.

¹ FSBIS FSCC of physical-chemical medicine, Moscow, Russia;

² National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russia.

Миалгический энцефаломиелит/синдром хронической усталости (МЭ/СХУ) – заболевание с неустановленной до настоящего времени этиологией и недостаточно изученным патогенезом. ВОЗ рассматривает МЭ/СХУ как неврологическое расстройство, сопряжённое с дисфункцией иммунной системы и классифицирует его как поствирусный синдром усталости (МКБ-10, ICD G93.3). Для МЭ/СХУ характерны инфекционно-воспалительный, психоневрологический и вегетативно-эндокринный симптомокомплекс [1]. Согласно одной из существующих на настоящий момент теорий, ведущая роль в его развитии принадлежит супрессивному воздействию хронической вирусной инфекции на иммунную систему [2,3]. Известно, что лимфотропные вирусы герпетической группы напрямую поражают клетки иммунной системы, это помогает им не только поддерживать концентрацию своих вирусных частиц, но и длительное время оставаться в пределах организма хозяина, сохраняя способность к реактивации. В случае ВЭБ-инфекции вирус поражает В-лимфоциты и латентно пребывает в них, в то время как вирусы ВГЧ-6 и ВГЧ-7 осуществляют цикл своей жизнедеятельности преимущественно в Т-клеточных линиях [4]. Герпесвирусы обладают широким набором белков, имеющих иммуносупрессивную активность (химерные белки и белки-супрессоры), что позволяет им оказывать угнетающее воздействие на некоторые иммунные реакции, например, блокировать противовирусную активность интерферонов, нарушать распознавание инфицированных клеток цитотоксическими лейкоцитами [5,6,7].

Таким образом, герпесвирусы оказывают многостороннее супрессивное воздействие на иммунную систему больного. Как показывают литературные и собственные данные, у пациентов с МЭ наблюдается наличие вторичных иммунодефицитных состояний, сопряжённых с наличием высокого титра вирусов Эпштейна-Барр и/или ВГЧ-6, длительно персистирующих в организме больного [8,9,10]. Состояние иммунной системы пациентов, страдающих миалгическим энцефаломиелитом, оценивалось во многих работах, однако полученные в них данные являются весьма противоречивыми [11,12]. Актуальной задачей является комплексное изучение иммунных расстройств у пациентов с МЭ и выделение на основании лабораторных и клинических данных различных фенотипов заболевания для разработки дифференцированных подходов к назначению терапии.

Было проведено исследование показателей естественного и адаптивного иммунитета и сывороточного уровня цитокинов у 35 больных МЭ (основная группа, 16 мужчин и 19 женщин, средний возраст $34,5 \pm 5,1$ лет) и у 24 условно здоровых добровольцев. Определение иммуноглобулинов (IgA, M, G) в сыворотке проводили методом ИФА, определение поверхностных маркеров лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD16+, CD11b+ и HLA-DR+) проводили методом проточной цитофотометрии. Определение уровня цитокинов ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 проводили методом ИФА.

Статистическая обработка результатов была проведена при помощи пакета программ Microsoft

Office Excel (Microsoft, 2007). Все численные данные представлены как $M \pm m$. Достоверность различий количественных показателей между группами определялась посредством U-критерия Манна–Уитни. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

В сыворотке крови пациентов с МЭ было установлено повышенное содержание IgA и IgM ($p < 0,001$), а также снижение концентрации IgG ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Результаты цитофлуориметрического исследования, проведенного для сравнения количественного состава субпопуляций лимфоцитов между группой пациентов с МЭ и контрольной группой, показали отсутствие статистически значимых различий в содержании Т-хелперов CD3+CD4+, цитотоксических лимфоцитов CD3+CD8+ и естественных киллеров CD3-CD16+.

Определение сывороточного уровня цитокинов методом ИФА показало, что уровни концентрации ИЛ-2 в исследуемой группе больных МЭ и контрольной группе статистически не различались ($2,02 \pm 0,37$ пг/мл и $2,56 \pm 0,18$ пг/мл соответственно; $p > 0,05$). Уровень ИЛ-6 в группе пациентов с МЭ был достоверно выше по сравнению с аналогичным показателем в группе контроля ($12,88 \pm 1,6$ пг/мл и $3,88 \pm 0,26$ пг/мл; $p < 0,001$). Концентрация ИЛ-8 также существенно различалась: в группе больных МЭ она была значительно выше по сравнению с контролем ($47,95 \pm 11,9$ пг/мл и $13,4 \pm 1,77$ пг/мл; $p < 0,01$). Было показано достоверное повышение концентрации ИЛ-10 в группе пациентов с МЭ относительно данного показателя в контрольной группе ($7,88 \pm 1,5$ пг/мл и $4,45 \pm 0,36$ пг/мл; $p < 0,05$). Уровень ИФН- α в сыворотке больных МЭ также был достоверно повышен ($10,65 \pm 1,75$ пг/мл и $5,28 \pm 0,89$ пг/мл; $p < 0,01$). При этом концентрация ИФН- γ была значительно снижена в группе пациентов с МЭ относительно концентрации этого же цитокина в контрольной группе (114 ± 21 пг/мл и $234,76 \pm 12,09$ пг/мл; $p < 0,001$).

Таким образом, в настоящем исследовании показано наличие дисиммуноглобулинемии, а также недостаточности и дисбаланса ключевых цитокинов у больных миалгическим энцефаломиелитом. Дисфункция гуморального иммунитета у больных МЭ выражалась в понижении у них уровня циркулирующих иммуноглобулинов класса G, что согласуется с литературными данными [13]. Такой дефицит иммуноглобулинов класса G представляет собой недостаточность гуморальной противовирусной защиты. При этом может нарушаться элиминация вирусов, находящихся вне клеток, а также уменьшаться эффек-

тивность антителозависимой клеточной цитотоксичности, что вероятно, вносит свой вклад в патогенез заболевания.

Изменения цитокиновой регуляции адаптивного иммунитета выражались в снижении Th1-цитокина ИФН- γ по сравнению с контрольной группой. Этот цитокин необходим для эффективной противовирусной защиты и вырабатывается преимущественно Т-хелперами 1-го типа и цитотоксическими лимфоцитами CD3+CD8+. Одной из его функций является активация и повышение литического потенциала цитотоксических Т- и ЕК-клеток. Несмотря на то, что уровень этих субпопуляций при МЭ не был изменен, содержание ИФН- γ оказалось сниженным. Это свидетельствует о нарушении функциональной активности данных субпопуляций адаптивного иммунитета. Возможно, эти изменения являются вторичными и в определенной степени обусловлены высоким уровнем репликации лимфотропных герпетических вирусов у пациентов.

В результате проведенных исследований при МЭ было выявлено повышение содержания провоспалительных цитокина ИЛ-6 и хемокина ИЛ-8. ИЛ-6 оказывает эффекты, сходные с таковыми провоспалительными цитокинами ИЛ-1 и ФНО α . В целом ИЛ-6 способствует как обострению хронических, так и хронизации острых воспалительных процессов. Также он обладает противовирусным действием. Одной из мишеней ИЛ-6 являются В-лимфоциты. Этот цитокин участвует в пролиферации (кофактор) и дифференцировке В-клеток, стимулирует выработку иммуноглобулинов всех классов. Несмотря на повышение его уровня, как уже отмечалось выше, у многих больных миалгическим энцефаломиелитом выявлена низкая концентрация IgG. Эти данные отражают выраженный дисбаланс в системе цитокинов при миалгическом энцефаломиелите. ИЛ-8 является мощным медиатором острого и хронического воспаления. Он усиливает хемотаксис фагоцитов (нейтрофилы, эозинофилы и другие клетки системы иммунитета), а также продукцию активных форм кислорода. Предполагают участие ИЛ-8 в хронизации воспалительных процессов.

Таким образом, у больных МЭ выявлены дисбаланс и недостаточность параметров противовирусной защиты. С учётом этого представляется важным проведение иммунореабилитации с применением препаратов рекомбинантных интерлейкинов (ронколейкин) и интерферонов, а также иммуноглобулинов для внутривенного введения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Carruthers B.M., M. I. van de Sande, K. L. De Meirleir,

et al. Myalgic encephalomyelitis: International Consensus Criteria. 2011, Volume 270, Issue 4, pages 327–338.

2. Малашенкова И.К., Дидковский Н.А., Говорун В.М. и соавт. Роль вируса Эпштейна-Барр в развитии синдрома хронической усталости и иммунной дисфункции. *International Journal of Immunorehabilitation*. 2000, 2(1): 102–110.

3. Kondo K. Chronic fatigue syndrome and herpesvirus reactivation. *Nihon Rinsho*. 2007; 65(6): 1043–8.

4. Robertson E, editor. Epstein-Barr virus. 1st edition Vol. 1. Caister Academic Press; Norfolk, England: 2005.

5. Schmiedel D., Tai J., Levi-Schaffer F., et al. Human Herpesvirus 6B Downregulates Expression of Activating Ligands during Lytic Infection To Escape Elimination by Natural Killer Cells. *J Virol*. 2016 Oct 14;90(21):9608–9617.

6. Xiao N, Chen Q, Cai S. Regulation and evasion of host immune responses by Epstein-Barr virus. *Wei Sheng Wu Xue Bao*. 2016 Jan 4;56(1):19–25.

7. Albanese M., Tagawa T., Bouvet M., et al. Epstein-Barr virus microRNAs reduce immune surveillance by virus-specific CD8+ T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Oct 18;113(42):E6467–E6475.

8. Tsai SY, Yang TY, Chen HJ, et al. Increased risk of

chronic fatigue syndrome following herpes zoster: a population-based study. *Eur J Clin*

Microbiol Infect Dis. 2014 Sep;33(9):1653–9.

9. Lerner AM, Beqaj SH, Deeter RG, Fitzgerald JT. IgM serum antibodies to Epstein-Barr virus are uniquely present in a subset of patients with chronic fatigue syndrome. *In Vivo* 2004; 18:101–106.

10. Bansal AS, Bradley AS, Bishop KN, et al. Chronic fatigue syndrome, the immune system and viral infection. *Brain Behav Immun*. 2012 Jan;26(1):24–31.

11. Russell L., Broderick G. Taylor R., et al. Illness progression in chronic fatigue syndrome: a shifting immune baseline. *BMC Immunol*. 2016 Mar 10;17:3.

12. Maes M., Bosmans E., Kubera M. Increased expression of activation antigens on CD8+ T lymphocytes in Myalgic Encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: inverse associations with lowered CD19+ expression and CD4+/CD8+ ratio, but no associations with (auto) immune, leaky gut, oxidative and nitrosative stress biomarkers. *Neuro Endocrinol Lett*. 2015;36(5):439–46.

13. Read R., Spickett G., Harvey J., et al. IgG1 subclass deficiency in patients with chronic fatigue syndrome. *Lancet*. 1988, 1(8579): 241–242.

ОЦЕНКА ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ГЕНЕЗЕ БЕСПЛОДИЯ

Маликова Д.Б., Курбанов Д.Д., Мусаходжаева Д.А.

Андижанский государственный медицинский институт, Ташкентский педиатрический медицинский институт, РНЦ Иммунологии РУз, Андижан, Ташкент, Узбекистан

EVALUATION OF LOCAL IMMUNITY IN INFLAMMATORY GENESIS STERILITY

Malikov D. B., Kurbanov D. D., Musaходжаева D. A.

Andijan State Medical Institute, Tashkent Pediatric Medical Institute, RSC Immunology RUz, Andijan, Tashkent, Uzbekistan

Бесплодным принято считать брак, в котором при регулярной половой жизни и отсутствии контрацепции беременность не наступает в течение 1 года. Частота бесплодия в развитых странах составляет 15–20%, из них на женское бесплодие приходится 50–60%. Наиболее распространёнными формами женского бесплодия являются трубно-перитонеальная (35–60%), эндокринная (ановуляторная) (30–40%) формы, генитальный эндометриоз (25%) [2,5,6]. Хронический воспалительный процесс органов гениталий является одной из важных причин бесплодия. Длительная и часто бессимптомная персистенция инфекционных агентов в орга-

низме 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 [3,4,5]. Активированные макрофаги в очаге воспаления являются источником активных форм кислорода и перекиси водорода и запускают процесс перекисного окисления липидов и повреждение клеточных мембран. Постоянная антигенная стимуляция иммунокомпетентной системы вызывает её

функциональную перегрузку и развитие вторичных иммунодефицитов. Выявлены существенные изменения параметров иммунитета у больных с хроническим сальпингитом в виде активации клеточных и гуморальных провоспалительных реакций, изменения количества Т-лимфоцитов, NK-клеток, макрофагов, титров IgM, IgA, IgG [3,4,6]. Наряду с морфологическими изменениями нарушение иммунных реакций на локальном уровне могут явиться пусковыми механизмами развития бесплодия [4,6].

Целью работы явилась оценка параметров локального 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 консультативную поликлинику №7 г. Андижана. Диагноз хронического воспаления органов гениталий у всех больных был поставлен на основании клинико-инструментального обследования. Верификация инфекций, передающихся половым путем (ИППП), ставился на основании обнаружения в диагностическом титре специфических антител к TORCH-инфекциям класса Ig G и IgM методом ИФА. 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.

Иммунологические исследования проводились изучением количественного определения лимфоцитов с фенотипом CD3, CD4, CD8, CD16, CD95 с помощью моноклональных антител серии LT (Ин-т иммунологии, ТОО «Сорбент», Москва, Россия) в цервикальной жидкости в реакции поверхностной иммуофлюоресценции. Для определения уровня ЦИК использовали тест-набор Ташкентского малого предприятия «Нихол». Метод основан на нефелометрии различной растворимости мономеров иммуноглобулинов в составе иммунных комплексов при наличии в среде полиэтиленгликоля (ПЭГ-6000). Фагоцитарная активность нейтрофилов оценивалась по поглощению лейкоцитами латексных частиц.

Статистическая обработка полученных дан-

ных 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.

У женщин II группы заболевания встречались чаще, чем у женщин I группы. Изучение репродуктивного анамнеза показало, что у 28 женщин II группы было 84 беременностей, из которых 10 (11,9%) закончились своевременными родами, 5 (5,9%) преждевременными родами, 3 (3,6%) искусственным абортom и 66 (78,5%) самопроизвольным абортom. Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что у женщин 2-й группы большое число перенесенных абортов могли стать причиной развития хронических воспалительных процессов в малом тазу.

Из гинекологических заболеваний преобладали нарушение менструального цикла. По данным анамнеза болевой синдром наблюдался несколько чаще у пациенток II-ой группы, также как и дисменорея, имевшая место у каждой 4-й больной этой же группы.

Анализ результатов иммунологического исследования показал, что у женщин с I-й группы в цервикальной слизи наблюдалось некоторое угнетение активности локального иммунитета. Уровень CD3+ и CD4+-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 $43,4 \pm 1,1\%$ ($P < 0,01$), а в I группе – $47,8 \pm 1,2\%$ против $55,2 \pm 1,3\%$ в контроле ($P < 0,05$). Уровень CD4+-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 ($13,9 \pm 0,8\%$) по сравнению с данными контрольной группы ($24,3 \pm 1,0\%$) ($P < 0,01$).

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. По сообщениям различных авторов, большинство лимфоцитов в цервикальной жидкости являются CD8+-клетки, количество которых превалирует

над CD4+-клетками [3,5]. У женщин I группы количество CD8+-клеток был на уровне контрольных значений, в то время как у женщин II группы уровень CD8+-лимфоцитов достоверно снизился – $13,9 \pm 0,8\%$ по сравнению с показателями контрольной группой $27,6 \pm 1,09\%$, ($P < 0,05$).

Хронический сальпингоофарит характеризовался повышенным содержанием лимфоцитов с молекулой апоптоза – CD95+-лимфоцитов. Максимальное содержание наблюдалось у женщин с хроническим сальпингоофарит и с сопутствующими гинекологическими заболеваниями – $31,8 \pm 1,3\%$ против $19,8 \pm 1,1\%$ в контрольной группе ($P < 0,01$), которое косвенно может свидетельствовать об угнетении процессов апоптоза при данной форме заболевания.

Молекула CD16+ в лимфоцитарном гейте экспрессируется, в основном на NK-клетках, а содержание клеток, экспрессирующих её в цервикальной слизи у женщин, составляющих контрольную группу, в среднем было $11,3 \pm 0,5\%$, 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+-клеток было сниженным почти в два раза ($P < 0,01$).

Одной из наиболее важных функциональных характеристик нейтрофилов является их фагоцитарная активность. У женщин с сальпингоофоритом широко распространена функциональная недостаточность фагоцитов. Наши исследования показали, что процентное содержание фагоцитарной активности нейтрофилов в цервикальной слизи женщин первой группы характеризуется достоверным снижением ($P < 0,01$). 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 [4,6]. Повышение концентрации ЦИК являются индикаторами антителозависимой цитотоксичности и повреждения тканей при ряде патологических состояний [5]. Уровень ЦИК в цервикальной слизи 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 [4,5].

При хроническом сальпингоофорите в цер-

викальной слизи наблюдаются существенные изменения многих параметров иммунной системы, причем более выраженные при сопутствующих гинекологических заболеваниях. Установлено достоверное снижение содержания CD4+- и CD8+Т-лимфоцитов. Иммунодефицитное состояние связано с существенными нарушениями в системе неспецифической защиты, являющейся первой на пути проникновения инфекции. Снижение числа CD16+-клеток в основной группе по сравнению с их содержанием у здоровых женщин объясняется следующим – воздействие бактериальных антигенов ведёт к синтезу провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8), которые активируют NK [4]. Выраженное снижение NK-клеток не соответствует этим данным. В то же время в исследованиях [6] 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 NK-клеток, что может объяснить полученные данные. Данный факт приобретает особую значимость при нарушении процессов апоптоза при наличии хронического воспалительного процесса в малом тазу. Выявленные клинко-иммунологические особенности хронических заболеваний органов гениталий отражают характер и глубину хронического воспаления.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гадиева Ф.Г. Взаимосвязь иммунной и эндокринной систем у женщин репродуктивного возраста //Акуш. и гин.-2001. -№1.-С. 11-13.
2. Григорьева Т.Ю. Неравномерное вовлечение в активационный апоптоз Т-Лимфоцитов субклассов CD4+ и CD8+ и высокая чувствительность к нему CD30+ клеток крови здоровых лиц и больных с иммунопатологией //Иммунология. -2002.-№5.- С.262-267.
3. 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.
4. Калинина Н.М., Давыдова Н.И., Эллиниди В.Н. Показатели местного и гуморального иммунитета у женщин с нарушением репродуктивной функции //Мед. иммунология.-2002.-Т.4, №2.-С. 276-277.
5. Miorova A.B., Markina L.P., Derevina N.A. Immunological response of patient with chronic salphingoophoritis tointerference currents used in electrical sleep and balneotherapy //Vopr. Kurortol. Fizioter. Lech. Fiz. Kult. -2004.-May-Jun.-P.32-35.
6. Molander P., Cacciatore B., Sjoberg J. Laparoscopic management of suspected acute pelvic inflammatory disease //J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc. 2000.-Vol. 7, №1. -P. 107-110.

РОЛЬ ПЕРИОСТИНА В ФЕНОТИПИРОВАНИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Масальский С.С., Уханова О.П., Калмыкова А.С.

Ставропольский государственный медицинский университет, г. Ставрополь

THE ROLE PERIOSTIN IN PHENOTYPING OF ALLERGIC BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN

Masalskiy S.S., Ukhanova O.P., Kalmykova A.S

Stavropol State Medical University

Бронхиальная астма – самое частое хроническое заболевание лёгких в детском возрасте. Распространённость варьируется в зависимости от региона. Так, в Великобритании БА составляет, по данным EAACI, более 20%, в России – 7% [1]. В последние годы в аллергологии появилось понимание гетерогенности патогенеза бронхиальной астмы (БА) и важности разделения БА на фенотипы. Общепринято выделять неаллергическую и аллергическую астму. При первой преобладают цитокины, характерные для Th1 – воспаления, а именно ИЛ – 1, ФНО альфа; при атопической Th2 – зависимой БА ключевыми цитокинами являются ИЛ – 4, ИЛ – 13, ИЛ – 5 [2]. До настоящего времени терапия БА не зависит от типа воспаления и сводится к назначению глюкокортикоидной терапии (ГКС). Понятно, что максимальная эффективность ГКС будет достигаться при аллергической БА. Множество исследований показали, что ГКС достоверно снижают смертность от БА. Ряд работ говорит о снижении скорости прогрессирования и ремоделирования бронхов при применении ГКС, но, несмотря на это, более половины пациентов недостаточно контролируют своё заболевание и в перспективе обструкция становится фиксированной. Этот процесс может быть связан с неполным подавлением эозинофильного воспаления или с присоединением другого типа воспалительного ответа. Поэтому ряд пациентов с эозинофильной БА будут требовать более высокие дозы гормонов, а при других эндотипах БА показана альтернативная терапия ингибиторами лейкотриенов и ингибиторами фосфодиэстеразы. Новая возмож-

ность терапии астмы — это разработка моноклональных антител, направленных против ключевых цитокинов воспаления. В настоящее время в России зарегистрировано единственное моноклональное антитело – омализумаб, блокирующее IgE и показанное при аллергической астме. В 3 фазе находится разработка моноклональных антител против ИЛ – 4, ИЛ – 5, ИЛ – 13. При клинической апробации этих препаратов исследователи столкнулись с тем, что препараты показывают максимальную действенность у пациентов с высоким уровнем аллергического воспаления. Следует учитывать, что стоимость препаратов чрезвычайно высока. Возникла необходимость разделения пациентов с внешне однородной аллергической астмой на группы для подбора лечения. Маркерами эффективности терапии меполизумабом (анти – ИЛ – 5), омализумабом (анти – IgE), лебрикизумабом (анти – ИЛ – 13) стала эозинофилия мокроты. Сложность получения бронхиального смыва мокроты диктует необходимость поиска неинвазивных маркеров воспаления. Среди 3 общепринятых маркеров: эозинофилия крови, выдыхаемый оксид азота (FeNO) и периостин, максимальную корреляцию с эозинофилией мокроты показал последний [3].

Периостин – неспецифический белок, впервые был открыт как маркер повреждения миокарда при инфаркте в эксперименте. Его уровни были значимо изменены при некоторых опухолях, миеломной болезни, хроническом почечном повреждении. Через год доказано, что фибробласты лёгких у больных с бронхиальной астмой секретируют периостин (П) в ответ на стимуляцию ИЛ

– 4/ИЛ – 13, независимо от трансформирующего ростового фактора β . Интеллектин 13 плеiotропный Th2 цитокин, активирующий Т – клетки, натуральные киллеры, эозинофилы, базофилы, тучные клетки и активированные макрофаги. Повышение уровня ИЛ – 4 и его структурного аналога ИЛ – 13, ИЛ – 5 (колониестимулирующего фактора эозинофилов) наблюдается у больных астмой и связано с 3 генами: POSTN (периостин), SERPINB2 и CLCA1. Считается, что фибробласты являются главными продуцентами периостина, хотя впервые ген, отвечающий за продукцию, периостина найден в эпителии бронхов. При контакте с ИЛ 13 бронхиальные эпителиальные клетки экспрессируют nRNA, служащую переносчиком информации, и фибробласты продуцируют периостин, который участвует в развитии субэпителиального фиброза у этих больных, связывая фибронектин, коллаген 5 типа, тенасцин – С [4]. Причем уровень периостина коррелирует с толщиной ретикулярной базальной мембраны у больных астмой. Максимальная концентрация периостина обнаружена при развитии так называемой «фиксированной обструкции», т.е. бронхиальном ремоделировании [5].

Материалы и методы. Обследован 91 ребёнок в возрасте 12 – 17 лет. Из них – группа 1 – среднетяжелая БА – 29 чел., группа 2 – больные с лёгкой БА – 42 чел., группа 3 (здоровые) – 20 чел. Все диагнозы пациентов были подвергнуты ревизии в соответствии с рекомендациями GINA 2016 и Федеральных клинических рекомендаций по лечению атопической бронхиальной астмы 2015. Аллергический характер БА и уровень сенсибилизации пациентов, доказывался определением общего и специфического IgE. Кожные тесты, методом prick – test не проводились в связи с поступлением пациентов в стадию обострения и оценивались ретроспективно в рамках сбора анамнеза. Измерение общего IgE всем детям проводилось с помощью иммуноферментного анализа. Для определения уровня сывороточного периостина использовался полуручной «сэндвич» – метод ELISA. Использовалась тест – система производства Cloud – Clone corp. США, Хьюстон, ELISA – Kit – for – Periostin – (POSTN) – E97339Hu.

Статистический метод. Все данные были проверены на нормальность распределения и оказались непараметрическими. Для них определены медиана – Me, квартили (Q; Q), сравнения между 3 группами проведены с помощью критерия Кра-

скела – Уоллиса (H), являющийся непараметрическим аналогом однофакторного дисперсионного анализа, для сравнений между 2 группами вычислялся критерий Манна – Уитни (U).

Результаты и обсуждение. В группе с астмой (71 чел.) уровень периостина Me – 3,95 (Q1 – 1,92; Q3 – 7,8) нг/мл, у детей из группы сравнения (20 чел.) медиана Me – 0,52 (Q1 – 0,22; Q3 – 1,2) нг/мл. Различия между группами здоровых и больных определяли с помощью критерия Мана – Уитни, $U = 1282,5$, $Z = 5,7$, $p = 0,00$. ($p=0.05$). Т. о. концентрация сывороточного периостина у больных с БА значимо выше, чем у здоровых детей аналогичного возраста.

При изучении показателя у пациентов, страдающих БА, обнаружили следующие закономерности. В группе 1 (среднетяжелая БА) концентрация периостина составила Me – 5,32 (Q1 – 2,71; Q3 – 9,32) нг/мл, в группе 2 (лёгкая БА) Me – 3,59 (Q1 – 1,83; Q3 – 5,89) нг/мл, различия между группами оказались незначимы. $U = 739,5$, $Z = 1,73$, $p = 0,084$, ($p=0.05$).

Проведено сравнение концентрации сывороточного периостина между 3 группами пациентов со среднетяжелой, лёгкой БА и контрольной группой. Полученные данные отличались непараметрическим распределением. Для сравнения различий медиан концентраций в 3 независимых группах использовался критерий Краскала – Уоллеса. Сравнивалась среднетяжелая астма с Me1 5,32 нг/мл, лёгкая с Me – 3,59 нг/мл и группа контроля Me – 0,52 нг/мл. Различия значимы $H = 34,1$ $df = 2$, $p = 0,00$, ($p = 0,05$). Это доказывает возможность применимости у детей периостина, как маркера аллергического воспаления и достоверное повышение его у больных БА независимо от степени тяжести. Подобное свойство может использоваться в дифференциальной диагностике состояний, сопровождающихся затяжным кашлем, независимо от степени тяжести заболевания.

Отсутствие различий концентрации периостина в группах лёгкой и среднетяжелой астмы, вероятно, указывает неоднородность популяции больных с аллергической астмой. Разумеется, нет идеального маркера воспаления, наше понимание степени тяжести и оценка её по уровню симптомов не всегда адекватна уровню воспаления. Поэтому терапия с учётом активности воспаления обычно эффективнее, чем основанная на симптомах.

Нельзя утверждать, что больные с «трудной» в терапии астмой имеют причиной высокое эозинофильное воспаление. Дети с высоким уровнем Th2 – воспаления встречаются в одинаково часто в обеих группах. В группе эозинофильной «трудной» астмы терапия, основанная на увеличении дозы ГКС и добавлении омализумаба будет эффективна. Для групп детей с «низким» уровнем Th2 – воспаления частые симптомы БА могут быть связаны с другими причинами и требуют дополнительного диагностического поиска и пересмотра терапии. Вероятно, для пациентов с низким периостинем сыворотки необходим пересмотр терапии и подбор альтернативных препаратов, направленных, например, на нейтрофильное воспаление. Тем более нецелесообразны моноклональные антитела против IgE, ИЛ – 13, ИЛ – 5, несмотря на формальное наличие в диагнозе атопического заболевания.

Заключение. Ценность определения марке-

ров ИЛ – 13 заключается в дифференцированном подходе к терапии, что в конечном итоге скорее всего позволит повысить эффективность лечения и сохранить ресурсы здравоохранения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Asher M. I. The asthma epidemic - global and time trends of asthma in children / Akdis C. A. // Akdis C. A Agache I. (ed.) Global atlas of asthma. EAACI- 2013. P 7-9.
2. Xie M. A global perspective in asthma: from phenotype to endotype / M. Xie, S. E. Wenzel // Chinese Medical Journal. – 2013. – Т. 126. – №. 1. – С. 166 – 174.
3. Clinical utility of asthma biomarkers: from bench to bedside / S. J. Vijverberg [et al.] // Biologics. – 2013. – Т. 7. – С. 199 – 210.
4. Roles of periostin in respiratory disorders / K. Izuhara [et al.] // American journal of respiratory and critical care medicine. – 2016. – Т. 193. – №. 9. – С. 949 – 956.
5. Периостин – новый маркер tH2-фенотипа бронхиальной астмы / Масальский С.С. [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2015 – Т.9 – №3(1). – С.137-139.

ХАРАКТЕРИСТИКА АУТОАНТИТЕЛ К ПРОГЕСТЕРОНУ У ЖЕНЩИН С РАННЕЙ ПОТЕРЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Менжинская И.В., Ванько Л.В.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва

CHARACTERISTICS OF AUTOANTIBODIES TO PROGESTERONE IN WOMEN WITH EARLY PREGNANCY LOSS

Menzhinskaya I.V., Vanko L.V.

Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V.I. Kulakov, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

В настоящее время большой научный интерес представляет исследование гиперчувствительности к прогестерону, ее ассоциации с продукцией антипрогестероновых антител и нарушениями репродуктивной функции у женщин [1, 2, 3]. Еще в первой половине XX века был введен термин «гормональная аллергия» и предложены кожные тесты для определения чувствительности к яичниковым гормонам у пациентов с эндокринной патологией. Нарушенные иммунные ответы на половые гормоны встре-

чаются более часто при воздействии избытка женских половых гормонов, например, во время беременности, менструального цикла, приема гормональных контрацептивов, или эстрогенов окружающей среды. Гиперчувствительность к прогестерону играет важную роль у женщин с предменструальным синдромом (ПМС) и связанными с ним кожными заболеваниями [1]. С помощью внутрикожных тестов с женскими половыми гормонами, проведенных во II фазу менструального цикла, гиперчувствительность к

прогестерону также была выявлена у женщин с ранними привычными потерями беременности [2]. Десенсибилизирующая терапия эффективно облегчала симптомы ПМС, а также оказывала положительный эффект на повышение шансов успешной беременности у женщин с привычным невынашиванием [1, 2, 4].

В 2006 году с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) у женщин с ПМС была продемонстрирована возможность поликлональной продукции антител к стероидам, несмотря на малый размер их молекул [3]. В дальнейшем с использованием ИФА была найдена высокая распространенность антител (IgM, IgG) к прогестерону (42%) у пациенток с привычным невынашиванием беременности [5]. Женщины с антителами к прогестерону (аПГ) характеризовались вне беременности отягощенным аллергологическим анамнезом, высокой частотой аутоиммунных заболеваний, дисменореи и гипоплазии эндометрия, а во время беременности высокой частотой гипоплазии хориона в I триместре и развитием плацентарной недостаточности.

Цель настоящего исследования - охарактеризовать антитела к прогестерону у женщин с ранней потерей беременности по распространенности, классам иммуноглобулинов, подклассам IgG и авидности.

Материалы и методы. Исследование антител к прогестерону в сыворотке крови у женщин с ранней самопроизвольной потерей беременности проводили с помощью методики непрямого твердофазного ИФА, включая определение классов иммуноглобулинов (M, G, A), подклассов IgG (1-4) и авидности антител. В ИФА использовали полистирольные микропланшеты (Nunc MaxiSorp, Thermo Fisher Scientific, Дания) с иммобилизованным на полистироле конъюгатом прогестерон-3-БСА (Sigma Aldrich, США), приготовленные как описано ранее [6]; конъюгаты мышиных моноклональных антител к иммуноглобулинам человека классов M, G, A с пероксидазой хрена (Sigma Aldrich; Вектор-Бест, Россия) или к IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека с биотином и конъюгат стрептавидина с пероксидазой хрена (Sigma Aldrich) в рабочих разведениях. Сыворотки крови исследовали в разведении 1:100 однократно в дублях, инкубации проводили на встряхивателе при $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 1 часа, а с конъюгатом стрептавидина - в те-

чение 30 минут. В каждую постановку включали положительные и отрицательные контроли. Оптическую плотность (ОП) измеряли на фотометре MULTISKAN EX (Thermo Electron (Shanghai) Instrument Co., Китай) при длине волны 450 нм. Результат считали положительным, если средняя ОП исследуемого образца превышала более чем на три стандартных отклонения среднюю ОП сывороток здоровых женщин.

Авидность антител определяли с использованием диссоциирующего буфера (Вектор-Бест), удаляющего низкоавидные антитела с твердой фазы после образования комплекса антиген-антитела, и последующим расчетом показателя индекса авидности (ИА, %) по формуле: $\text{ИА} = \text{ОП}_1 \times 100 / \text{ОП}_2$, где ОП_1 — ОП в лунке, обработанной диссоциирующим буфером (при $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 15 минут); ОП_2 — ОП в лунке с тем же образцом без обработки.

Исследуемую группу составили 90 женщин с ранней потерей беременности в сроке $7,1 \pm 2,2$ недель (средний возраст $32,5 \pm 4,9$ лет), у 42 (46,7%) пациенток наблюдались 2 и более последовательные потери беременности (привычный выкидыш). Контрольную группу составили 45 здоровых женщин (средний возраст $31,2 \pm 3,1$ лет) с 1 или 2 физиологическими беременностями в прошлом. Из исследования исключались пациентки с тяжелыми соматическими и аутоиммунными заболеваниями, пороками развития половых органов, носительством хромосомных перестроек, генетическими аномалиями плода, выраженными эндокринными нарушениями.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью U-теста Манна-Уитни, теста Стьюдента, расчета коэффициента корреляции Пирсона, построения кривой операционной характеристики (ROC-кривой) с оценкой чувствительности, специфичности и площади под кривой (AUC).

Результаты и обсуждение. У пациенток с ранней потерей беременности наблюдалась высокая частота выявления аПГ не только классов IgM (40%) и IgG (40%), но и IgA (37,8%). Антитела к ПГ у пациенток выявлялись значительно чаще, чем у здоровых женщин вне беременности (8,9-13,3%; $p < 0,01$). При этом были получены высокие значения отношения шансов для аПГ: IgG (OR=6,83; 95% ДИ[2,25-20,73]), IgM (OR=4,33; 95% ДИ[1,66-11,29]), IgA (OR=4,86; 95% ДИ[1,75-13,51])

($p < 0,001$). Медианные уровни IgM, IgG и IgA у пациенток были значимо выше, чем у здоровых женщин ($p < 0,05$). Значительной корреляционной связи между уровнями IgM и IgG или IgA не обнаружено ($p > 0,05$), между уровнями IgG и IgA выявлена прямая корреляционная связь средней силы ($r = 0,3901$; $p = 0,0081$).

По данным ROC-анализа, определение IgG и IgA к ПГ при ранней потере беременности показало высокую диагностическую точность: чувствительность 42,2% и 60%, специфичность 95,6% и 86,7%, значения AUC 0,702 и 0,779 ($p < 0,001$). Данные показатели при определении IgM были ниже, соответственно, 40%, 82,2% и 0,621 ($p = 0,0429$). Диагностическая точность при определении IgA была значимо выше, чем при определении IgM ($p = 0,0406$), и не отличалась от таковой при определении IgG ($p = 0,1208$).

Известно, что сывороточный IgA является плохим активатором комплемента по сравнению с IgM и IgG, а его роль остается не совсем ясной. С одной стороны, IgA может специфически связываться с антигеном, а с другой стороны, при ограниченном количестве последнего IgA может ингибировать активацию комплемента блокированием связывания IgM и IgG с антигеном. Показано, что IgA к фолликулостимулирующему гормону (ФСГ) ассоциируются с гинекологическими заболеваниями, такими как эндометриоз и синдром поликистозных яичников, а IgA к хорионическому гонадотропину человека (ХГЧ) - с невынашиванием беременности [7, 8].

При исследовании распределения аПГ по подклассам IgG у 50 пациенток, положительных на аПГ, были обнаружены антитела всех четырех подклассов IgG: IgG1 и IgG2 выявлялись значимо чаще (у 90% и 54%) по сравнению с IgG3 и IgG4 (у 20% и 32%) ($p < 0,05$); а IgG1 - чаще, чем IgG2 ($p = 0,0002$). Наиболее часто встречались только IgG1 (в 36% случаев) и IgG1 в сочетании с IgG2 (в 28% случаев). Ранее показано, что среди антител к ХГЧ у женщин с невынашиванием беременности также преобладали IgG1 и IgG2 [8].

Как известно, IgG1 и IgG2 различаются по их эффекторным функциям. IgG1 с высокой эффективностью связывают C1q компонента комплемента и активируют систему комплемента по классическому пути, а также с высокой аффинностью взаимодействуют с поверхностными Fcγ-рецепторами на многих клетках человека

(гемопозитических клетках, клетках трофобласта и др.). IgG2 в меньшей степени активируют классический путь комплемента, но с высокой аффинностью связываются с Fcγ-рецепторами на тромбоцитах, мононуклеарных фагоцитах и нейтрофилах, и активируют эти клетки, повышая риск развития тромботических и воспалительных осложнений.

Антитела к прогестерону различались по авидности. Средний ИА IgG составил $(50,8 \pm 13,7)\%$, при этом в 20% случаев наблюдалась высокая авидность IgG с ИА, превышающим 65%. Средний ИА IgG1 составлял $(47,9 \pm 7,4)\%$, IgG2 - $(62,9 \pm 8,5)\%$, IgG3 - $(50,4 \pm 6,7)\%$, IgG4 - $(58,6 \pm 12,5)\%$. Высокая авидность IgG2 отмечалась у 20%, IgG1 - у 12%, IgG4 - 10% пациенток. На примере антител к β2-гликопротеину-I было показано, что именно высокоавидные антитела отличаются высокой патогенетической активностью и ассоциируются с венозным тромбозом и акушерскими осложнениями [9].

Таким образом, у женщин с ранней потерей беременности с высокой частотой выявлялись антитела к прогестерону не только классов IgM, IgG, но и IgA, при этом частота выявления и уровень антител были значимо выше, чем у здоровых женщин. IgG и IgA в значительной степени ассоциировались с ранней потерей беременности, а их определение имело высокую диагностическую точность при данной патологии. Антитела к прогестерону были представлены четырьмя подклассами IgG, более часто выявлялись функционально активные IgG1 и IgG2 с преобладанием IgG1. Антитела были гетерогенными по авидности, часто выявлялись высокоавидные IgG, наиболее высокий индекс авидности отмечался у IgG2. По результатам исследования антитела к прогестерону могут рассматриваться как независимый фактор риска ранней потери беременности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Itsekson A., Lazarov A., Cordoba M. et al. Premenstrual syndrome and associated skin diseases related to hypersensitivity to female sex hormones // J. Reprod. Med. – 2004. – Vol. 49, № 3. – P. 195-9.
2. Itsekson A.M., Seidman D.S., Zolti M. et al. Recurrent pregnancy loss and inappropriate local immune response to sex hormones // Am. J. Reprod. Immunol. – 2007. – Vol. 57, №2. – P. 160-5.
3. Roby R.R., Richardson R.H., Vojdani A. Hormone allergy // Am. J. Reprod. Immunol. – 2006. – Vol. 55. – P. 307-313.
4. Itsekson A.M., Soriano D., Zolti M. et al. Intradermal

sex hormone desensitization for relief of premenstrual symptoms may improve the obstetric outcome of women with recurrent pregnancy loss // *Gynecol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 29, №2. – P. 169-72.

5. Гладкова К.А., Менжинская И.В., Сухих Г.Т., Сидельникова В.М. Роль сенсibilизации к прогестерону в клинике привычного невынашивания беременности // *Пробл. репрод.* – 2007. – Т. 13., № 6. – С. 95-98.

6. Менжинская И.В., Гладкова К.А., Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Антипрогестероновые антитела в клинике привычной потери беременности // *Иммунология.* – 2008. – № 1. – С. 34-37.

7. Haller K., Mathieuz C., Rull K., Matt K., Bene M.C.,

Uibo R. IgG, IgA and IgM Antibodies against FSH: Serological Markers of Pathogenic Autoimmunity or of Normal Immunoregulation? *Am. J. Reprod. Immunol.* 2005; 54: 364–70.

8. Менжинская И.В., Кашенцева М.М., Ванько Л.В., Сухих Г.Т. Иммунохимические свойства аутоантител к хорионическому гонадотропину у женщин с невынашиванием беременности // *Иммунология.* – 2015. – Т. 36, № 1. – С. 30-35.

9. Cucnik S., Kveder T., Artenjak A., Ulkova Gallova Z., Swadzba J., Musial J. et al. Avidity of anti- β 2-glycoprotein I antibodies in patients with antiphospholipid syndrome. *Lupus.* 2012; 21:764-765.

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ШКОЛЬНИКОВ 7-8 ЛЕТНЕГО ВОЗРАСТА

Мешкова Р.Я.¹, Очкуренко А.Е.¹, Стунжас О.С.²

¹ ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Россия, г.Смоленск,

² Департамент Смоленской области по здравоохранению, Россия, г.Смоленск,

ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF ALLERGIC DISEASES IN CHILDREN 7-8 YEARS OF AGE

Meshkova R. Ya.¹, Ochkurenko A. E.¹, Stunzhas O.S.²

¹ Smolensk State Medical University, Russia, Smolensk.

² Smolensk Region Health Department, Russia, Smolensk.

Распространённость аллергических заболеваний у детей в разных регионах мира за последние 30 лет быстро меняется. Отмечались периоды подъёма заболеваемости атопическим дерматитом, а затем рост респираторной аллергии и другие разнонаправленные тенденции [1]. Ряд авторов, изучавших эпидемиологию аллергических заболеваний у детей, связывают рост аллергии с разными факторами, в частности, с возросшей урбанизацией, изменением качества жизни пациентов в развитых и развивающихся странах, наследственными факторами, факторами окружающей среды, сезоном рождения ребёнка и др. [2,3,4]. Одним из методов изучения распространения аллергических заболеваний у детей является использование опросников, предназначенных как для детей, так и для родителей [3,4,5,6].

Вопрос о сохранении здоровья школьников является приоритетным в российской системе здравоохранения. В 2016 г. Смоленская область

была включена в пилотный проект «Школьная медицина» с тем, чтобы разработать оптимальные пути организации работы школьного врача, в том числе с детьми, страдающими аллергией. В связи с этим назрела необходимость поэтапной комплексной оценки не только частоты встречаемости отдельных форм врачебно-верифицированных аллергических заболеваний у детей, но и одновременной оценки факторов риска аллергии, роли аллергенной безопасности домашней и школьной среды обитания ребёнка и других факторов с тем, чтобы иметь возможность в будущем управлять медико-биологическими рисками аллергопатологии у школьников.

Цель исследования. Изучение спектра врачебно-верифицированных аллергических заболеваний, а также симптомов аллергических заболеваний у школьников 7-8 летнего возраста.

Материалы и методы. На данном этапе исследования был использован опросник (анкета) для родителей [6], в основу которого положены

аллергические заболевания и состояния, которые представлены в МКБ-10. В опроснике отражены врачебно-верифицированные диагнозы аллергических заболеваний, таких как аллергический ринит (АР), атопический дерматит (АД), бронхиальная астма (БА), инсектная аллергия, пищевая аллергия (ПА), лекарственная аллергия (ЛА), контактный аллергический дерматит (КАД) и др., а также симптомы указанных заболеваний у детей, которым официально диагнозы не выставлены. Помимо этого включены вопросы, касающиеся оценки аллергенности среды обитания ребёнка дома и в школе, наследственных факторов, роли врача аллерголога-иммунолога в первичной диагностике аллергии у детей. На вопросы анкеты требуется дать ответ «да» или «нет». Опросник получил одобрение на заседании секции «Педиатрия» Этического комитета ГБОУ ВПО СГМУ МЗ РФ от 25.03.2016г. Практическое осуществление анкетирования родителей первоклассников было проведено в мае 2016 г в 3-х учебных заведениях г.Смоленска гимназиях №4 и 33, школе №40, расположенных в экологически разных районах города. Всего было роздано 400 анкет для родителей, из них возвращено 378 анкет (94,5%). Средний возраст детей составил $7,7 \pm 0,02$ г. Статистическая оценка генерального параметра осуществлена путем вычисления доверительного интервала (ДИ) при вероятности 95% для процентных отношений.

Результаты. Анализ результатов анкетирования родителей показал, что из 378 школьников первых классов у 202 из них (53,4%) имели место аллергические заболевания. Результаты в разных школах оказались примерно одинаковыми, а именно: в гимназии №4 – 59,6% (56 детей с аллергией из 94), в гимназии № 33 – 47,4% (63 ребёнка с аллергией из 133), в школе № 40 – 54,9% (83 ребёнка с аллергией из 151).

В структуре аллергических заболеваний АД как врачебно-верифицированный диагноз имел место у 49 детей [12,9%, (95% ДИ 9,5-16,3%)]. Этот диагноз был впервые установлен в возрасте до 1 г. у 63,3% детей, с 1 г. до 3-х лет у 26,5% и старше 3-х летнего возраста у 10,2% детей. На момент анкетирования клинические проявления АД сохранялись у 23 детей [46,9% (95% ДИ 32,9-60,9%)]. Помимо врачебно-верифицированного АД в анкетах 56 детей родители отметили наличие у ребёнка симптомов АД [14,8% (95% ДИ 11,2-18,4%)], при этом в медицинской документации такой диагноз отсутствует. По-видимому, в реальной кли-

нической практике имеет место гиподиагностика атопического дерматита. Полученные результаты ставят перед школьным врачом вопросы о тактике медицинского наблюдения за школьниками с кожными формами аллергии.

Как показало анкетирование наиболее часто у младших школьников встречается респираторная аллергия. Так, АР выявлен у 83-х детей [21,9%, (95% ДИ 17,7-26,1%)]. Впервые данный диагноз был установлен у 7 детей до года (8,4%), у 29 детей с 1 г. до 3-х лет (37,3%), у 25 детей в возрасте с 4-х до 5 лет (30,2%) и у 20-ти детей после 5-ти летнего возраста (24,1%). В когорту детей с АР входят все дети с круглогодичным АР, а также 36 детей, у которых одновременно имеют место симптомы сезонного АР [43,4%, (95% ДИ 32,7-54,8%)]. Сезонный АР впервые диагностировали у детей старше 5-ти летнего возраста в 38,9% случаев, тогда как у детей до 3-х лет – в 10,6%, а с 3-х до 5-ти лет – у 18,2%. Как и в случае с АД, у части детей, имеющих симптомы АР, диагноз официально не выставлен; таких детей оказалось 57 детей [15,1%, (95% ДИ 11,5-18,8%)]. Всё это может свидетельствовать о том, что истинная картина заболеваемости детей АР значительно превышает ту, что оформляется с помощью врачебно-верифицированных диагнозов. Известно, что у детей с АР дополнительно отмечаются нарушения когнитивных функций, что требует решения вопросов не только медицинского обеспечения, но и их обучения.

По данным анкетирования диагноз БА установлен у 32 из 378 первоклассников [8,4%, (95% ДИ 5,6-11,2%)]. Обращает на себя внимание тот факт, что на момент манифестации заболевания и его врачебной верификации дети до года составили 65,6%, тогда как с 3-х лет и старше всего 18,7%. В то же время на вопрос анкеты имелись ли у ребёнка приступы сухого кашля со «свистами» родители 56-ти детей, у которых диагноз БА не выставлен, дали положительный ответ [14,9%, (95% ДИ 11,3-18,5%)]. Как видно из представленных данных, у части детей может иметь место БА, диагноз которой официально не выставлен, а с другой стороны, возникает предположение о том, что у детей до года отмечается гипердиагностика БА. Данные расхождения ставят перед школьным врачом целый комплекс медико-педагогических проблем.

Что касается диагноза ПА, то оказалось, что у 46 детей в медицинской документации выставлен диагноз ПА [12,2%, (95% ДИ 8,9-15,5%)].

По-видимому, в рутинной практике именно этот диагноз трактуется врачами в широком диапазоне симптомов без достаточной верификации. При оценке ответов родителей на вопрос о связи различных симптомов у детей со стороны кожи, ЖКТ, глаз, носа и др. с приёмом тех или иных продуктов, то оказалось, что у 272 детей из 378 родители предполагают наличие ПА [71,9%, 95% ДИ(67,4-76,4%)]. Особенно тревожным является тот факт, что 78 детей [28,7%, (95% ДИ 24,1-33,3%)] на момент анкетирования соблюдают какую-либо диету. Основанием для ограничений тех или иных продуктов питания в 20,5% случаев явились результаты алергообследования ребёнка *in vivo* или *in vitro*, в 19,2% – это рекомендации педиатра, в 11,5% – других врачей, в 24,4% – врача алерголога-иммунолога и в 24,3% случаев – это самостоятельное решение родителей. Таким образом оказалось, что 20,6% (95% ДИ 16,5-24,7%) всех анкетированных детей, вероятно, находятся в зоне риска по отсутствию полноценного питания в связи с ограничительными рекомендациями, не имеющими убедительной доказательной базы.

У детей в 21,9% случаев диагностирована ЛА (95% ДИ 17,7-26,1%). Так, у 63 детей с ЛА (75,9%) отмечалось от одного до трёх эпизодов заболевания, у 8 детей (8,6%) было более 3-х эпизодов, а у 12 детей родители затруднились с ответом. Во всех случаях наиболее часто встречались реакции на антибиотики [37,3%, (95% ДИ 26,9-47,7%)], далее жаропонижающие средства [22,9%, (95% ДИ 12,84-31,9%)], витамины [20,5%, (95% ДИ 11,8- 29,2%)] и препараты растительного происхождения [16,9%, (95% ДИ 8,82-24,9%)].

Инсектная аллергия (ИА) на укусы пчёл и ос выявлена у 10 детей [2,6%, (95% ДИ 1,0-4,3%)]. В этом случае реакции могут носить потенциально жизнеугрожающий характер, поэтому необходима регистрация таких детей в школьном медицинском кабинете, а его персонал должен быть обучен оказанию немедленной противошоковой помощи. При анкетировании было установлено также, что у 5 детей имели место и наиболее тяжёлые аллергические заболевания, такие как анафилактический шок и синдром Лайела [1,3%, (95% ДИ 0,2-2,4%)].

Таким образом, анализ структуры аллергических заболеваний у школьников 7-8 лет показал, что 53,4% детей имеют аллергические заболевания. Эти заболевания затрагивают такие органы-мишени как респираторный тракт, кожу, ЖКТ

и др. У части детей аллергические заболевания официально не верифицированы, а следовательно, выпадают из поля зрения школьного врача. Полученные данные свидетельствуют о том, что на сегодняшний день школьный врач не имеет адекватных данных об аллергической патологии первоклассников, что может негативно сказаться на медицинском обеспечении школьников.

Выводы.

1. По данным анкетирования родителей у 53,4% детей 7-8 летнего возраста имеют место врачебно-верифицированные диагнозы аллергических заболеваний.

2. Установлена гиподиагностика атопического дерматита, бронхиальной астмы, аллергического ринита у первоклассников, что может затруднить школьному врачу проведение адекватного медицинского обеспечения ребёнка.

3. Установлено, что каждый 5-й первоклассник не получает полноценного питания ввиду того, что соблюдает диету, не имеющую убедительной доказательной базы.

4. Показано, что инсектная аллергия встречается у 2,6%, лекарственная – у 21,9%, а urgentные формы – у 1,3% школьников первых классов.

5. Для профилактики обострений аллергических заболеваний, в том числе жизнеугрожающих, во время пребывания ребёнка в школе, необходимо в школьном врачебном кабинете иметь реестр детей с аллергией и разработанные процедуры правильного менеджмента таких детей.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Akiko Yura, Katsuyasu Kouda, Masayuki Iki et.al. Trends of allergic symptoms in school children: large-scale long-term consecutive cross-sectional studies in Osaka Prefecture, Japan DOI:10.1111/j.1399-3038.2011.01159.x
2. Okada Y, Kumagai H, Morikawa Y et.al. Epidemiology of pediatric allergic diseases in the Ogasawara Islands Allergol Int. 2016 Jan; 65(1):37-43
3. June Min Hwang, Se Hyun Oh, Mee Yong Shin The relationships among birth season, sunlight exposure during infancy, and allergic disease Korean J Pediatr. 2016 May; 59(5):218-225
4. Н.Г.Тиминская Анализ распространенности эпидемиологических показателей бронхиальной астмы у первоклассников. Медицина и образование в Сибири» 2013. – т.41(2). – с.73-85
5. Мешкова Р.Я., Очкуренко А.Е., Стунжас О.С. Разработка и внедрение анкеты по выявлению аллергических заболеваний у детей. Смоленский медицинский альманах – 2016. - №3.- с.132-136
6. Romano-Zelekha O, Graif Y., Sultan S. et.al. Adolescent versus parent reports on asthma and asthma symptoms. Pediatr. Pulmonol. 2016 Jul 5. doi:10. 1002/ppul.23515

УРОВЕНЬ МЕТАБОЛИТОВ ВИТАМИНА D У ДЕТЕЙ С СЕЛЕКТИВНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ IgA

Мешкова Р. Я.¹, Целуева О. В.¹, Слабкая Е.В.¹, Сазоненкова Л.В.², Барсукова В.В.²

¹ ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Россия, 214019, г.Смоленск, ул. Крупской, 28

² Областной центр аллергологии и иммунологии ОГБУЗ КБ №1 г. Смоленска. 214 000, Смоленск, ул. Фрунзе, д.40.

THE VITAMIN D METABOLITES LEVELS IN CHILDREN WITH SELECTIVE IgA DEFICIENCY

Meshkova R.Ja.¹, Tselueva O.V.¹, Slabkaja E.V.¹, Sazonenkova L.V.², Barsukova V.V.²

¹ Smolensk State Medical University, Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28

² Smolensk Regional Department of Allergy and Clinical Immunology, Russia, 214006, Smolensk, Frunze St., 40

Селективная недостаточность IgA относится к врождённым иммунодефицитам и отличается высокой распространённостью, особенно в странах Европы, арабских странах, США (от 1:143 до 1:1000). Истинная распространённость может быть выше, т.к. некоторые лица клинически асимптоматичны. Молекулярно-генетические механизмы патогенеза этого заболевания до конца не изучены [1].

С 2012 года в Смоленской области проводится рутинное скрининговое обследование часто болеющих пациентов. Создан регистр первичных иммунодефицитов и отдельный регистр детей с дефицитом IgA, включающий на сегодня 325 случаев [2,3].

В последние годы показана иммунорегулирующая роль витамина D у детей с бронхиальной астмой, атопическим дерматитом. Установлено его участие в метаболизме пролиферирующих клеток иммунной системы, влияние на синтез кателицидина (CAMP) и дефенсинов 2 [4,5]. Гормонально активный метаболит 1,25(OH)₂D (кальцитриол) непосредственно модулирует пролиферацию Т-лимфоцитов, подавляет развитие Th17-клеток, замедляет дифференцировку В-клеток в плазматические клетки, ингибирует продукцию Th1-ассоциированных цитокинов и молекул CD40, CD80 и CD86, стимулирует продукцию Th2-ассоциированных цитокинов и т.д. [6, 7].

Измерение уровня 1,25(OH)₂D в сыворотке крови для оценки статуса витамина D не используется, поскольку он обладает коротким перио-

дом полувыведения, но применимо с одновременным определением транспортной формы витамина D кальцидиола 25(OH)D при некоторых заболеваниях, связанных с врождёнными и приобретёнными нарушениями метаболизма витамина D [6].

Всё это послужило основанием для изучения роли витамина D при дефектах гуморального иммунитета, в частности, у детей с селективной недостаточностью IgA. В доступной нам литературе подобных исследований не обнаружено.

Целью исследования явилось изучение содержания кальцидиола и кальцитриола у детей с селективной недостаточностью IgA.

Материалы и методы. В исследование включено 89 детей с селективной недостаточностью IgA. У 14 из них проведено одновременное определение концентрации 25(OH)D и 1,25(OH)₂D (I группа – основная). В контрольную группу вошли 12 детей без селективной недостаточности IgA (II группа – контрольная).

Пациенты обеих групп были сопоставимы по полу и возрасту. Так, в I группу вошли дети от 1 года до 15 лет (средний возраст – 5,5±0,6 лет), во II группу – от 2-х до 13 лет (средний возраст – 4,9±0,5 лет). В I группе мальчиков – 8 (57,2%), девочек – 6 (42,8%), во II-ой – 9 мальчиков (75,0%) и 3 девочки (25,0%).

Определение IgA в сыворотке крови проводили методом ИФА с использованием тест-систем Vector Best (Новосибирск). Концентрацию метаболитов витамина D в сыворотке определяли ме-

тодом ИФА с использованием тест-систем Cloud-Clone Corp. (Houston, USA); ридер фирмы Dynex Technologies, длина волны 450 нм. За диапазоны нормы для метаболитов витамина D брали следующие показатели: для 25(OH)D – 30,0-70,0 нг/мл, а для 1,25(OH)₂D – 25,0-87,0 пг/мл [4]. На основании клинико-anamnestических данных оценивали доминирующий клинический синдром.

Обработку полученных данных проводили с использованием метода описательной статистики. Все экспериментальные и клинические процедуры выполнялись в полном соответствии с международными этическими нормами научных исследований.

Результаты исследования. Средний уровень метаболитов витамина D у пациентов обеих групп был в пределах диапазона нормы, но у детей I группы выявлены более низкие значения как транспортной, так и гормонально активной формы витамина D. Так, у детей с селективной недостаточностью IgA средняя концентрация 25(OH)D в сыворотке крови составила 34,2±2,5 нг/мл, а в контрольной группе – 57,9±7,5 пг/мл. Средний уровень 1,25(OH)₂D был в 2 раза меньше у детей с иммунодефицитом, чем в группе контроля: соответственно 40,0±3,5 пг/мл и 81,8±21,1 пг/мл.

Анализ абсолютных значений уровня метаболитов витамина D показал более частое снижение 25(OH)D у детей в I группе. Так, концентрация транспортной формы витамина D была снижена ниже нижней границы нормы у 42,8% детей с селективной недостаточностью IgA (у 6 из 14 детей) и только у 25,0% детей группы контроля (у 3 из 12 пациентов). При этом ни в одной исследуемой группе не было детей с показателями 25(OH)D выше нормы.

При определении концентрации 1,25(OH)₂D у детей с селективной недостаточностью IgA, а также в контроле выявлено снижение уровня этого метаболита. Следует отметить, что у большинства детей обеих групп показатели кальцитриола соответствовали норме (в I группе – 85,7%, во II группе – 75,0%), тогда как у остальных детей исследуемых групп отмечалось превышение нормальных показателей.

Анализ возрастных изменений метаболитов витамина D показал заметное уменьшение концентрации 25(OH)D в сыворотке крови у детей обеих групп по мере их роста. Более того, у детей I группы показатели этого метаболита уменьшались ниже нормы. Так, в возрасте 1–3 лет уровень 25(OH)D в I и II группах составил 45,1±2,1 и 43,8±3,0 нг/мл, соответственно; в возрасте 4–7 лет – 31,2±2,2 и 39,8±7,7 нг/мл и в 8–16 лет – 26,6±6,3 и 31,0±1,5 нг/мл, соответственно.

Уровень 1,25(OH)₂D в I группе оставался во все возрастные периоды в пределах нормы, но с тенденцией к снижению после 7-ми летнего возраста от 60,3±4,4 пг/мл у детей 1–3 лет, 62,8±14,3 пг/мл у детей 4–7 лет, до 41,6±5,4 пг/мл в возрасте 8–16 лет. Во II группе, напротив, выявлено повышение уровня 1,25(OH)₂D по мере роста детей с превышением нормы в 4–7 лет: в 1–3 года этот показатель составил 44,5±4,7 пг/мл, 4–7 лет – 115,4±48,2 пг/мл и в 8–16 лет – 67,0±2,5 пг/мл.

Изучение клинических особенностей селективной недостаточности IgA у наблюдаемых нами детей подтверждает отсутствие патогномичных симптомов. По данным литературы, этот иммунодефицит способствует развитию синопульмональных инфекций, гастроинтестинальной (лямблиоз, целиакия, лактазная недостаточность, лимфоидная гиперплазия) и аутоиммунной патологии, высокому риску малигнизации. Частота атопии при селективной недостаточности IgA, по данным последних исследований, составляет 13%, что соответствует её распространённости в общей популяции [1].

Результаты ранее проведённых исследований и настоящей работы указывают на преобладание у детей с селективной IgA-недостаточностью инфекционных и аллергических заболеваний ЛОР-органов. На втором месте – инфекции желудочно-кишечного тракта, кожи и слизистых оболочек [5].

У большинства детей I группы (71,4%) имели место частые ринофарингиты, трахеобронхиты вирусно-бактериальной этиологии. У 14,3% детей эти заболевания сочетались с респираторной аллергией, а именно, аллергическим ринитом и бронхиальной астмой. Кроме того, в клинической картине у детей I группы в 1 случае имел место рецидивирующий фурункулез (7,1%) и в 1 – хроническая спонтанная крапивница (7,1%).

Сопоставление индивидуальных значений уровня метаболитов витамина D с клиническими проявлениями IgA недостаточности показало, что у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями уровень 25(OH)D был либо в норме (58,3%), либо пониженным (41,7%). У 33% детей I группы со сниженным уровнем 25(OH)D в пределах 23,9–26,7 нг/мл рецидивирующие инфекции сочетались с аллергическими заболеваниями органов дыхания. Высокое содержание 25(OH)D в сыворотке крови отмечено лишь у 1 ребёнка I группы в возрасте 4-х лет, который страдал частыми респираторными инфекциями.

Показатели гормонально активной формы витамина D 1,25(OH)₂D у детей I группы, за исключением 1 случая, были в норме. Значительное

повышение этого метаболита в сыворотке крови до 116,2 нг/мл при нормальном уровне 25(ОН)D выявлено у ребёнка 4-х лет с клиникой рецидивирующего фурункулеза.

Можно предположить, что при селективной недостаточности IgA выявленный дефицит кальцидиола способствует развитию респираторных инфекций, и наряду с этим, предрасполагает к аллергическим заболеваниям органов дыхания. Избыточный уровень кальцитриола отмечен нами при бактериальных инфекциях кожи. Полученные предварительные данные требуют дальнейшего изучения.

Выводы

1. Впервые показано, что у 42,8% детей с селективной недостаточностью IgA выявлен гиповитаминоз D, тогда как в контрольной группе у 25% детей. При селективной недостаточности IgA средний уровень 25(ОН)D и 1,25(ОН)₂D был в 2 раза ниже, чем у детей группы контроля.

2. У детей с селективной недостаточностью IgA с возрастом отмечалось прогрессивное снижение уровня 25(ОН)D, причем, в группе детей 8-16 лет средний показатель был ниже нижней границы нормы. Уровень 1,25(ОН)₂D во всех возрастных группах оставался в пределах диапазона нормы.

3. Инфекционный респираторный синдром при селективной недостаточности IgA почти в половине случаев сопровождался снижением со-

держания 25(ОН)D. У каждого третьего ребёнка с селективной недостаточностью IgA и гиповитаминозом D рецидивирующие инфекции органов дыхания сочетались с аллергическим ринитом и бронхиальной астмой.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Leman Yel Selective IgA Deficiency. Clin Immunol. Jan2010 30(1): 10 –16.
2. Слабкая Е.В., Сазоненкова Л.В., Андреевская Ю.С., Мешкова Р.Я. Клинические особенности селективной недостаточности IgA у детей младшего возраста. Вестник Смоленской государственной академии. 2015, Т.14, №3, С. 27-32.
3. Слабкая Е.В., Аксенова С.А., Барсукова В.В., Мешкова Р.Я. Создание регистра первичных иммунодефицитов Смоленской области. Аллергология и иммунология в педиатрии. 2012, №4 (31), С. 58-61.
4. Захарова И.Н., Яблочкова С.В., Дмитриева Ю.А. Известные и неизвестные эффекты витамина D. Вопросы современной педиатрии. 2013, №2, Т.12, С. 20-25.
5. Arikoglu T., Kuyucu S., Karaismailoglu E., Batmaz S.B, Balci S. The association of vitamin D, cathelicidin, and vitamin D binding protein with acute asthma attacks in children. Allergy Asthma Proc. 2015, Jul – Aug; 36 (4): 51-58.
6. Савельев С.В., Рыболова Н.В. Витамин D и иммунитет. Практическая медицина. 2015, №1 (86), С. 114-120.
7. Lucas R.M., Gorman S., Geldenhuys S., Hart P.H. Vitamin D and immunity. F1000Prime Rep. 2014, Dec. 1;6:118. doi: 10.12703/P6-118. eCollection 2014.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА В Г. САМАРА

Мигачева Н.Б., Жестков А.В.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Самара

PREVALENCE OF ATOPIC DERMATITIS IN INFANTS IN SAMARA CITY

Migacheva N.B., Zhestkov A.V.

Samara State Medical University, Samara, Russia

В течение нескольких последних десятилетий атопический дерматит (АтД) – хроническое воспалительное заболевание кожи с рецидивирующим течением и серьёзным негативным влиянием на качество жизни пациентов и их семей – фокусирует на себе внимание как учёных,

так и практикующих врачей различных специальностей (дерматологов, аллергологов-иммунологов, педиатров и др.). Связано это, в первую очередь, с непрерывно растущей распространённостью заболевания, особенно характерной для детской популяции [1]. Результаты опубликован-

ного недавно систематического обзора 69 эпидемиологических исследований свидетельствуют о том, что АтД является в настоящее время повсеместно представленным феноменом с распространенностью до 20% во многих развитых странах [2]. По данным масштабного международного исследования астмы и аллергии у детей (ISAAC), в котором были проанализированы информационные карты более чем 1200000 пациентов из 106 стран, средняя распространенность симптомов АтД у детей в возрасте 6-7 лет составила 7,9%, а в возрасте 13-14 лет – 7,3%, с явной тенденцией к её увеличению как в развитых странах, так и в странах с низким социально-экономическим уровнем [3]. В Российской Федерации эпидемиологическая ситуация по аллергическим заболеваниям также вызывает тревогу у специалистов: только по данным официальной статистики за период с 1998 по 2003 гг. абсолютное число детей с аллергическими болезнями в возрасте до 15 лет увеличилось более чем в 2,8 раза, а подростков (15-17 лет) – в 3,6 раза [4]. Анализ заболеваемости АтД в РФ за период 2005-2009 гг. установил последовательный рост общей заболеваемости среди детей до 14 лет (в 2009 г. изменение показателя составило +9,66%), также как и выявленный рост числа детей 0-14 лет с впервые установленным диагнозом АтД (динамика интенсивного показателя составила +16,01%) [5]. Согласно данным Федерального статистического наблюдения в 2014 году в Российской Федерации распространенность АтД составила 443,3 случая на 100000 взрослого населения, 1 709,7 случаев на 100000 детского населения (в возрастной группе 0-14 лет) и 1148,3 случаев на 100000 подростков (15-17 лет). В то же время распространенность АтД у детей раннего возраста в настоящее время недостаточно изучена, поскольку данная возрастная группа не выделена в Федеральных формах статистической отчетности и не была предусмотрена в масштабных эпидемиологических исследованиях (ISAAC). При этом известно, что АтД является самым частым аллергическим заболеванием у детей первых лет жизни и часто становится первым шагом в реализации «атопического марша» с последующим развитием симптомов респираторной аллергии [6]. Очевидно, что организация высококачественной помощи пациентам, страдающим АтД, профилактика заболевания невозможна без знания его истинной

распространенности и понимания региональных особенностей.

Целью нашего исследования было изучить распространенность атопического дерматита у детей раннего возраста в г. Самара, а также оценить структуру заболевания по степени его тяжести.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели был применён клинико-эпидемиологический подход с проведением перекрёстного исследования, включавшего 3 последовательных этапа. На первом этапе в период с апреля 2014 по ноябрь 2015 года мы провели скрининговое анкетирование родителей 2812 детей раннего возраста (1-3 года), проживающих в различных районах г. Самара. Анкетирование проводилось в детских поликлиниках во время плановых визитов к педиатру с использованием стандартизированных опросников ISAAC [7], дополненных и модифицированных с учётом особенностей клинической картины атопического дерматита у детей раннего возраста. Затем (второй этап исследования) мы связались со всеми респондентами, отметившими наличие рецидивирующих кожных проявлений у детей, и в ходе телефонного опроса выделили группу пациентов, имеющих клинические признаки, характерные для АтД (хронического кожного заболевания, сопровождающегося зудом). Именно эти дети были включены в третий этап исследования, заключавшийся в клиническом обследовании аллергологом-иммунологом и дерматологом. Верификация диагноза осуществлялась на основании федеральных клинических рекомендаций по диагностике и лечению АтД по специальностям «Клиническая иммунология и аллергология» и «Дерматология», а также рекомендаций научно-практической программы Союза Педиатров России «Атопический дерматит у детей: диагностика, лечение и профилактика». Обследование пациентов включало как общеклинические методы (сбор анамнеза, осмотр, выявление клинических симптомов пищевой и респираторной аллергии), так и определение степени тяжести заболевания с использованием индекса SCORAD, разработанного Европейской рабочей группой и рекомендованного для использования Российской Ассоциацией Аллергологов и Клинических Иммунологов, Союзом Педиатров России и Ассоциацией Детских Аллергологов и Иммунологов России. При этом лёгкое течение

АтД диагностировалось при значении показателя SCORAD до 20, средне-тяжёлое течение – при значении 20-40, тяжёлое – при значении более 40.

Результаты исследования. На первом этапе исследования в общей группе опрошенных ($n=2812$) средний возраст детей составил 27 ± 7 месяцев, распределение по полу оказалось практически одинаковым (53,5% - мальчики и 46,5% – девочки). Отягощённый наследственный анамнез (наличие аллергических заболеваний у ближайших родственников – родителей и/или сибсов) выявлялся у 828 детей (29,4%). Лишь у 411 детей в общей группе опрошенных (14,6%) был уже выставлен диагноз АтД. При этом наличие клинических признаков рецидивирующего кожного заболевания у ребёнка отметили 709 респондентов (25,2%). На втором этапе после телефонных консультаций (удалось осуществить 697 телефонных звонков) признаки, характерные для АтД были выявлены у 641 ребёнка, все они были приглашены на последний этап исследования для клинического обследования. На третьем этапе наблюдения нами было проведено клиническое обследование 628 детей с осмотром аллергологом-иммунологом, дерматологом и заполнением углублённого опросника, в результате которого диагноз АтД был подтверждён в 546 случаях. Таким образом, показатель распространённости АтД у детей изучаемой возрастной группы составил 19,4%. Интересно, что среди детей с АтД мальчиков оказалось больше, чем девочек (59,2% и 40,8%, соответственно, $p \leq 0,5$), а детей с отягощённым наследственным анамнезом по аллергическим заболеваниям больше, чем детей без отягощённого наследственного анамнеза (57,5% и 42,5%, соответственно, $p \leq 0,5$). При оценке степени тяжести заболевания лёгкий АтД диагностирован у 289 детей (52,9%), средне-тяжёлого течения – у 180 (32,9%), тяжёлого – у 77 (14,2%).

Анализ результатов опроса родителей подтвердил данные о том, что у подавляющего большинства детей раннего возраста с АтД первые симптомы заболевания появляются очень рано: у 9% младенцев – с рождения, у 38% – в 1-3 мес., у 18% – в 4-6 мес., у 22% – на втором полугодии жизни, у 10% – на втором году жизни, и у 3% – старше 2 лет. В то же время, наиболее тяжёлое течение заболевания отмечается в более поздние сроки. Так, лишь 7% родителей отметили, что самое плохое состояние кожи у их детей наблюда-

лось в возрасте до 3 мес., 17% – в 4-6 мес., 27% – на втором полугодии жизни, 23% – на втором году жизни, 26% – старше 2 лет. Следовательно, раннее выявление первых клинических симптомов АтД, верификация диагноза и рациональная тактика ведения пациентов, включающая информационную работу с родителями, могут стабилизировать течение заболевания, предотвратить дальнейшее развитие кожного процесса и, возможно, реализацию атопического марша.

В ходе опроса участников исследования мы выясняли информацию о том, какой специалист выставил диагноз АтД и осуществлял ведение наших пациентов. Оказалось, что более чем в половине случаев (52%) диагностика и лечение детей с АтД проводились врачами первичного звена (педиатром). С участием врача-дерматолога наблюдались 14,4% пациентов, аллерголога-иммунолога – 10,4%, детского гастроэнтеролога – 8,3%, неонатолога – 0,5%. Коллегиально (с участием нескольких специалистов) велось наблюдение 14,4% детей, преимущественно с тяжёлым течением заболевания.

Итоговый анализ распространённости АтД у детей раннего возраста показал, что в общей группе включённых в проведённое нами исследование детей этот показатель составляет 19,4%. Заболевание выявляется в 1,26 раз чаще у мальчиков, чем у девочек (21,5% и 17,1% соответственно) и в 2,45 раз чаще у детей с отягощённым наследственным анамнезом по сравнению с детьми без такового (31,5% и 12,8% соответственно, $p \leq 0,5$), что подтверждает роль отягощённого семейного анамнеза в качестве важнейшего фактора риска в развитии АтД.

Заключение. Результаты проведённого исследования подтвердили высокую распространённость АтД у детей раннего возраста в г. Самара (19,4%), что значительно превышает показатели официальной статистики. Недостаточная выявляемость заболевания в регионе в рассматриваемой возрастной группе может быть связана, в первую очередь, с преобладанием в структуре АтД лёгких форм заболевания (более 50%), что приводит к более позднему обращению пациентов за помощью. Кроме того, гиподиагностика АтД, вероятно, обусловлена и недостаточным уровнем специальных знаний у врачей первичного звена, что диктует необходимость более широкого рассмотрения вопросов аллергологии и

иммунологии, дерматологии в образовательных программах врачей-педиатров и врачей общей практики, а также более тесного взаимодействия между специалистами и врачами первичного звена.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Flohr C, Mann J. New insights into the epidemiology of childhood atopic dermatitis. *Allergy* 2014; 69:3-16.
2. Deckers IA, McLean S, Linssen S, Mommers M, van Schayck CP, Sheikh A. Investigating international time trends in the incidence and prevalence of atopic eczema 1990-2010: a systematic review of epidemiological studies. *PLoS ONE* 2012;7: e39803.
3. Mallol J, Crane J, von Mutius E, Odhiambo J, Keil U, Stewart A. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three: a global

synthesis. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2013; 41:73-85.

4. Аллергия у детей: от теории – к практике [монография] / Под ред. Л.С. Намазовой-Барановой. – М.: Союз педиатров России, 2010–2011 – 668 с.

5. Кубанова А.А., Лесная И.Н., Кубанов А.А. и др. Анализ эпидемиологической ситуации и динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, и дерматозами на территории Российской Федерации. *Вестн. дерматол. и венерол.* 2010; 5: 4-21.

6. Dharmage SC, Lowe AJ, Matheson MC, Burgess JA, Allen KJ, Abramson MJ. Atopic dermatitis and the atopic march revisited. *Allergy* 2014; 69 :17-27.

7. Стандартизованное эпидемиологическое исследование аллергических заболеваний у детей (адаптация программы «Международное исследование астмы и аллергии у детей» (ISAAC) в России) / С.М. Гавалов, Е.Г. Кондюрина, Т.Н. Елкина, Т.А. Филатова, И.Б. Резник. Методическое пособие для врачей. М., 1998, 30 с.

ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ У ДЕТЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

Барычева¹ А.Ю., Хайт² Г.Я., Эрдни-Горяева² Н.В., Минасян¹ М.М.

¹ ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Ставрополь.

² АНМО «Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр», г. Ставрополь.

EXPRESSION OF MARKES OF APOPTOSIS IMMUNOCOMPETENT CELLS IN CHILDREN WITH TYPE 1 DIABETES

Barycheva¹ L.Yu., Hajt² G.Ja., Erdni-Goryaeva² N.E., Minasyan¹ M.M.

¹ FGBO VO «Stavropol state medical university» MH RF, Stavropol.

² ANMO «Stavropol Regional Clinical Consultative-diagnostic Center», Stavropol.

Сахарный диабет в XXI веке развивается по самым неутешительным прогнозам. Быстрый рост заболеваемости, серьёзные осложнения, высокая инвалидность и смертность определяют его острейшую медико-социальную значимость [3,5]. По современным представлениям, сахарный диабет I типа (СД1) является результатом клеточно-опосредованной деструкции β-клеток поджелудочной железы, приводящей к абсолютной инсулиновой недостаточности [5]. Ведущими звеньями в патогенезе аутоиммунных поражений при сахарном диабете являются дисрегуляция иммунитета и программированной гибели клеток [1,2,4,5,6]. Контролируемый апоптоз рассматривается сегодня как главный меха-

низм поддержания оптимального баланса клеток в очаге тканевого воспаления, ограничивающий экспансию активированных клонов и препятствующий развитию аутоиммунных реакций. Основными в развитии аутоиммунных заболеваний нередко становятся нарушения процессов инициации и реализации апоптоза [5].

Цель исследования. Изучение активационных маркеров апоптоза CD95, CD95L, Bcl2 на лимфоцитах и нейтрофилах периферической крови при сахарном диабете 1 типа у детей.

Материалы и методы. В работе представлено клинико-иммунологическое обследование 45 детей, страдающих сахарным диабетом, в том числе в возрасте 3-6 лет и 7-15 лет. В группу дошколь-

ников вошло 20 детей (группа I). Дети школьного возраста (25) были разделены на две группы в зависимости от стажа заболевания. В группу II вошло 12 детей с длительностью заболевания до 3-х лет, в группу III – 13 детей со стажем заболевания более 3-х лет. Контрольную группу составили 30 здоровых детей в возрасте 3-6 (15) и 7-15 (15) лет. Исследование проведено на базе эндокринологического отделения ДГКБ им. Г.К. Филиппского г. Ставрополя и АНМО «Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр».

Для оценки программируемой клеточной гибели выявляли количество лимфоцитов и нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих маркеры апоптоза – CD95, CD 95L и Bcl2 (Invitrogen, США) методом проточной цитометрии (ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора»).

Для статистического анализа данных использовали пакет программ «Primer of Biostat 4,0», Attestat 10.5.1.». Для оценки межгрупповых различий применяли дисперсионный анализ повторных измерений с вычислением критериев Ньюмена-Кейлса, Данна. Количественные значения характеризовались ненормальным распределением и были представлены в виде медианы и интерквартильного (25 и 75 процентиля) размаха (Me (Q1-Q)). Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования. В работе было установлено уменьшение количества лимфоцитов, экспрессирующих Fas-рецепторы (CD95) у пациентов всех групп по сравнению со здоровыми детьми. В группе I показатели составили 17,7% (15,9-19,43), в группе II – 20,5 % (17,94-23,02), в группе III – 13,9 % (10,04-17,73). Минимальные показатели отмечены у детей 7-15 лет со стажем заболевания более 3-х лет.

При этом уровень антиапоптотических маркеров (Bcl2) существенно возрастал с достоверным увеличением в группе III ($p < 0,05$). У детей 3-6 лет показатели составили 70,2% (68,56-71,76), у детей 7-15 лет со стажем заболевания менее 3-х лет – 70,3% (65,72-74,9), у школьников со стажем заболевания более 3-х лет – 79,5% (75,47-83,59).

В культуре лимфоцитов детей, больных СД1, выявлено увеличение процентной доли лимфоцитов, экспрессирующих CD95L по сравнению с группой здоровых детей. Наиболее высокие по-

казатели определялись у детей 7-15 лет со стажем заболевания более 3-х лет – 15,6% (14,26-16,87), $p < 0,05$. Полученные нами результаты могут быть косвенным признаком подавления программированной гибели аутореактивных лимфоцитов в ткани поджелудочной железы, что способствует пролонгации иммунного ответа [5]. Ранее было показано, что при сахарном диабете выявляется резистентность лимфоцитов к апоптозу, что, возможно, объясняет характер и продолжительность аутоиммунного ответа [4,5].

При исследовании нейтрофильных гранулоцитов при СД1 у детей, установлена высокая готовность к апоптозу с увеличением экспрессии CD95, снижением – Bcl2. Максимальные показатели CD95 – 87,9% (84,24-91,63), $p < 0,05$ и минимальные Bcl2 – 2,78% (2,36-3,19), $p < 0,05$, выявлены в группе детей 7-15 лет с длительностью заболевания более 3-х лет. Доля нейтрофилов, экспрессирующих CD95, у школьников со стажем заболевания более 3-х лет составила 77,6% (71,15-83,99), Bcl2 – 3,99% (2,9- 5,08). У детей 3-6 лет маркеры CD95 на нейтрофильных гранулоцитах экспрессировались в 75,1% (71,49-78,72), маркеры Bcl2 – в 3,68% (3,46-3,90).

Выявлено увеличение процента полиморфно-ядерных лейкоцитов, имеющих на своей поверхности CD95L. Наиболее высокие показатели отмечены у детей 7-15 лет со стажем заболевания более 3-х лет – 12,1% (10,22-13,96).

Заключение. Таким образом, при оценке апоптоза иммунокомпетентных клеток установлено снижение готовности к программированной клеточной гибели лимфоцитов и увеличение полиморфноядерных лейкоцитов. Наиболее выраженные изменения регистрируются в возрастной группе 7-15 лет со стажем заболевания более 3-х лет. У детей всех групп показано увеличение доли лейкоцитарных клеток, экспрессирующих на своей поверхности CD95L.

Полученные нами результаты позволяют считать, что у больных СД1 отмечается повышенная предрасположенность нейтрофильных гранулоцитов к апоптозу, что может быть проявлением защитной реакции, направленной на устранение «излишка» активных нейтрофилов, формирование которого усиливает повреждение тканей [1,6].

Снижение количества лимфоидных клеток, чувствительных к индукции апоптоза, является

косвенным признаком подавления программированной клеточной гибели и нарушения элиминации активированных форм лимфоцитов [4,5]. Увеличение экспрессии CD95L на лимфоцитах и нейтрофильных гранулоцитах при СД1 может способствовать усилению процессов запрограммированной клеточной гибели в островковых β -клетках поджелудочной железы, инфильтрированных иммунокомпетентными клетками. Дисрегуляция апоптотической активности зависит от длительности заболевания и нарастает у детей со стажем заболевания более 3-х лет.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Барычева Л.Ю., Эрдни-Горяева Н.Э., Александрович Г.А. Функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов и маркеры апоптоза при сахарном диабете 1 типа у детей. Сахарный диабет, 2014, №3, С. 77-82.

2. Водовозова Э.В., Голубева М.В., Доронин В.Ф. и др. Руководство по практическим умениям педиатра: учебное пособие для системы последипломного профессионального образования врачей-педиатров. Ростов-на-Дону, 2010, Сер. Высшее медицинское образование (3-е издание, стереотипное), 574 с.

3. Дедов И.И., Петеркова В.А., Карпушкина А.В. и др. Качество медицинской помощи, оказываемой детям с сахарным диабетом 1-го типа. Проблемы эндокринологии, 2015, №4, С. 29-42.

4. Arya A.K., Tripathi R., Kumar S., Tripathi K. Recent advances on the association of apoptosis in chronic non healing diabetic wound. World J. Diabetes, 2014, 5(6) P. 756-762.

5. De Jong V M., Van der Slik A R , Laban S. et al. Survival of autoreactive T lymphocytes by microRNA-mediated regulation of apoptosis through TRAIL and Fas in type 1 diabetes. Genes and Immunity, 2016, 17, P. 342–348.

6. Huang J., Xiao Y., Xu A., Zhou Z. Neutrophils in type 1 diabetes. J Diabetes Investig. 2016, 7(5), P. 652–663.

ЛОКАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У ЖЕНЩИН С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

Мусаходжаева Д.А., Арипова Т.У., Мамадалиева Я.С., Ешимбетова Г.З., Файзуллаева Н.Я.
РНЦ Иммунологии РУз, Ташкентский институт усовершенствования врачей МЗ РУз

LOCAL LEVELS OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN WOMEN WITH EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS

Musakhodjaeva D. A., Aripova T. U., Mamadalieva Y. S., Eshimbetova G. Z., Fayzullaev N.Ya.
RSC Immunology RUz, Tashkent Institute of improvement of doctors of the MH RUz, Tashkent, Uzbekistan

В структуре гинекологической заболеваемости эндометриоз занимает 3-е место после воспалительных процессов и миомы матки. Эндометриоз приводит к функциональным и структурным изменениям в репродуктивной системе, который формируется и развивается на фоне нарушенных иммунных, молекулярно-генетических и гормональных взаимоотношений в женском организме [2,4].

При изучении иммунного статуса больных эндометриозом выявлена корреляция между частотой обнаружения антител и стадией распростра-

нения эндометриоза.

Многочисленные исследования достоверно доказывают, что эндометриоз развивается на фоне нарушенного иммунного равновесия. Имеет значение и характер локальных нарушений тканевого гомеостаза непосредственно в области малого таза. Значительное место отводят макрофагам, непосредственно реагирующим на присутствие чужеродных элементов. Установлено, что при эндометриозе общее количество и активность брюшинных макрофагов возрастают. Отмечена зависимость между тяжестью течения

эндометриоза и макрофагальной реакцией перитонеальной жидкости, а также доказано повышение содержания макрофагов в очагах эндометриоза [1,2,5].

Показано, что, кроме фагоцитарной деятельности, брюшинные макрофаги регулируют местные процессы, относящиеся к репродукции путём освобождения простагландинов, гидролитических ферментов, протеаз, цитокинов, факторов роста, инициирующих тканевые повреждения. Цитокины являются факторами, определяющими судьбу эктопической ткани эндометрия. Рядом исследователей показана роль цитокинов, обеспечивающих благоприятные условия для внедрения и развития жизнеспособных элементов эндометрия. Биологический потенциал цитокинов состоит в регуляции взаимодействия макрофагов с элементами тканей, формировании очагов воспаления и иммуномодуляции. По сути цитокины – универсальные регуляторы процессов воспаления. Очевидно, активация определённой группы клеток приводит к синтезу набора цитокинов и индукции связанных с ними функций [2,3,6].

Целью исследования явилось изучение уровня провоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом.

Материал и методы исследования. Обследовано 38 женщин, страдающих с различными формами наружного генитального эндометриоза. Возраст обследованных женщин составил, в среднем, $34,6 \pm 1,86$ года. Всем женщинам проводилось общеклиническое, инструментальное и лабораторное обследование. После верификации диагноза все больные женщины подверглись хирургическому лечению, объём хирургических мероприятий зависел от степени распространения патологического процесса. Всем пациенткам производили забор перитонеальной жидкости путём лапароскопии. В перитонеальной жидкости определяли уровень фагоцитарной активности нейтрофилов с использованием латексных частиц, концентрацию провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-8, IFN γ и TNF α) методом ИФА с использованием тест-систем «Цитокин» (СПб, Россия). С целью повышения эффективности лечения генитального эндометриоза на фоне гор-

мональной терапии использовали циклоферон – индуктор альфа и гамма интерферонов. Ликопид представляет собой синтезированный активный фрагмент бактериальных клеточных стенок, обладающий иммуномодулирующим эффектом.

Все пациентки были разделены на 3 группы:

- 1-я группа – 13 женщин, получавших ликопид в дозе 10 мг 1 раз в сутки в течение 10 дней после операции;
- 2-я группа – 13 женщин, получавших циклоферон с 1-го дня менструального цикла (10 внутримышечных инъекций);
- 3-я группа – 12 женщин, не получавших иммунокорректирующую терапию – группа сравнения.

Контрольную группу составили 16 практически здоровых женщин, перитонеальную жидкость которых получили при проведении добровольной лапароскопической стерилизации маточных труб. Эффективность проведённого лечения оценивали как клинически, так и на основании лабораторных исследований.

Результаты и их обсуждение. У 27 (71,05%) был отягощён акушерско-гинекологический анамнез, самопроизвольными выкидышами – у 15 (55,5%), искусственными абортами – у 12 (44,4%). Соматический анамнез чаще всего был осложнён заболеваниями желудочно-кишечного тракта, ЛОР-болезнями, аллергией. Наиболее частыми жалобами пациенток явились в виде альгодисмении и не связанные с менструациями – у всех обследованных женщин, вторым по частоте симптомом было нарушение менструального цикла по типу гиперполименореи и перименструальных длительных тёмных выделений из половых путей. Отмечено возрастание болезненности и обильности менструальных выделений по мере прогрессирования заболевания. Большинство пациенток – 67,8%, предъявляли жалобы на бесплодие, длительность которого варьировала от 3 до 7 лет.

Анализ результатов проведённых исследований по изучению иммунологических параметров в перитонеальной жидкости показал, что содержание CD4+-клеток у женщин с эндометриозом было достоверно ниже значений контрольной группы ($P < 0,05$) и наблюдалась тенденция к снижению уровня CD4+, CD8+, CD16+ и

CD20+-лимфоцитов. В популяции перитониальных Т-хелперов у женщин с наружным эндометриозом содержание наивных CD45RA+ клеток было достоверно выше аналогичного показателя контрольной группы ($P<0,05$). Изучение уровня провоспалительных цитокинов - IL-1 β , IL-8, IFN γ и TNF α выявило их повышенное содержание у женщин с эндометриозом ($P<0,01$). Как известно, основными продуцентами этих цитокинов являются макрофаги. Таким образом, при наружном генитальном эндометриозе наблюдается дефицит хелперной активности и повышение синтеза провоспалительных цитокинов. Проведённое исследование после применения иммунокорригирующей терапии выявило неоднозначные изменения изученных параметров. При оценке состояния больных женщин, не получавших иммунокорригирующего лечения, было выявлено следующее: менструации стали менее болезненными у 3 (25%) пациенток. У 9 женщин (75%) характер болевых ощущений во время менструации не изменился. Во 2-й группе женщин, которые получали ликопид, удалось добиться снижения частоты болевого синдрома. При лечении циклофероном болевой синдром был отмечен у 3 женщин (23%). При изучении иммунологических параметров перитониальной жидкости у женщин с эндометриозом после проведения лечения было обнаружено, что в группе женщин, получавших ликопид, повысился уровень CD4+ ($P<0,05$), уровень цитокинов снизился. В группе женщин, получавших циклоферон, изменения были менее выраженными. Почти не изменились изученные параметры у женщин, которым не проводили иммунокорригирующей терапии.

Таким образом, проведённые исследования перитониальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом указывают на снижение местных факторов защиты. Учитывая полученные результаты в пре- и послеоперационном периоде, женщинам, больным эндометриозом, необходимо проведение иммунокорригирующей терапии с применением препаратов различного механизма действия в связи с многообразием иммунных нарушений при распространённых формах эндометриоза.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Анциферова Ю.С., Сотникова Н.Ю., Посисее-

ва Л.В., Назаров С.Б. Иммунные механизмы развития генитального эндометриоза//Монография, Иваново: ОАО «Издательство «Иваново».- 2007.- 314 с.

2. Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Посисеева Л.В., Посисеев Д.В., Изменение инвазивных свойств эндометриальных стромальных клеток при эндометриозе// Иммунология.-2007.-Т.28, № 1.- С.34-37

3. Сухих Г.Т., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Посисеева Л.В., Верясов В.Н., Ванько Л.В. Продукция цитокинов иммунокомпетентными клетками перитонеальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом//Бюлл.Эксп.Биол.Мед.- 2004.-Т.137, №6.- С. 569-571.

4. Ярилин А.А. Естественные регуляторные Т-клетки и фактор Foxp3//Иммунология.- 2006.-№ 3.- С.176-188.

5. Ярмолинская М.И., Сельков С.А., Мануйлова Т.Ю., Беженарь В.Ф., Рулев В.В., Селютин А.В., Тхазиплижева С.Ш. Эффективность применения протеолитического препарата «Лонгидаза» в комбинированном лечении спаечного процесса у больных наружным генитальным эндометриозом// Иммунология – 2015.-Т.36, №2. – С.116-121.

6. Сельков С.А., Павлов Р.В., Ярмолинская М.И. Иммунопатогенез и иммуноориентированная терапия эндометриоза// Сборник материалов VI Российско-германского конгресса по акушерству и гинекологии «Современные технологии акушерства и гинекологии в решении проблем демографической безопасности» , 25-26 апреля 2014, Калининград, С.11-12

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ АЛЛЕРГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ КОМОРБИДНОЙ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ И АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Надей Е.В., Нестерова К.И., Нечаева Г.И., Совалкин В.И., Шупина М.И.

ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет МЗРФ. Омск. ФГБУЗ ЗСМЦ ФМБА России, кафедра внутренних болезней и семейной медицины ДПО

THE EXPECTED RESULTS OF ALLERGEN IMMUNOTHERAPY FOR BRONCHIAL ASTHMA COMORBIDE WITH ALLERGIC RHINITIS AND ATOPIC DERMATITIS

Nadey E.V., Nesterova K.I., Nechayev G.I., Sovalkin V.I., Shupina M.I., Tereshchenko J.V.

Omsk State Medical University. Omsk

Проблема аллергии сохраняет актуальность в современной медицине. К наиболее распространенным аллергическим заболеваниям относятся атопическая бронхиальная астма, распространённость которой в мире варьирует от 1 до 18%, а в России – от 2,6 до 20% [2,4,6,11], аллергический ринит, которым в мире страдают около 10-25% населения, в России – 12,7 - 24% [5,8,11], атопический дерматит, распространённость которого среди взрослого населения в развитых странах составляет 0,2-2%, в России около 5,9%. Всё чаще в клинической практике мы сталкиваемся с проблемой сочетания бронхиальной астмы с другими аллергическими заболеваниями, что влияет как на результат проводимой терапии, так и на качество жизни пациентов.

Основным методом лечения АЗ, имеющих общие факторы риска, сходство иммунологического ответа [3,10,13], воздействующим на все патогенетические звенья хронического аллергического воспаления, способным видоизменять характер реагирования иммунной системы на аллерген и влиять на течение болезни, является аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ) [5,11,12]. Основной целью терапии БА, как и других аллергических заболеваний, является не только достижение и поддержание контроля симптомов, но и повышение качества жизни больного

[7,9].

Цель исследования. Оценить эффективность лечения больных атопической бронхиальной астмой коморбидной с аллергическим ринитом и атопическим дерматитом при поливалентной сенсibilизации за счёт введения пациенториентированной аллергенспецифической иммунотерапии.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 1007 человек (536 женщин и 471 мужчина), на начальном этапе 7 человек было из исследования по причине смены места проживания, в итоге, количество участников составило 1000 человек (536 женщин и 464 мужчин) в возрасте от 15-60 лет с длительностью заболевания от 3-16 лет. С атопической БА – 720 пациентов; 205 пациентов с сочетанными формами поллиноза и атопической БА; изолированным поллинозом – 75 пациентов.

Сопутствующая аллергическая патология выявлена у 871 пациентов (87,1%), из них: в виде круглогодичного АР у 701 пациента, атопического дерматита – у 245, лекарственной аллергии – у 179, крапивницы – у 124, пищевой аллергии – у 155.

Всем пациентам проведено кожное тестирование с использованием водно-солевых экстрактов (ВСЭ) пыльцевых, эпидермальных, бытовых, пи-

щевых аллергенов (ОАО «Биомед», Россия).

На АСИТ с использованием ВСЭ аллергенов было взято 88 пациентов (группа наблюдения). Медикаментозное лечение проводилось 31 пациентам (группа сравнения): симптоматическое, базисная терапия в зависимости от формы и степени тяжести процесса.

Оценка эффективности АСИТ проводилась ежегодно по 4-х-балльной модифицированной схеме А.Д. Адо [1].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием методов вариационной статистики в программе Microsoft Excel – 2007. Для сравнения показателей между параметрами применяли критерий Хи-квадрат по таблице сопряжённых признаков. Различия сравниваемых параметров считали статистически значимыми при $\alpha < 0,05$. Для формирования сопряжённых признаков мы использовали разработанную нами специальную программу.

Результаты и их обсуждение. По данным кожного тестирования (743 пациентов), выявлены региональные особенности значимости аллергенов домашней пыли ($n = 570$, 76,7%) и клеща домашней пыли ($n = 435$, 58,5%), что учитывалось при подборе индивидуальных наборов аллергенов.

По результатам кожного тестирования, с ВСЭ пылевых аллергенов из 577 человек 35,3% имели сенсibilизацию к аллергенам пыльца деревьев, 40,7% – пыльца злаковых трав, 61,0% – пыльца сорных трав. Сочетание сенсibilизации к деревьям, злаковым и сорным травам выявлено в 32,4%, злаков и сорных трав – 30,1%, деревьев и сорных, а так же деревьев и злаков по 5,7% и 2,3% соответственно.

Из 720 больных, страдающих atopической БА, имеющих поливалентную сенсibilизацию, 645 (86,9%) имели АР, 231 (32,1%) atopический дерматит. При этом 192 (26,6%) пациента с atopической БА имели сочетание с персистирующим АР и atopическим дерматитом. Последняя группа отличалась выраженностью симптомов течения аллергопатологии и снижением качества жизни на фоне проведения стандартной терапии. Группа отличалась по эффективности проводимой терапии как изменением степени выраженности клинических симптомов, так и уровнем качества

жизни.

К окончанию исследования были получены результаты эффективности аллергенспецифической иммунотерапии бытовыми (клещ домашней пыли *Dermatophagoides pteronissinus* и домашняя пыль) и пылевыми (смесью ВСЭ аллергенов деревьев, злаковых, сорных трав) аллергенами 88 пациентов с atopической бронхиальной астмой коморбидной с аллергическим ринитом и atopическим дерматитом.

Проведение парентеральной круглогодичной АСИТ позволило достичь положительного результата у 84,6% больных после 1-го курса лечения, у 90% после 2-го (отлично – 47,8%, хорошо – 43%) и до 94% после 3-го курса (отлично – 48,4%, хорошо – 46,5%).

При сравнении показателей по таблице сопряжённых признаков отмечена высокая корреляция между симптомами АР и приступами удушья; кожными проявлениями и приступами удушья, а также зависимость симптомов зуда и сыпи между собой при atopическом дерматите в сочетании с БА.

Например, при оценке зависимости симптомов БА (параметр б) и кожного зуда (параметр 7) при проведении 3-х летней АСИТ бытовыми аллергенами вероятность того, что пациент к концу 1-го года лечения придёт с нулевой степенью и приступов удушья и зуда кожи составляет 33% (Хи-квадрат, $\alpha = 0,03$). Зависимость параметров б и 7 к концу 2-го года АСИТ указывает, что вероятность нулевой степени приступов удушья и зуда кожи до 75%, а к концу 3-го года – до 97%. Уменьшение значений выраженности кожных проявлений даёт основание предполагать первостепенное значение АСИТ для кожных симптомов. Уменьшение степени тяжести проявлений и их сочетание подчеркивает эффективность АСИТ для обеих нозологических форм. После первого года лечения степень выраженности симптомов бронхиальной астмы меняется незначительно, однако значительно возрастает качество жизни пациента с учётом уменьшения выраженности одного из ведущих симптомов atopического дерматита – кожного зуда.

У пациентов с atopическим дерматитом и atopической БА, не получавших АСИТ, в начале 1-го года наблюдения возможны взаимосвязи

различных степеней тяжести симптомов между собой в процентном соотношении. В конце первого года комплексной терапии прослеживается уменьшение выраженности как симптомов, так и улучшение качества жизни на фоне базисной терапии. Через 2 года наблюдения пациенты имеют положительный эффект от проводимой терапии, но сохраняют высокую вероятность нарастания степени выраженности клинических симптомов с течением времени, преимущественно за счёт выраженности симптомов атопического дерматита. К концу 3-го года наблюдения, несмотря на проведение терапии для достижения контроля в отношении атопической БА и купирования обострений атопического дерматита, вероятность увеличения как степени выраженности проявлений каждого из заболеваний, так и их вероятное соотношение по степени выраженности значительно увеличивается. Таким образом, чрез 2-3 года наблюдения, несмотря на проводимую терапию, прослеживается нарастание как степени тяжести проявлений, так и варианты их сочетания к 3-му году наблюдения, что значительно сказывается на уровне качества жизни больных.

Заключение. Полученные данные подтверждают благоприятное влияние аллергенспецифической иммунотерапии на изменение качества жизни пациентов и течение атопической бронхиальной астмы коморбидной с аллергическим ринитом и атопическим дерматитом, подчёркивая значимость иммунотерапии аллергенами при наличии поливалентной сенсibilизации. Использование сопряжённых таблиц предоставляет возможность составлять вероятный прогноз степени выраженности симптомов аллергического заболевания во времени как на фоне АСИТ, так и в случае невозможности её проведения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Адо А.Д. Общая аллергология / А.Д. Адо. М.: Медицина, 1978. – 428 с.
2. Анализ показателей заболеваемости распространённости бронхиальной астмы среди населения Омской области / Н.В. Овсянников и др. // Пульмонология. – 2012. – №1. – С. 78-81.
3. Астафьева, Н.Г. Аллергический ринит и его влияние на астму: роль антигистаминных препаратов в лечении и профилактике / Н.Г. Астафьева // Российский аллергологический журнал. – 2008. – № 1. – С. 37-46.
4. Глобальная стратегия лечения и профилакти-

ки бронхиальной астмы. Пересмотр 2011 г. Российское респираторное общество. М., 2012. – 107 с.

5. Гущин И.С. Аллергия и аллергенспецифическая иммунотерапия / И.С. Гущин, О.С. Курбачева. - М., Фармарус Принт Медиа, 2010. - С. 165.

6. Ильина Н.И. Аллергология в различных регионах России по результатам клинко-эпидемиологических исследований / Н.И. Ильина // Автореф. дис. д-ра мед. наук. - М., 1996. – 25 с.

7. Курбачева О.М. Новые аспекты применения интраназальных глюкокортикостероидов при аллергическом рините / О.М. Курбачева // Российский аллергологический журнал. – 2007. – № 4. – С. 62-65.

8. Надей Е.В. Использование ингаляционных провокационных тестов для определения риска развития бронхиальной астмы у больных с аллергическим ринитом / Е.В. Надей, В.И. Совалкин, К.И. Нестерова // Российская ринология. - 2007. - №2. - С. 20а-21.

9. Овчаренко, С.И. Что может улучшить контролем течения бронхиальной астмы? / С.И. Овчаренко, М.Н. Акулова, А.Б. Смулевич // Consilium medicum – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 62-67.

10. Оценка состояния иммунной системы у больных бронхиальной астмы с сопутствующими заболеваниями полости носа и околоносовых пазух / Н.В. Чичкова, А.С. Лопатин, Е.П. Гитель, Н.С. Сулейманов // Вестник отоларингологии. – 2012. – № 12. – С. 27-30.

11. Хаитов Р.М. Аллергология и иммунология, национальное руководство / Р. М. Хаитов, Н. И. Ильина. - М., «ГЭОТАР-Медиа», 2009. - С. 15-16.

12. Bharadwaj L. Human Health Risk Assessment Approach for Urban Park Development / L. Bharadwaj, R. Machibroda // Arh. Hig. Rada Toksikol. - 2008. -V. 59. - №3. - P. 213-221.

13. Interleukin 13 and interleukin 4 receptor-α polymorphisms in rhinitis and asthma / R.W. Bottema, I.M. Nolte, T.D. Howard [et al.] // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2010. – Vol. 153, № 3. – P. 259-267.

МЕСТО ТОПИЧЕСКИХ ИНТЕРФЕРОНОВ В ЛЕЧЕНИИ ОСТРОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ У БЕРЕМЕННЫХ

Надей Е.В., Нестерова К.И., Нечаева Г.И., Шупина М.И., Терещенко Ю.В.

ФГБОУ ВО Омский государственный медицинский университет МЗРФ. Омск. ФГБУЗ ЗСМЦ ФМБА России, кафедра внутренних болезней и семейной медицины ДПО

PLACE OF TOPICAL INTERFERON FOR ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTION DURING PREGNANCY

Nadey E.V., Nesterova K.I., Nechayev G.I., Shupina M.I., Tereshchenko J.V.

Omsk State Medical University. Omsk

Кнастоящему моменту наукой описано примерно 5000 видов вирусов, им уже более 120 лет посвящают глубокие научные исследования. Для них, как и для любого живого существа на Земле, характерно стремление выжить и дать продолжение собственному виду.

Высокой распространенностью, контагиозностью, развитием транзиторных иммунодефицитных состояний, тенденцией к обострению хронических воспалительных заболеваний объясняется актуальность проблемы острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), которые представляют собой клинически и морфологически схожие острые воспалительные заболевания органов дыхательной системы [1,6,7]. Группу риска по заболеваемости ОРВИ составляют дети, люди пожилого возраста, а также беременные женщины [4].

Естественное следствие физиологически протекающей беременности – повышенная восприимчивость к различным инфекциям. Это связано с усилением физиологической иммуносупрессией организма матери по мере увеличения срока нормальной гестации, а также с нарастанием анатомо-функциональных изменений в органах респираторной системы [3]. Во время беременности развивается перевес Th2-лимфоцитов, частично за счёт индукции синтеза ИЛ-4 прогестероном. Клеточно-опосредованный иммунный ответ угнетен. Иммуносупрессия реализуется за счёт ряда гормонов и цитокинов (ИЛ-4, ИЛ – 10 и ТФР-бета). В процессе беременности снижается активность естественных киллерных клеток [2]. Таким образом, изменения в иммунной системе являются одним из основных факторов реализа-

ции вирусной инфекции у беременных.

Лекарственная терапия, используемая для устранения симптомов ОРВИ, представлена симптоматическими средствами, препаратами с прямым противовирусным действием и иммуномодуляторами с противовирусной активностью [5,7].

Цель работы. Оценить клиническую эффективность интраназального интерферона человеческого рекомбинантного альфа-2b (10 000 МЕ / мл) в лечении острой респираторной вирусной инфекции у беременных на сроке гестации 14 недель, при раннем (первые 48 часов) и более позднем (через 72-96 часов) обращении за медицинской помощью.

Пациенты и методы. На этапе амбулаторного лечения под наблюдением терапевта, акушер-гинеколога, оториноларинголога находились 37 беременных на сроке гестации 14 недель. 17 из них обратились в ранние сроки заболевания, 8 обратились через 72 часа от начала болезни, обе группы получали системные противовирусные средства прямого действия в сочетании с интраназальным использованием интерферона альфа-2b человеческого рекомбинантного (10 000 МЕ /мл) в виде спрея (Гриппферон) по 3 дозы в каждый носовой ход 5-6 раз/сут (разовая доза 3000 МЕ, суточная доза 15000-18000 МЕ). Контрольная группа из 12 женщин получала только системные противовирусные средства прямого действия и симптоматическую терапию. Из них 7 пациенток обратились в первые 2 суток от начала заболевания, 5 – спустя 72 часа от начала болезни.

Собранные жалобы, анамнез, клинический осмотр и инструментально-лабораторные исследо-

вания (передняя риноскопия, общий анализ крови и мочи) позволили получить информацию о клинической картине заболевания и определить тактику ведения пациенток. При оценке источников инфицирования пациенток установлено, что в 38% случаев заражение произошло в общественных местах, у 23% – на рабочем месте, у 16% – при посещении поликлиник, в 13% случаев – от членов семьи.

Данное исследование было проведено на базе 3-х медицинских учреждений Омска. Период наблюдения за каждой пациенткой составил 3 недели. На каждом визите при осмотре оценивали следующие симптомы:

- Озноб;
- слабость;
- повышение температуры;
- боль в мышцах;
- ринит;
- першение в горле;
- кашель;
- боль в горле;
- явления конъюнктивита;
- головная боль.

Оценка состояния осуществлялась во время контрольных визитов на 3-й день (визит 2), 7-й (визит 3), 14-й (визит 4), 21-й (визит 5) по следующей шкале:

- 0 — симптомы отсутствуют;
- 1 — легкое течение: симптомы определяются, но легко переносятся;
- 2 — среднетяжелое течение: симптомы определяются и причиняют беспокойство.

Лечение пациенток с тяжёлым течением ОРВИ проводилось в стационарных условиях, данные пациентки в исследование не включались.

Результаты и их обсуждение. Раннее обращение (первые 48 часов) беременных с клиническими проявлениями ОРВИ регистрировалось в 64,9%, позднее (на 4 сутки) – в 35,1%. До начала терапии на первом визите пациентки предъявляли жалобы на симптомы интоксикации, проявляющиеся повышением температуры до 37,4°C (78,3%) и общей слабостью (93,1%), нарушение носового дыхания (87,4%), выделения из носа (62,9%), чувство першения (47,3%) и боли в глотке при глотании (39,7%). При передней риноскопии определялись отёк и гиперемия слизистой полости носа, при фарингоскопии – инъекция сосудов мягкого неба, гиперемия зева. Проявления легкой степени тяжести квалифицировалось в 76,5%, средней степени тяжести в 23,5%.

Наибольшие различия в выраженности симптомов на фоне проводимой терапии были отмечены при втором визите: у пациенток 1 группы они были в 1,8 раза менее выражены, чем у пациенток 2 группы и в 1,9 раз, чем в контрольной

группе у пациенток с ранним обращением, а также в 2,3 раза менее выражены, чем у пациенток контрольной группы с поздним обращением. Во всех 3 группах в первые 3 дня отмечена нормализация температуры тела. Выраженность катаральных явлений в первые три дня уменьшилась у 75% пациенток 1 группы, 47% пациенток 2 группы и лишь у 24% – 3 группы. Динамика купирования ключевых симптомов – першения в горле, сухого кашля и боли в горле, была также лучше при втором визите в группах 1 и 2. К третьему визиту пациентки 1 группы жалоб не предъявляли, у пациенток 2 группы в 29% случаев сохранялась общая слабость и сухой кашель, на фоне першения в горле в ночные часы, указанные клинические симптомы были отмечены у 37% пациенток 3 группы. К четвёртому визиту у пациенток 3 группы, с поздним обращением от начала болезни, сохранялся легкий астенический синдром в виде общей слабости.

Заключение. Включение топической формы рекомбинантного человеческого альфа-2b интерферона (Гриппферона) в состав терапии ОРВИ у беременных характеризуется быстрым началом действия и приводит к улучшению клинической картины заболевания, существенному регрессу основных симптомов, ускорению сроков выздоровления в случае позднего обращения. Препарат обладает хорошим профилем безопасности. Использование рекомбинантного человеческого альфа-2b интерферона (Гриппферона) в виде назального спрея расширяет возможности эффективной и безопасной терапии острой респираторной вирусной инфекции у беременных, улучшая качество их жизни.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Айламазян Э.К. Методические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике инфекции, вызванной вирусом гриппа А/Н1N1 у беременных женщин / Э.К. Айламазян [и др.]. – СПб: Издательство Н-Л, 2010. – 35 с.
2. Алешкин В.А., Ложкина А.Н., Загородняя З.Д. Иммунология репродукции: Пособие для врачей, ординаторов и научных работников. Чита, 2004. С. 79.
3. Белокрыничкая Т.Е., Кошмелева Е.А., Трубицына А.Ю. Беременность и пандемия гриппа – 2009: Эффективность мер профилактики и факторы риска заболеваемости // Материалы XI Всероссийского форума «Матери дитя». 2010. С. 26-27.
4. Ершов Ф.И., Касьянова Н.В., Полонский В.О. Возможна ли рациональная фармакотерапия гриппа и других ОРВИ//Consilium Medicum. Инфекции и антимикробная терапия. 2003. Т.5, № 6. С. 129-134.
5. Кареткина Г.Н. Грипп. ОРВИ: проблемы профилактики и лечения. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2015. № 4, С. 25-34.
6. Киселев О.И. Грипп беременных / А.Ф. Попов, О.И. Киселев //Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2013 – № 3. – С. 40-43.
7. Романцов М.Г., Киселев О.И., Сологуб Т.В. Этиопатогенетическая фармакотерапия ОРВИ и гриппа. Лечащий врач. 2011, № 2. – С. 92-96.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ TGF- α , TGF- β 1 И TGF- β 2 ПРИ АНОГЕНИТАЛЬНЫХ КОНДИЛОМАХ

Невежжина Т.А., Тулупова М.С., Костюшко А.В., Матюшкина Л.С.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владивосток.

DETERMINING THE LEVEL OF TGF- α , TGF- β 1 AND TGF- β 2 WITH ANOGENITAL WARTS

Nevezhkina T.A., Tulupova M.S., Kostyushko A.V., Matyushkina L.S.

Federal State Educational Institution of Higher Education "Pacific State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladivostok

Заболевания, вызываемые вирусом папилломы человека (ВПЧ) относятся к группе инфекционных заболеваний вирусной природы, которые приводят к патологическим изменениям эпителия слизистых оболочек и развитию аногенитальных кондилом (Шахтантинская Ф.Ч., 2015). Аногенитальные кондиломы – доброкачественные новообразования, которые являются наиболее распространенным проявлением ВПЧ инфекции, передающейся половым путем (Squiquera L., Taxman D.J., 2017). Один из основных вопросов – это проведение адекватной противовирусной и иммунокорректирующей терапии, которая воздействует на патогенетическое звено и способствует купированию инфекционного процесса. Центральную роль в регуляции иммунного ответа при ПВИ отводится растворимым факторам межмолекулярного взаимодействия, одним из которых является TGF (Рахматулина М.Р., 2012). Повышенный уровень TGF- β в сыворотке крови свидетельствует о наличии вирусного процесса и позволяет провести оценку локальной иммуносупрессии. В 1994 году I. Konishi, Y. Ishikawa зарегистрировали, что экспрессия TGF- α связана с патогенетическими изменениями в эпителии шейки матки и может играть большую роль в развитии канцерогенеза и в прогрессировании цервикальной патологии (Konishi I., Ishikawa Y., 1994). Повышенная экспрессия TGF- β , ассоци-

ированная с ВПЧ высокого онкогенного риска, может послужить дополнительным признаком цервикальной патологии (Андросова Л.Д., 2013). Выявлено повышение TGF- β 1 при остроконечных кондиломах аногенитальной области (Москалёв А.В., Рудой А.С., 2016), однако мало исследовался TGF- β 2.

Целью исследования явилась сравнительная характеристика уровней TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2 у пациенток с аногенитальным кондиломатозом и пациенток без аногенитальных кондилом.

Обследовано 39 пациенток женского пола от 25 до 44 лет. Из них у 29 человек была выявлена ПВИ. Пациентки разделены на 3 группы:

- I группа – с остроконечными кондиломами аногенитальной области (16 человек);
- II группа – с вирусным цервицитом, без остроконечных кондилом аногенитальной области (14 человек);
- III группа – контрольная группа практически здоровых женщин (9 человек).

Биологическим материалом служила сыворотка крови. Уровни TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2 определяли иммуноферментным методом с применением реактивов «R&D Diagnostics Inc» (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Учёт результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Статистический

анализ проводился с помощью программы SPSS v16. Результаты выражали в пг/мл.

В ходе исследования определено статистически значимое увеличение уровня TGF- β 1 в сыворотке крови у женщин обеих основных групп ($p < 0,01$), но не установлено различий в степени его увеличения в зависимости от характера инфекционного процесса ($29,03 \pm 0,96$ пг/мл – в I группе и $30,84 \pm 1,3$ пг/мл – во II группе, против $2,4 \pm 1,4$ пг/мл – в группе контроля). Так же засвидетельствовано увеличение уровня TGF- β 2 в сыворотке крови у женщин в I группе, но не выявлено различий между II группой и группой контроля ($113,84 \pm 6,13$ пг/мл – I группа; $68,83 \pm 6,8$ пг/мл – II группа и $57,37 \pm 0,84$ пг/мл – группа контроля). Повышенный уровень TGF- β 2 в I группе свидетельствует о том, что вирус присутствует в большом количестве и служит основным механизмом уклонения трансформированных клеток от иммунной системы. Установлено статистически значимое увеличение TGF- α в сыворотке крови женщин обеих групп ($p < 0,001$). Наиболее высокий уровень определён во II группе пациенток без остроконечных аногенитальных кондилом ($127,085 \pm 12,3$ пг/мл против $92,69 \pm 17,18$ пг/мл в I группе, $p < 0,05$). Это свидетельствует о том, что экспрессия TGF- α более высока при наличии хронического цервицита. Ещё в 1992 году F.P. Xynos в своём исследовании показал, что экспрессия TGF- α часто ассоциирована с злокачественными опухолями и ВПЧ-индуцированными поражениями эпителиального происхождения (Xynos F.P., Klos D.J., 1992). Изменение TGF- α , TGF- β 1 и TGF- β 2 свидетельствует о роли трансформирующих ростовых факторов в патогенезе аногенитальных кондилом и цервикальной неоплазии. Определение уровня TGF- α и TGF- β 2 можно использовать в качестве дополнительных дифференциально-диагностических признаков разных клинических форм папилломавирусной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Андросова Л. Д. Состояние локального иммунитета в зависимости от плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки//Медицинский альманах.-2013.-№ 6.-С.66-69.
2. Москалев А.В., Рудой А. С. Изоформы трансформирующего ростового фактора, их биологическая активность и иммунопатология//Медицинский альфаит.-2016.- №19,-Т.№3 Современная лаборатория.-С.91-92.
3. Рахматулина М. Р. Новые подходы к оказанию специализированной дерматовенерологической помощи социально неблагополучным группам детей и подростков//Вестник дерматологии и венерологии.-2006.-Т.№5.-С.50-53.
4. Шахтинская Ф.И., Намазова-Баранова Л.С., Таточенко В.К. Вирус папилломы человека. Профилактика ВПЧ-ассоциированных заболеваний//Педиатрическая фармакология.-2015.-С.74-78.
5. Cao Y., Zhao J., Lei Z., Shen S., Liu C., Li D., Liu J., Shen G.X., Zhang G.M., Feng Z.H., Huang B. Local accumulation of FOXP3+ regulatory T cells: evidence for an immune evasion mechanism in patients with large condylomata acuminata//J Immunology.-2008 Jun 1;180(11):7681-6. PMID:18490771.
6. Konishi I., Ishikawa Y., Wang S.Y., et al. Expression of transforming growth factor-alpha in the normal cervix and in benign and malignant lesions of the uterine cervix//Br J Obstract Gynaecology.-1994.-P.9.
7. Squiquera L., Taxman D.J., Brendle S.A., Torres R., Sulley J., Hodge T., Christensen N., Sidransky D. Ranpirnase eradicates human papillomavirus in cultured cells and heals anogenital warts in a Phase//Antiviral Therapy.-2017 Jan 25.-doi: 10.3851/IMP3133.

ХЛАМИДОФИЛЬНАЯ И МИКОПЛАЗМЕННАЯ ИНФЕКЦИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ДЛИТЕЛЬНОГО КАШЛЯ И БРОНХООБСТРУКТИВНОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ

Незабудкин С.Н., Рукуйжа М.С., Незабудкина А.С.

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, Санкт-Петербург

CHLAMYDOPHILA AND MYCOPLASMA PNEUMONIAE IN THE PATHOGENESIS OF PROLONGED COUGH, OBSTRUCTIVE SYNDROME IN CHILDREN

S.N. Nezabudkin, M.S. Rukuyzha, A.S. Nezabudkina

Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

Современные и доступные методы иммунологической и молекулярной диагностики позволяют объективно определять удельный вес данных инфекций среди острых респираторных заболеваний, который составляет от 7% до 50% [1]. Атипичные возбудители могут персистировать, являясь условно-патогенной флорой верхних дыхательных путей и, становиться активным инфекционным агентом на фоне острой вирусной инфекции. Вместе с тем, терапия *Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae* до сих пор проводится неадекватно короткими курсами антибактериальных препаратов макролидного или пенициллинового ряда, что приводит к частым рецидивам заболевания и утяжелению их течения (особенно при внебольничной пневмонии) [2,4]. Цель исследования. Для предупреждения рецидивирования и хронизации течения респираторной хламидийной и микоплазменной инфекций, а так же формирования и утяжеления течения бронхиальной астмы (БА) у детей, перенёсших *Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae* разработать адекватные схемы диагностики и длительного медикаментозного [5, 7, 8] и восстановительного лечения.

Материал. Под наблюдением находилось 238 пациентов от 2 до 18 лет с диагностированными респираторной хламидийной и/или микоплазменной инфекциями, которых распределили по 3 группам:

I – 58 детей (острый ларинготрахеит (ОЛТ) – 17 ч., инфекционный бронхит без обструктивного синдрома (ИБ) – 12 ч., острый трахеит (ОТ) – 15 ч., бронхит с обструктивным синдромом (БОС – 14 ч.), терапию проводили педиатры антибактериальными препаратами (амоксциллин в суточной дозе 50 мг/кг/сут 5-7 дней; азитромицин

10 мг/кг/сут 3-5 дней; цефиксим 8 мг/кг/сут – 5-7 дн.).

II – 61 ребёнок (ОЛТ – 13 ч., ИБ – 12 ч., БОС – 17 ч., ОТ – 17 ч., внебольничная пневмония (ВП) – 2 ч.), получали пролонгированный курс антибактериальной терапии (азитроитцин 10 мг/кг/сут 10 дней, кларитромицин 7,5 мг/кг/сут 10 дней), назначенного инфекционистом.

III – 119 детей (БА аллергическая: легкое течение – 32 ч., средней степени тяжести – 13 ч. в фазе обострения, по поводу которого получали ингаляции сальбутамола или сочетание сальбутмола с будесонидом в возрастных дозировках; ОЛТ – 9 ч., ОБ – 28 ч., БОС – 25 ч., ОТ – 12 ч.). Терапия хламидийной и микоплазменной инфекций проводилась азитромицином в дозе 10 мг/кг 1 раз в сутки 7 дней, затем 10 мг/кг 1 раз в сутки на 14, 21, 28 дни. Антибактериальная терапия сочеталась с индукторами эндогенного интерферона (циклоферон с 4 летнего возраста, бронхо-мунал – дети раннего возраста) в возрастных дозировках и восстановительным лечением в специализированном аллергологическом центре.

Методы. Анамнестические данные получены при опросе пациентов, родителей, анализе всей предоставленной медицинской документации. Состояние пациентов оценивалось в динамике (длительность катамнеза не менее 1 года). Во всех группах определяли IgA, IgM, IgG в сыворотке крови к *Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae* (тест-системы ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск). Молекулярная диагностика: выделение ДНК патогенов (*Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae*) из бранш – биоптатов слизистой носоглотки методом ПЦР (наборы «АмплиСенс», Россия). Иммунологическое обследование III группы включало опреде-

ление: общего IgE (тест системы «Алкор-био», Россия). Общее содержание IgE оценивали в баллах: 1 балл – норма, 2 балла – выше верхнего значения нормы в 2 раза, 3 балла – в 3 раза и т.д. У больных с повышенным уровнем IgE и клиникой аллергического заболевания проводилось полное аллергологическое обследование (прик-тесты, специфические IgE к неинфекционным аллергенам). В III группе проводилось функциональное обследование: спирография (спирограф Micro Medical Limitid, England). Бронходиляционный тест с β_2 агонистом (200 мг салбутамола), проба с дозированной физической нагрузкой (ДФН) на беговой дорожке (Ketler) проводилась по стандартной методике. Динамику кашлевого синдрома оценивали по совокупности интенсивности следующих показателей в баллах: наличие и характер кашля, дневные и ночные симптомы.

Результаты исследований. Для диагностики *Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae* использовали два метода исследования. Результаты молекулярно-генетической диагностики не позволяют стадию (острая, хроническая, персистенция) инфекционного процесса. ИФА позволяет установить стадию заболевания по уровню титра специфических антител или нарастанию величин в динамике. Оба метода были положительными у 50% обследованных. Длительное персистирование в слизистой носоглотки подтверждают положительные результаты ПЦР при отсутствии диагностических титров ИФА к *Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae*. Наличие одного положительно метода обследования в совокупности с клинической картиной было расценивали как доказательство хламидийной или микоплазменной инфекций. Эффективность этиотропной антибактериальной терапии, подтвердила сделанное заключение.

Определение содержания IgE в плазме крови провели у 68 детей с *Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae* [10]. Обследованные пациенты распределены в группы по основному заболеванию: БА (n=21), БОС (n=22), ИБ (n=25).

Увеличение содержания IgE в плазме крови не только в группе пациентов с БА (4,0 б.) и БОС (2,6 б.), но и у детей с ИБ (1,5 б.) (р БА – БОС < 0,01, р БА – ИБ < 0,01, р БОС – ИБ < 0,01; t-критерий Стьюдента). Не смотря на то, что в нашем исследовании специфические IgE к *Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae* не определялись, повышенное содержание общего IgE можно объяснить активацией Th2 типа иммунного ответа с последующим синтезом специфических IgE.

Оценку вентиляционных нарушений проводили в двух группах пациентов: дети с обостре-

нием БА на фоне хламидийной и микоплазменной инфекций (БА [*Chl. pn.*, *M. pn.*+]», n=45), группа сравнения – дети с обострением БА, у которых *Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae* по результатам диагностики не выявлены (БА [*Chl. pn.*, *M. pn.*»-»], n=35). Инфицирование *Chl. pneumoniae*, *M. pneumoniae* при бронхиальной астме приводит к неконтролируемому течению заболевания [9] и существенно более продолжительному использованию бронхорасширяющих препаратов, что требует более частого и длительного использования ингаляционных глюкокортикостероидов в качестве базисной терапии [3, 6]. При острых респираторных вирусных инфекциях купирование обострения БА достигается более низкими дозами ингаляционных глюкокортикостероидов и коротким курсом бронхорасширяющих препаратов (БА *Chl. pn.*, *M. pn.* [+] – БА *Chl. pn.*, *M. pn.* [-] p < 0,01 (t-критерий Стьюдента для двух независимых выборок)).

ДФН проводили у 68 детей с выявленной *Chl. pneumoniae* или *M. pneumoniae* после завершения антибактериальной и иммуномодулирующей терапии у детей III группы – через 4 недели и через 6 месяцев от начала комплексной (медикаментозной противовоспалительной и восстановительной) терапии. Пациенты разделены на следующие подгруппы: БА (n=21), БОС (n=22), ИБ (n=25). На фоне терапии достоверно повысилась толерантность к физическим нагрузкам (р БА 4нед-6 месяцев < 0,01; р БОС 4нед-6 месяцев < 0,01; р ИБ 4нед-6 месяцев < 0,01, (статистическая достоверность оценивалась двухвыборочным тестом Колмогорова-Смирнова)).

Оценка эффективности терапевтического комплекса в I, II и III группах основывалась на анализе динамики кашлевого синдрома, сборе анамнеза по количеству острых респираторных инфекций (ОРИ). До лечения выраженность кашлевого синдрома в трёх группах не различалась и составила в среднем 3,8 балла. Через 4 недели отмечено достоверное снижение кашлевого синдрома во II (2,4 б.) и III (2,1 б.) группе по сравнению с I группой (2,7 б.) (р I-II < 0,05; р II-III < 0,05; р I-III < 0,01). После 12 недель наблюдения выявлено достоверно более выраженное снижение кашлевого синдрома во II (1,3 б.) и III (1,0 б.) группах и особенно по сравнению с I группой (2,1 б.) (р I до лечения - I 12 нед. < 0,05; р II до лечения – II 12 нед. < 0,01; р III до лечения – III 12 нед. < 0,01; t-критерий Стьюдента для связанных выборок).

После комплекса лечебно-реабилитационных мероприятий у детей III группы среднее количество острых респираторных инфекций в течение

года значительно уменьшилось (с 6,3 до 3,8) (р III до–III после<0,01; t-критерий Стьюдента для связанных выборок). Во II группе детей на фоне антибактериальной и иммуномодулирующей терапии так же отмечено снижение числа ОРИ (с 6,1 до 4,9), однако в меньшей степени чем в III группе (р II до – II после<0,05). В I группе, через 12 месяцев после начала терапии, отмечается статистически недостоверное увеличение частоты заболевания (с 6,3 до 7,2) (р I до –II после>0,05).

Выводы. Для подтверждения хламидийной или микоплазменной инфекций достаточно одного положительного метода (ИФА, ПЦР) в совокупности с клинической картиной. В целях снижения риска персистирования хламидийной и микоплазменной инфекций; утяжеления течения и формирования БА необходимо адекватное сочетание пролонгированного курса азитромицина в дозе 10 мг/кг 1 раз в сутки 7 дней, затем 10 мг/кг 1 раз в сутки на 14, 21, 28 дни с индукторами синтеза интерферона (циклоферон с 4 летнего возраста, бронхо-мунал – с 2-4 лет) в возрастных дозировках и комплекса восстановительного лечения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ахапкина, И. Г. Распространение микоплазменной инфекции у больных с атопией / И. Г. Ахапкина // Инфекционные болезни. – 2006. – Т. 4, № 3. – С. 39-41.
2. Лобзин, Ю. В. Хламидийная инфекция: руко-

водство для врачей / Ю. В. Лобзин, Ю. И. Ляшенко, А. Л. Позняк. – СПб. : Фолиант, 2003. – 400 с.

3. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» / Рос. респират. о-во, Педиатр. респират. о-во; [науч. ред.: проф. Волков И. К. и др.]. – [4-е изд., испр. и доп.]. – М. : Оригинал-макет, 2012. – 182 с.

4. Практическая пульмонология детского возраста: справочник / В. К. Таточенко, С. В. Рачинский, И. К. Волков [и др.]; под ред. В. К. Таточенко. – 2-е изд. – М. : [б. и.], 2001. – 268 с.

5. Савенкова, М. С. Хламидиоз у детей: современные аспекты лечения / М. С. Савенкова, А. А. Афанасьева // Эффективная фармакотерапия. Эпидемиология и инфекции. – 2012. – № 1. – С. 19-30.

6. Суханова Н. А. Клиническое значение влияния латентной инфекции верхних дыхательных путей на течение бронхиальной астмы у детей // Суханова Н. А. Цветков Э. А. Новик Г. А. / Педиатрическая фармакология. – 2012. – Т.9, №6. – С. 54 – 60.

7. Chlamydia pneumoniae and chronic bronchitis: association with severity and bacterial clearance following treatment / F. Blasi, S. Damato, R. Cosentini [et al.] // Thorax. – 2002. – Vol. 57. – P. 672-676.

8. Chlamydia pneumoniae and newly diagnosed asthma: a case-control study in 1 to 6-year-old children / M. Korppi, M. Paldanius, A. Hyvarinen [et al.] // Respiriology. – 2004. – Vol. 9, № 2. – P. 255-259.

9. Importance of acute Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae infections in children with wheezing / S. Esposito, F. Blasi, C. Arosio [et al.] // Eur. Respir. – 2000. – Vol. 16, № 6. – P. 1142-1146.

10. Patel, K.K. Evidence of an infectious asthma phenotype: chlamydia driven allergy and airway hyperresponsiveness in pediatric asthma: a dissertation.... doctor of philosophy / Katir Kirit Patel. – Massachusetts, 2013. – 172 p.

ИССЛЕДОВАНИЕ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К АНТИГЕНАМ РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ ЯБЛОКА У ДЕТЕЙ

Прилуцкий А.С., Ткаченко К.Е.

Кафедра клинической иммунологии, аллергологии и эндокринологии,
Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, г. Донецк

INVESTIGATION OF DIFFERENT APPLE CULTIVARS SENSITIZATION IN CHILDREN

Prylutskyi O., Tkachenko K.

Department of Clinical Immunology, Allergology and Endocrinology,
M. Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk

В настоящее время в мире отмечается тенденция к увеличению частоты аллергических заболеваний. В среднем, до 30% населения планеты страдает различными формами аллер-

гической патологии. По данным последних публикаций, аллергия к фруктам встречается у 6,6% взрослых и 11,5% детей в возрасте до 6-ти лет, среди которых у 8,5% регистрируется аллер-

гия к яблоку [1]. Также имеются документальные сведения подтверждающие, что аллергии к яблоку подвержено до 2% населения Европы [2]. Кроме того, исследования European Community Respiratory Health Survey также показали, что в профилях сенсibilизации 4522-х молодых людей, проживающих в 13-ти различных странах Европы, яблоко являлось одним из наиболее частых продуктов – причин пищевой аллергии. Частота сенсibilизации к пищевым продуктам в данном исследовании колебалась в пределах 7,2-2,8% [3].

Следует отметить, что работы, изучающие сенсibilизацию к различным сортам яблок в мире единичны. Исследований сенсibilизации к сортам яблок, которые произрастают в ДНР, России, Украине, Белоруссии и других странах бывшего СССР вообще не проводилось.

Цель исследования. Целью настоящей работы явилось изучение концентраций специфических иммуноглобулинов Е и частоты сенсibilизации к различным сортам яблока у детей, имеющих проявления пищевой аллергии на момент осмотра или в анамнезе.

Материалы и методы. Нами исследованы сыворотки крови 163 детей в возрасте от 5-ми месяцев до 17-ти лет. Пациенты предъявляли жалобы на частое развитие различных пищевых аллергических реакций, преимущественно атопического дерматита и крапивницы. У всех обследованных проводилось определение уровней специфических IgE-антител (sIgE) к различным сортам яблока (Антоновка, Симиренко, Снежный кальвиль, Голден, Айдаред, Джонатан, Чемпион, Лиголь). Лабораторное тестирование выполнялось с помощью тест-систем для иммуноферментного анализа отечественного производства (г. Донецк) с аналитической чувствительностью 0,05 – 0,075 МЕ/мл. Статистический анализ полученных данных проводился с помощью лицензионной программы «MedStat». Выполнена оценка характера распределений показателей на нормальность, и, учитывая отличие их от нормального, были рассчитаны следующие показатели: медиана, ошибка медианы ($M \pm m$); 95% доверительный интервал (ДИ). Также был проведён ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса, направленный на выявление различий в уровнях sIgE к различным

сортам яблока. Также выполнены множественные сравнения частот сенсibilизации к антигенам различных сортов яблока с использованием критерия χ -квадрат, процедуры Мараскулино-Ляха-Гурьянова. Пограничные значения sIgE для сенсibilизированных лиц, принимались в соответствии с показателями здоровых детей аналогичного возраста.

Результаты исследования. В ходе проведённого исследования нами было установлено, что средние значения показателей sIgE-антител для различных сортов яблока у обследованных пациентов были следующими:

- Антоновка – $0,12 \pm 0,01$ МЕ/мл (0,11; 0,13);
- Симиренко – $0,12 \pm 0,02$ МЕ/мл (0,11; 0,13);
- Снежный кальвиль – $0,12 \pm 0,01$ МЕ/мл (0,11; 0,13);
- Голден – $0,15 \pm 0,01$ МЕ/мл (0,14; 0,16);
- Айдаред – $0,19 \pm 0,02$ МЕ/мл (0,18; 0,20);
- Джонатан – $0,18 \pm 0,02$ МЕ/мл (0,17; 0,19);
- Чемпион – $0,19 \pm 0,02$ МЕ/мл (0,18; 0,20);
- Лиголь – $0,19 \pm 0,03$ МЕ/мл (0,18; 0,20).

Ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса показал наличие достоверных отличий в 8-ми исследуемых группах ($p < 0,001$). Кроме того, критерием Данна были выявлены статистически значимые различия уровней sIgE к антигенам яблок сортов Антоновка, Симиренко, Снежный кальвиль и яблок сортов Айдаред, Джонатан, Чемпион, Лиголь, а также Голден ($p < 0,01$). Интересно отметить, что уровни sIgE к яблоку сорта Голден также достоверно отличались от уровней sIgE к яблокам сортов Айдаред, Джонатан, Чемпион и Лиголь ($p < 0,01$). Вместе с тем статистически значимой разницы в уровнях sIgE между сортами Антоновка, Симиренко и Снежный кальвиль выявлено не было ($p > 0,05$). Аналогично не выявилось различий средних значений sIgE и среди яблок сортов Айдаред, Джонатан, Чемпион и Лиголь ($p > 0,05$).

Проведённый анализ частоты сенсibilизации к антигенам яблока выявил существенные колебания частоты сенсibilизации к различным сортам яблока, которая составила:

- Антоновка – $12,9 \pm 2,6\%$;
- Симиренко – $17,2 \pm 2,9\%$;
- Снежный кальвиль – $8,6 \pm 2,2\%$;
- Голден – $20,9 \pm 3,2\%$;

- Айдаред – $25,1 \pm 3,4\%$;
- Джонатан – $22,7 \pm 3,3\%$;
- Чемпион – $25,8 \pm 3,4\%$;
- Лиголь – $24,5 \pm 3,4\%$.

Множественные сравнения частот сенсибилизации в 8-ми группах с использованием критерия χ^2 (двусторонней критической области) показали наличие статистически значимого различия на уровне значимости $p < 0,001$. Проведение процедуры Мараскулио-Ляха-Гурьянова позволило выявить, что частота сенсибилизации к антигенам яблока Снежный кальвиль достоверно ниже, чем к антигенам яблок сортов Чемпион, Лиголь и Айдаред ($p = 0,020$, $p = 0,041$ и $p = 0,029$ соответственно).

Вышеуказанные различия в уровнях выработки sIgE и частот сенсибилизации между «зелёными» и «красными» сортами, вероятнее всего, обусловлены генетически детерминированными различиями их антигенного состава, сопряжёнными с рядом сопутствующих филогенетических признаков. Общеизвестно, что окраска плода обуславливается наличием особых пигментов – флавоноидов, а для плодов красного цвета – наличием конкретного класса флавоноидов антоцианов. По своей химической структуре данные соединения являются фенолами, т.е. полициклическими углеводородами, и, соответственно, сами по себе не несут какого-либо алергизирующего потенциала. Однако рядом авторов на примере клубники было убедительно продемонстрировано, что экспрессия аллергенов – гомологов Bet v 1 (в яблоке – Mal d 1), непосредственно связана с биосинтезом флавоноидов, и что данный аллерген играет существенную роль в пигментообразовании [4].

Выводы:

1. Установлено, что уровни специфических иммуноглобулинов E среди детей с отягощённым

аллергическим анамнезом достоверно выше для сортов Айдаред, Джонатан, Чемпион и Лиголь ($p < 0,01$) по сравнению с яблоками сортов Антоновка, Симиренко, Снежный кальвиль и Голден. Также установлено, что уровни специфических иммуноглобулинов E к яблоку сорта Голден достоверно выше ($p < 0,01$) в сравнении с яблоками сортов Антоновка, Симиренко и Снежный кальвиль.

2. Анализ частоты сенсибилизации к антигенам яблока выявил статистически значимые различия вышеуказанного показателя ($p < 0,001$) среди 8-ми исследуемых сортов яблока. Установлено, что частота сенсибилизации к антигенам яблока Снежный кальвиль достоверно ниже, чем к антигенам яблок сортов Чемпион, Лиголь и Айдаред ($p = 0,020$, $p = 0,041$ и $p = 0,029$ соответственно).

3. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности определения специфической сенсибилизации к различным сортам яблока у детей, имеющих отягощённый аллергологический анамнез, при подборе индивидуальной диеты, и могут использоваться и в практическом здравоохранении, и в научных целях.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kiewning D., Schmitz-Eiberger M. Effects of long-term storage on Mal d 1 contents of four apple cultivars with initial low Mal d 1 contents. J Sci Food Agric. 2014; 94:798-802.
2. Bokszyzanin K.Ł., Przybyła A.A. Molecular aspects of allergy to plant products. Part II. Pathogenesis-related proteins (PRs), apple allergenicity governed by Mal d 1 gene. Pol Merkur Lekarski. 2012; 32:176-181.
3. Sicherer S.H. Epidemiology of food allergy. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2011; 127:594-602.
4. Munoz C., Hoffmann T., Escobara N.M., et al. The Strawberry Fruit Fra a Allergen Functions in Flavonoid Biosynthesis. Molecular Plant. 2010; 3(1):113-124.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА - ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АСИТ

Решетникова И.Д.^{1,2}, Агафонова Е.В.¹, Фассахов Р.С.²

¹ Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии, г. Казань

² Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, г. Казань

MOLECULAR DIAGNOSTICS – THE POSSIBILITY OF PROGNOSIS OF ALLERGEN-SPECIFIC IMMUNOTHERAPY

Reshetnikova I.D.^{1,2}, Agafonova E.V.¹, Fassakhov R.S.²

¹ Kazan scientific research institute of epidemiology and microbiology of Rospotrebnadzor, Kazan

² Kazan Federal university, Kazan

Важнейшими аспектами молекулярной диагностики являются, как способность выявлять причинную молекулу и отличать специфические молекулы от маркеров перекрестной реактивности, так и возможность определять структуру аллергенных протеинов, ответственных за сенсибилизацию. Наибольшую актуальность данный диагностический инструмент приобретает при выборе аллергена для аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) полисенсибилизированному пациенту. Как известно, при выборе аллергена необходимо учитывать совокупность анамнестических данных: наибольшая продолжительность и выраженность симптомов в году, основное влияние на качество жизни, уточнение периода, когда труднее всего избежать влияния аллергена. [1,2,3]. Наиболее значимый аллерген не должен выбираться по результатам наибольшей реактивности кожных аллергопроб или по самому высокому уровню специфического IgE. Выявление asIgE на главные и второстепенные компоненты аллергенов, согласно концепции молекулярной диагностики, помогает прогнозировать эффективность АСИТ [4,5]. Опыт использования молекулярной диагностики при atopических заболеваниях, уточнение места нового диагностического инструмента, определение клинических ситуаций, когда она может быть полезной, требует дальнейшего обсуждения.

Материалы и методы. Проведено 130 исследований по идентификации повышенного уровня специфических Ig E (asIgE) к молекулярным

компонентам у больных с респираторной аллергией (бронхиальной астмой, N = 66 и аллергическим ринитом, N = 64). Определение asIgE к рекомбинантным и натуральным компонентам (Phadia/Termoscientific) проводилось с использованием анализатора «Phadia-100» (Швеция, Phadia/Termoscientific) – к патогенреактивным протеинам пыльцы берёзы – rBet v 1, тимopheевки – rPhl p1, rPhl p 5b, главным молекулярным компонентом клещей домашней пыли – цистеинпротеазе Der p1, белку семейства NPC2 – rDer p2. Также проводились исследования на определение уровней asIgE к минорным компонентам (профилинам) – тимopheевки – rPhl p7, rPhl p 12; берёзы – rBet v 2; rBet v 4 и минорному молекулярному компоненту – белку клещей домашней пыли – тропомиозину (rDer p 10). Согласно инструкции производителя, результат трактовался – уровень вне детекции < 0,35 kUA/l; очень низкий уровень антител – 0,35-0,7 kUA/l; низкий уровень антител 0,7-3,5 kUA/l; положительный (средний) уровень – 3,5-17,5 kUA/l; высокий уровень – 17,5-50 kUA/l; очень высокий уровень – 50-100 kUA/l; уровень выше предела детекции > 100 kUA/l.

Результаты исследований. Панельные молекулярные исследования антител к компонентам пыльцы берёзы проведены у 62 больных. Повышенный уровень специфических антител к главному молекулярному компоненту rBet v 1 пыльцы берёзы выявлен в 87 % случаев (результат < 0,35 kUA/l – у 9,6 % больных; уровень 1 класса не детектировался; уровень 2 класса составил

16,1%; 3 класса – 3,2%; 4 класса – 35,4%; 5 класса – 19,3%; 6 класса – 19,3%). Сенсibilизация к минорным молекулярным компонентам пыльца берёзы выявлена у 16,1% больных. Среди этой группы уровень антител 3 класса имел место у 9,6%; 4 класса – у 3,2%; уровень 5 класса – у 3,2%. Т.о., полученные данные свидетельствуют, что преобладающим уровнем антител к мажорному компоненту берёзы rBet v 1 был очень высокий и уровень выше предела детекции (> 100 kUA/l), а преобладающим уровнем антител к минорному компоненту rBet v 2 была сенсibilизация среднего уровня.

Панельные молекулярные исследования сенсibilизации к пыльце тимopheевки проведены у 44 больных. Повышенный уровень специфических антител к главным молекулярным компонентам пыльца тимopheевки (rPhl p1, rPhl p 5b) выявлен у 80 % больных (результат $<0,35$ kUA/l – в 8,3% случаев; уровень 1 класса также составил 8,3%; 2 класса – 16,6%; 3 класса – 33,3%; 4 класса – 24,0%; 5 класса – 24,0%). Т.о., преобладающим уровнем сенсibilизации к мажорным компонентам тимopheевки были реакции среднего и высокого уровня. Сенсibilизация к минорным молекулярным компонентам пыльца (rPhlp7 rPhl p 12) тимopheевки выявлена у 16,1 % больных (уровни 1 и 2 класса не определялись, уровень 3 класса выявлен в 8,3%, 4 класса – в 8,3 %). Преобладающей сенсibilизацией к минорным компонентам тимopheевки была сенсibilизация среднего и высокого уровня. Панельные молекулярные исследования сенсibilизации к молекулярным компонентам клещей домашней пыли проведены у 24 больных. Повышенный уровень специфических антител к главному молекулярному компоненту – цистеинпротеазе (nDer p1) выявлен у 66,6 % (результаты $<0,35$ kUA/l не выявлялись, уровень 1 класса составил 8,3%; 2 класса – 8,3%; 3 класса – 8,3%; 4 класса – 25,0%; 5 класса – 8,3%; 6 класса – 8,3%). Повышенный уровень специфических иммуноглобулинов ко второму главному молекулярному компоненту клещей домашней пыли – ядерному белку NPC 2 (nDer p2) выявлен у 91,6% больных (результат $<0,35$ kUA/l не выявлен, уровень 1 класса составил 8,3%; 2 класса – 8,3%; 3 класса – 16,6%; 4 класса – 33,3%; 5 класса – 25,0%). Уровни 6 класса не выявлялись. Т.о., исследование антител к главным молекулярным компонентам

клещей домашней пыли показало, что для главного компонента цистеинпротеазы преобладающим был 4 – высокий уровень специфических антител, а для второго главного аллергокомпонента (ядерный белок-NPC 2) преобладающими были высокий (уровень 4) и очень высокий (уровень 5) уровни антител. Сенсibilизация к молекулярному минорному компоненту клещей домашней пыли – тропомиозину, (nDer p10) выявлена у 8,3 % больных.

Обсуждение и выводы. Согласно концепции молекулярной диагностики, эффективность АСИТ терапии прогнозируется высокой при повышенном уровне asIgE на главные компоненты и отсутствии антител на минорные компоненты, при повышенном уровне одновременно на главные и минорные белки АСИТ прогнозируется недостаточно эффективной. Полученные данные свидетельствуют о том, что при оценке эффективности АСИТ необходимо также учитывать и уровень антител – максимальная эффективность прогнозируется при очень высоком уровне [5] и уровне выше предела детекции (6 класс, > 100 kUA/l) – согласно этой концепции наилучшие результаты будут достигнуты при специфической терапии группы больных с повышенным уровнем антител к мажорному молекулярному компоненту берёзы (rBet v 1) и главному аллергокомпоненту клещей домашней пыли (ядерный белок-NPC 2) в сочетании со средним и ниже классом уровня минорных компонентов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bousquet J, Lockey RF, Malling H-J, eds. WHO position paper. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. Allergy 1998; 53(suppl 44):1–42.
2. Malling HJ, Weeke B (eds): EAACI Position paper: Immunotherapy. Allergy 1993;48(suppl 14):9–34.
3. Alvarez-Cuesta E, Bousquet J, Canonica GW, et al. Standards for practical allergenspecific immunotherapy. Allergy 2006; 61(suppl 82):1–20.
4. Canonica G.W., Ansotegui I.J., Pawankar R. et al. A WAO – ARIA – GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. World Allergy Organ.J., 2013; no. 6.
5. Canonica G.W, Ansotegui I.J., Pawankar R. et al. Document de consensus WAO–ARIA–GA²LEN sur le diagnostic allergologique moléculaire, Revue Française. Allergologie, 2015; no. 55, pp.2–83

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ С ОЧАГОВОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

Романова Ж.Л., Федотова Н.В., Орехова О.Ю., Шутова И.В., Осмоловская Л.Ю., Готовчикова А.А., Лузан Е.С.

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 имени С.В. Очаповского» министерства здравоохранения Краснодарского края. Краснодар. Россия

CYTOKINE PROFILE PECULIARITIES IN PATIENTS WITH LOCALIZED SCLERODERMA

Romanova Zh.L., Fedotova N.V., Orekhova O.J., Shutova I.V., Osmolovskaya L.J., Gotovchikova A.A., Luzan E.S.

State Public Health Budget Institution 'Scientific Research Institute - Ochapovsky Regional Clinic Hospital #1' Public Health Ministry of Krasnodar Region, Krasnodar, Russia.

Среди современных концепций развития аутоиммунных заболеваний одно из основных мест занимает гипотеза иммунорегуляторных нарушений, включающая дисбаланс продукции и рецепции про- и противовоспалительных цитокинов [6,7].

В настоящее время изучение цитокиновой системы у больных с аутоиммунной патологией вызывает большой интерес среди исследователей. На эту тему имеется ряд предположений, основанных на экспериментальных и клинических данных [2,3,6,7].

С тех пор, как было показано участие цитокинового звена иммунной системы в развитии иммунопатологических процессов [2,4,7], выявлены эффекторные воздействия цитокинов не только на иммунокомпетентные, но и на другие клетки различных органов и тканей организма, установлена определённая корреляционная связь между про- и противовоспалительными цитокинами не только по времени их активности, но и по способности оказывать нейтрализующее действие друг на друга [1,5,7], вопрос о роли этих медиаторов в патогенезе очаговой склеродермии (ОСД) становится всё более актуальным.

Данные о концентрации цитокинов в плазме больных ОСД немногочисленны и противоречивы [4,6,7]. Вместе с тем, их роль может быть весьма значимой в развитии кожного иммуновоспа-

лительного процесса, а определённый дисбаланс в системе цитокинов может являться фактором риска развития заболевания и рецидивирующего его течения, а также маркером прогрессирования процесса и неблагоприятного прогноза его исхода.

Целью данного исследования явилось изучение количественного содержания и характера дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов в периферической крови у больных ОСД.

Задачи исследования. Провести комплексную оценку цитокинового профиля в периферической крови у пациентов с ОСД, выявить характер и структуру его дисбаланса для выделения наиболее иммунопатогенетически значимых провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

Выделить комплекс наиболее информативных иммунодиагностических критериев при ОСД и рекомендовать его как дополнительный диагностический тест, способ прогнозирования течения и оценки эффективности проводимой терапии.

Материал и методы исследования. Объектом исследования служила сыворотка крови. Забор крови производился в утренние часы, с 8:00 до 10:00, натощак. Кровь центрифугировали при 1500 об/мин в течение 15 минут.

Для определения уровня цитокинов применялся метод твердофазного иммуноферментно-

го анализа с использованием набора реактивов ЗАО «БиоХимМак» (Россия, г. Москва). Наборы предназначены для определения концентрации цитокинов в сыворотке крови в клинических, диагностических и научно-исследовательских лабораториях.

Результаты выражали в пикограмм/миллилитр (пг/мл).

Полученные результаты и их обсуждение. Нами было обследовано 90 пациентов, поступивших в стационар с диагнозом очаговая склеродермия. Контрольная группа составила 30 условно здоровых людей.

У 76 пациентов (84,4%) было выявлено повышение концентрации TNF- α в периферической крови в среднем до $12,8 \pm 1,4$ пг/мл, что достоверно выше, чем у здоровых добровольцев ($3,5 \pm 0,3$ пг/мл, $p < 0,005$).

Концентрация IL1 у подавляющего большинства пациентов (75,6% – 68 человек), при поступлении в стационар, также достоверно превышала норму ($8,7 \pm 1,3$ пг/мл, колебания составили от 6,7 пг/мл до 10,6 пг/мл, $p < 0,05$). Содержание цитокина у здоровых пациентов в среднем составило $1,8 \pm 0,7$ пг/мл.

Повышение концентрации IL6 было зафиксировано у 62 исследуемых (68,9% пациентов). Средние значения показателя в целом по группе составили $7,7 \pm 2,5$ пг/мл (у здоровых лиц $-1,2 \pm 0,3$ пг/мл, $p < 0,05$).

У 58 пациентов (64,4% от общего числа больных) концентрация IL2 статистически значимо превышала физиологическую норму ($3,3 \pm 1,3$ пг/мл) и составила в среднем $9,3 \pm 2,3$ пг/мл (колебания от 6,8 пг/мл до 11,7 пг/мл, $p < 0,05$).

Содержание IL17 в периферической крови у 54 поступивших пациентов (60%) было статистически значимо повышено ($6,4 \pm 1,3$ пг/мл) по сравнению с контрольной группой ($1,2 \pm 0,2$ пг/мл, $p < 0,05$).

Концентрация интерферона-гамма у пациентов с ОСД в 62,2% случаев была повышена в среднем до $15,7 \pm 2,3$ пг/мл (в контроле – $9,1 \pm 1,2$ пг/мл, $p < 0,05$).

У 23 пациентов (25,6%) содержание IL4 в периферической крови оставалось в пределах нормы, у остальных пациентов было значительно снижено по сравнению с контрольными значениями ($14,2 \pm 4,8$ пг/мл), В целом, по группе средняя концентрация IL4 составила $4,7 \pm 0,6$ пг/мл ($p < 0,05$).

Практически у половины пациентов (49 человек – 54,4%) концентрация интерлейкина 10 оставалась приближенной к нижней границе нормы. Содержание IL10 в среднем составило $1,3 \pm 0,4$ пг/мл (в норме – $2,3 \pm 0,3$ пг/мл, $p > 0,05$).

Выводы.

1. Изучение цитокинового профиля пациентов с ОСД выявило достоверное повышение концентрации провоспалительных медиаторов (TNF- α , IL1, IL2, IL6, IL8, IL17, IFN-g) и снижение уровня противовоспалительных цитокинов (IL4, IL10).

Обратили на себя внимание достоверно высокие показатели TNF- α , IL1, IL6 в совокупности с их высокой частотой встречаемости. Вероятно, высокий уровень продукции этих цитокинов обеспечивает их участие в иммунопатогенезе ОСД, поскольку известно, что IL-1, TNF- α при высвобождении в ткани могут изменять функцию фибробластов.

2. Т.о., концентрация и динамика содержания в периферической крови пациентов IL1, IL6, TNF- α , IL4 может рассматриваться в качестве возможного диагностического теста и прогностического критерия динамики воспалительного процесса и эффективности проводимой патогенетической терапии заболевания.

ЛИТЕРАТУРА:

- Бевзенко Т. Б. Изменения эндотелиальной функции сосудов у больных системной склеродермией // Арх. клин. и экскер. мед. – 2008. – Т. 17, № 1. – С. 48-51.
- Волнухин В. А. О роли профибозных цитокинов в патогенезе локализованной склеродермии // Вестн. дерматол. и венерол. – 2012. – № 1. – С. 28-33.
- Галлямова Ю. А. Очаговая склеродермия // Леч. врач. – 2008. – № 5. – С. 46-48.
- Дворников А. С. К вопросу об этиологии и лечении ограниченной склеродермии // Вестн. дерматол. и венерол. – 2010. – № 6. – С. 101- 105.
- Круглова Л. С. Тактика ведения больных ограниченной склеродермией // Рос. журн. кожн. и вен. болзн. – 2013. – № 4. – С. 25-29.
- Романова Н. В. Иммунологические нарушения и цитокиновый профиль при системной и ограниченной склеродермии // Тер. арх.. – 2012. – № 5. – С. 28-31.
- Шаляпина М. В. Клинико-иммунологические особенности диагностики и лечения ювенильной и системной склеродермии у детей: Дис. ... канд. мед. наук. Самара, 2003. 135 с. 9.

ПРОБЛЕМА ИНСЕКТНОЙ АЛЛЕРГИИ В ПРАКТИКЕ ПЕДИАТРА

Рыбникова Е.А.¹, Шабанов Д.В.², Федоскова Т.Г.², Продеус А.П.¹

¹ Детская городская клиническая больница №9 им. Г.Н.Сперанского, Москва

² ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

THE PROBLEM OF INSECT ALLERGY IN PEDIATRIC PRACTICE

Rybnikova E.A.¹, Shabanov D.V.², Fedoskova T.G.², Prodeus A.P.¹

¹ Speransky Childrens Hospital №9, Moscow

² National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow

Проблема инсектной аллергии (ИА) весьма актуальна в связи с необычайным разнообразием видов насекомых, аллергены которых способны оказывать сенсibilизирующее воздействие на организм человека высокой частотой, остротой и тяжестью реакций, включая системные, вплоть до развития анафилактического шока (АШ), а также ограниченной информации по указанной проблеме в современной отечественной литературе.

Наиболее тяжёлые реакции развиваются при укусах насекомых, относящимися к отряду Перепончатокрылых [1,2]. Аллергия к жалящим насекомым (ЖН) отмечается у 0,4–8,0% взрослого населения России [2]. ИА также способны вызывать и виды насекомых, не имеющие способности к укусу, так называемые «нежалящие» (НН) насекомые (комары, тараканы и др.). Распространённость ИА к НН в России составляет 1,7–17,5%, в зависимости от региона проживания больных [1]. В частности, имеются данные о распространённости ИА к аллергенам комаров (14,3%), тараканов (15,7%), мотыля (7,9%) у жителей московского региона [1].

Указанные показатели отражают проблему распространённости ИА в России среди взрослого контингента. Данные по распространённости ИА у детей в современной отечественной литературе не представлены. Известно только, что наибольшее число больных ИА составляют лица молодого возраста (до 20 лет) [2,8]. В Международной классификации болезней МКБ 10 отсутствует диагноз «Анафилактическая реакция на укусы и укусы насекомых», что затрудняет отчётность и сбор данных. Несмотря на то, что в раннем детском возрасте тяжёлые аллергические реакции на укусы встречаются не часто, они отражены в литературе [3,4].

Работы отечественных и зарубежных исследователей свидетельствуют о возможности развития везикулезных и буллезных высыпаний, с присоединением инфекционного воспаления, что затрудняет диагностику и приводит к неоправданному назначению антибиотиков [1,8]. В литературе описан также синдром Скитера с развитием выраженных местных реакций, сопровождающийся лихорадкой, слабостью и общим недомоганием. Указанный синдром, который может наблюдаться при укусах и укусах различных насекомых, был впервые описан Симонсом, который наблюдал воспаление тканей, вызванное укусом комара у ребёнка [7].

Системные реакции различной степени тяжести по классификации Muller, включая АШ, у детей встречаются реже [5,8]. Так, частота АШ на укусы насекомых у детей составляет 0,3–1,0% среди всех случаев анафилаксии [8]. К ним относятся гастроинтестинальные, респираторные и кардиоваскулярные симптомы. Симптомам анафилаксии могут предшествовать крапивница и ангиоотек, или могут отсутствовать любые кожные симптомы [8]. Имеются данные, каждый пятый ребёнок, имеющий системную реакцию на укус или укусы (в том числе крапивницу и ангиоотек), сохраняет риск повторной системной реакции в течение жизни [8], что подтверждает важность своевременной диагностики и профилактики осложнений ИА у детей.

Патогенетически выделяют истинные аллергические реакции на укусы и укусы (ИА) и псевдоаллергические. Истинная ИА в зависимости от механизма может протекать как по гуморальным (IgE и не IgE – опосредованные реакции), так и клеточным механизмам аллергии [10].

ИА чаще обусловлена IgE – зависимой реакцией, что подтверждается немедленным характером

развития клинических проявлений, наличием в сыворотке крови больных специфических IgE к ядам и аллергенам насекомых, специфической реакцией высвобождения гистамина из базофилов больных, а также других медиаторов (лейкотриены, простагландины, фактор, активирующий тромбоциты), ответственных за быстрое появление симптомов крапивницы, бронхоспазма, сосудистого отёка [10]. Вслед за ранней фазой немедленной аллергии развивается поздняя (отсроченная) фаза, проявляющаяся реакцией через 3-4 часа после введения аллергена. Механизм поздней фазы состоит в высвобождении из активированных тучных клеток медиаторов воспаления и хемотаксических посредников (ИЛ-3, ИЛ-5, ГМКСФ). За счёт этого немедленный тип аллергической реакции усиливается и удлиняется. Поэтому важным является проведение лабораторной диагностики *in vitro*. В рутинной клинической практике приходится сталкиваться с серьёзными проблемами ранней диагностики ИА у детей. Использование высокоинформативного метода ImmunoCAP для диагностики ИА в широкой клинической практике в РФ затруднено ввиду недостаточно широкой диагностической «инсектной» панели, а также высокой стоимости.

AllergyLateralFlowAssay (ALFA-тест), основанный на иммунохроматографическом принципе немецкой компании Dr.Fooke Laboratorien GmbH, представляет собой новый быстрый и надёжный тест для выявления специфических IgE к ядам и аллергенам насекомых [9]. Чувствительность и специфичность Альфа-теста в сравнительном исследовании с методами ALLERG-O-LIQ и ImmunoCAP составляет 93-100% [9].

Проведение прик-тестов невозможно, ввиду отсутствия диагностических аллергенов, разрешённых к широкому клиническому применению.

Реже при аллергии к насекомым наблюдаются иммунокомплексные и клеточноопосредованные аллергические реакции замедленного типа, развивающиеся через сутки и более после поступления в организм антигена. Их диагностика у детей затруднена, ввиду недоступности лабораторных маркеров, разрешённых к широкому применению.

По результатам ранее проведённого нами исследования распространённость ИА среди детей – жителей Московского региона составила от 2% до 6%. Отмечена преимущественная сенсибилизация к аллергенам «внутрижилищных» насекомых, что вероятно обусловлено длительным пребыванием детей в условиях жилого помещения в течение календарного года [5].

Нами изучена также распространённость ИА

у детей, с подтверждённой аллергопатологией, по московскому региону [5]. Показано, что 34% детей, страдающих аллергическими заболеваниями, имеют в анамнезе жалобы на реакции гиперчувствительности (ГЧ) к укусам и ужалениям насекомыми. По результатам анкетирования у детей с ГЧ к укусам и ужалениям насекомыми отмечена высокая частота заболеваемости аллергическим ринитом (41.1%, $n=34$), бронхиальной астмой (26.4%), атопическим дерматитом (17.6%). У 26.4% пациентов отмечена пищевая непереносимость морепродуктов, в т.ч. рыбы. У 8.8% из них выявлено наличие специфических IgE к рыбе [5]. Симптомы ГЧ отмечены преимущественно при укусах комарами 70.5% ($n=34$), мошкой 26.4%, слепнем 17.6%, при ужалениях осами 26.4%, пчелами 8.8%.

Развитие симптомов ГЧ отмечено преимущественно в возрастных группах 5-7 лет – 33% ($n=34$), и 8-13 лет – 42%, 14-18 лет – 22%, реже в группе детей 3-5 лет – 3%. Однако возникновение выраженных системных анафилактических реакций отмечено преимущественно у детей подросткового возраста 12-16 лет, имеющих преимущественно сенсибилизацию к бытовым и эпидермальным аллергенам. Развитие выраженных местных реакций отмечено у 23 пациентов (67.6%, $n=34$). У 3 детей (8.8%) симптомы соответствовали системным реакциям различной степени тяжести (по классификации Н. Mueller) [6], проявляющиеся в виде выраженного ангиоотёка «от сустава до сустава», геморрагической и волдырной сыпи, сопровождающихся головокружением, шумом в ушах, спутанностью сознания.

Повышенный уровень общего IgE (ImmunoCAP) отмечен у 70% ($n=34$) детей. Наличие специфических IgE к яду ос выявлено у 14.7% ($n=34$), яду пчел – 11.7%, телам тараканов – у 17.6%, телу моли – 5.8%, телу мотыля – 8.8%, телу пироглифидных клещей – 64.7%, эпидермису домашних животных – 38.2% [5].

Отмечено развитие выраженных местных реакций (67.6%, $n=34$) с вовлечением в область отёка 1-2 суставов, нарушающих функцию конечности, сопровождающихся мучительным зудом, отёком местных лимфоузлов и лимфангитом. Ужаление в область головы, особенно в глазную и периорбитальную области, сопровождалось образованием бесформенного разлитого отека.

Таким образом, изучение эпидемиологии ИА у детей, разработка анкеты для раннего выявления ИА у детей, необходимой для унификации и стандартизации получаемых анамнестических данных, разработка и внедрение в клиническую практику педиатра единого лечебно-диагности-

ческого алгоритма ИА являются актуальными вопросами в педиатрии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Федоскова Т.Г., Лусс Л.В. Кожные проявления инсектной аллергии. Принципы медикаментозной терапии и профилактики. Российский аллергологический журнал, 2014, №3, с.37-46.
2. Шве́ц С.М. Аллергические реакции на яд жалящих насекомых. Российский аллергологический журнал, 2004, №3, с.9-18.
3. Chipps B.E. The value of immunotherapy with venom in children with allergy to insect sting. Pediatrics, 1992, v.90, №2, p.291-298.
4. Walls R.S. Роль факторов окружающей среды в возникновении респираторной аллергии, Астма, 2009, т.10, №1, с.42-43.
5. Чурсина Е.М., Рыбникова Е.А., Федоскова Т.Г., Продеус А.П. Показатели распространенности ИА у

детей с аллергопатологией – жителей московского региона. Российский аллергологический журнал, 2016, т.2, №3, с.41-42.

6. Muller U., Johansen N., Petersen A. Hymenoptera venom allergy. Allergy, 2009, v.64, p.543-548.

7. Simons F., Peng Z. Skeeter syndrome. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1999, v. 104, p. 705-711.

8. Tan J., Campbell D. Insect allergy in children. Journal of Paediatrics and Child Health, 2013, v. 49, p. 381-387.

9. Pfender N., Lucassen R., Offermann N., Schulte-Pelkum J., Fooke M., Jako T. Evaluation of a Novel Rapid Test System for the Detection of Specific IgE to Hymenoptera Venoms. Journal of Allergy, 2012, Article ID 862023.

10. Гущин И.С., Читаева В.Г. Аллергия к насекомым. Клиника, диагностика и лечение, М., 2003, с.48-56.

СЫВОРОТОЧНЫЙ АЛЬБУМИН В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИНТЕРФЕРОНОВ

Сагакянц А.Б.

ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванова, кафедра биохимии и микробиологии, г. Ростов-на-Дону

SERUM ALBUMIN IN REGULATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF INTERFERONS

Sagakyants A.B.

Russia, Rostov-on-Don, Southern Federal University, Academy of Biology and Biotechnology, department of biochemistry and microbiology

Сывороточный альбумин (СА) – сложная, полифункциональная система, выполняющая коммуникативные функции в живых системах. Уникальная конформационная подвижность молекулы СА, его полифункциональность и участие в поддержании ряда важнейших составляющих гомеостаза в многоклеточном организме – всё это делает альбумин объектом пристального изучения для решения актуальных задач фундаментальной и прикладной биомедицины [1,2].

СА оказывает существенное влияние на окислительно-восстановительный потенциал организма, обладая про- и антиоксидантными свойствами, формируя своеобразную «буферную» систему, а также участвует в тиоловом обмене [8]. Важнейшей функцией СА является участие молекулы в транспорте самого широкого спек-

тра соединений эндо- и экзогенного происхождения, причём показана уникальная способность СА обеспечивать трансэндотелиальный переход в системе «кровь-ГГБ (ГЭБ)», а также связанная с транспортом веществ дезинтоксикационная функция белка [3,5,7].

В последнее время особое внимание исследователей привлекают представители новой функциональной группы эндогенных веществ – аларминов, или ДАМП, появляющихся при повреждении различного характера и определяющих запуск сложных процессов, направленных на восстановление гомеостаза [4,6]. К числу данных молекул относят и интерферон-альфа (ИФН-α), обладающего выраженной противовирусной, антипролиферативной и регуляторной активностями. Функциональная активность

аларминов зависит от разных факторов: как от типа деструктивного процесса, силы и выраженности патогенетического фактора, от характера их химической модификации (окислительные модификации, протеолиз и др.), так и от скорости высвобождения и распределения этих соединений во внутренней среде организма. Определенную роль может иметь неспецифическое взаимодействие с другими белками, в частности, с молекулами СА.

В связи с выше изложенным, целью данной работы являлось исследование влияния СА на концентрацию ИФН- α при различных условиях (рН среды и температуре) и сроках инкубации, что может отражать вероятное влияние СА на функциональную активность данной группы цитокинов.

Постановка эксперимента:

1) Приготовление рабочего раствора сывороточного альбумина проводили путём разведения исходного 100 г/л раствора САЧ (производства ФГУП «НПО Микроген», Россия) соответствующим буфером – ацетатном буфере, рН 3.4; фосфатном буфере, рН 7.4 и ТРИС-НСI буфере, рН 8.4 в соотношении 1:1 (1 часть 100 г/л САЧ и 1 часть буфера);

2) приготовление рабочего раствора ИФН- α : содержимое ампул с леофилизированным лейкоцитарным препаратом интерферона-альфа (производства ФГУП «НПО Микроген», Россия) разводили в 2 мл соответствующего буфера (ацетатном буфере, рН 3.4; фосфатном буфере, рН 7.4 и ТРИС-НСI буфере, рН 8.4).

Рабочие растворы САЧ и ИФН- α прединкубировали при температуре $18 \pm 2,00^\circ\text{C}$ в течение 30 минут. По истечении времени прединкубации готовили основную инкубационную смесь, включающую 1 мл рабочего раствора САЧ (50 г/л) и 50 мкл ИФН- α .

3) Экспериментальная модельная система содержала 1 мл САЧ (50 г/л) и 50 мкл ИФН- α на соответствующем буфере. Модельные системы разделяли по сериям (10 параллелей в каждой), которые инкубировали при 370°C и 500°C в течение 15 и 30 минут.

По завершению сроков инкубации в инкубационной смеси проводили определение концентрации ИФН- α методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора «Альфа-интерферон-ИФА-Бест» производства ЗАО Вектор-Бест (Ново-

сибирск, Россия) в соответствии с инструкцией к набору. Результаты считывали на фотометре Stat Fax 2100 (Awareness Technology, Inc., USA), с использованием программного обеспечения для иммуноферментного анализа PlateStat (Austria). Концентрацию ИФН- α в инкубационной системе рассчитывали по калибровочной кривой и выражали в пг/мл.

Результаты, полученные в сериях опытов, обрабатывали статистически по методу Стьюдента-Фишера.

Функциональная активность биологически важных молекул, к которым относятся как молекулы интерферона, так и молекулы альбумина, зависит от особенностей структурной организации, определяемой условиями, в которых находится молекула. При изменении условий (рН, температура) происходит закономерное изменение пространственной организации биополимеров с дальнейшим изменением их функциональной активности. При этом следует отметить возможность взаимодействия полипептидов, что также вносит свой вклад в характер реализации функциональной активности молекул.

Проведение совместной инкубации САЧ и ИФН-альфа при различных значениях рН и температурах приводит к выраженным изменениям концентрации ИФН-альфа, а характер выявленных изменений позволяет говорить о некоторых особенностях вероятного взаимодействия САЧ и ИФН-альфа.

Так, при рН 3,4, температуре 370°C и 500°C концентрация ИФН-альфа после инкубации с САЧ составила $20,2 \pm 0,8$ пг/мл (15 мин), что ниже контрольных данных на 79% ($p < 0,05$), $18,2 \pm 0,8$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных данных на 275% ($p < 0,05$) и $14,6 \pm 2,2$ пг/мл (15 мин), что ниже контрольных значений на 79% ($p < 0,05$), $3,0 \pm 0,6$ пг/мл (30 мин), что ниже контрольных значений на 57% ($p < 0,05$) соответственно.

При рН 7.4, температуре 370°C и 500°C концентрация ИФН-альфа после инкубации с САЧ, составила $120,9 \pm 6,4$ пг/мл (15 мин), что выше контрольных данных на 10% ($p < 0,05$), $124,6 \pm 4,1$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных данных на 26% ($p < 0,05$) и $121,2 \pm 8$ пг/мл (15 мин), что выше контрольных значений на 13% ($p < 0,05$), $126,3 \pm 5,9$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных значений на 51% ($p < 0,05$) соответственно.

При рН 8.4, температуре 370°C и 500°C концентрация ИФН-альфа после инкубации с САЧ, со-

ставила $114,3 \pm 6.1$ пг/мл (15 мин), что выше контрольных данных на 15% ($p < 0,05$), $62,7 \pm 5.3$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных данных на 10% ($p < 0,05$) и $107,9 \pm 2,4$ пг/мл (15 мин), что выше контрольных значений на 34% ($p < 0,05$), $63,5 \pm 3.4$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных значений на 51% ($p < 0,05$) соответственно. Увеличение концентрации ИФН-альфа может свидетельствовать о вероятном взаимодействии молекул данного цитокина с молекулами СА.

Вероятно, основой для взаимодействия данных белков является изменение пространственной структуры альбумина, особенно выраженные при низких значениях pH, где наблюдается N-F конформационный переход с расширением молекулы белка, расхождением в пространстве доменов, что способствует, вероятно, увеличению способности альбумина присоединять различные лиганды. На фоне структурных преобразований отмечается мономеризация молекул ИФН-альфа, что также может обуславливать повышение вероятности его присоединения к альбумину. В данных условиях роль подобного взаимодействия может заключаться в стабилизации пространственной структуры ИФН-альфа, что, несомненно, будет благоприятно сказываться на функциональной активности белка.

Особенности организации, обмена в организме и распределения, а также за счёт взаимодействия с рядом рецепторов, молекула СА характеризуется длительным периодом полужизни в циркуляторном русле – около 19 дней [5,7]. Все процессы перераспределения в организме СА опосредуются несколькими рецепторами: gp18, gp30, gp60, кубулин (cubulin), мегалин (megalin) и неонатальный Fc рецептор (FcRn). Показано участие данных рецепторов в обеспечении функциональной активности СА и присоединенных к молекуле веществ.

В нашей лаборатории было проделано дополнительное исследование возможной модулирующей активности СА по отношению к функциональным свойствам ИФН- $\alpha 2$, в частности, на способность последней индуцировать продукцию ряда цитокинов (ЦК) клетками периферической крови доноров в опытах *ex vivo*. В результате отмечено, что интенсивность спонтанной и митоген-активируемой продукции ЦК клетками периферической крови зависит от наличия в инкубационной среде ИФН- $\alpha 2$, либо прединкубированного комплекса «СА-ИФН- $\alpha 2$ », в последнем

случае отмечено более выраженное изменение продукции ЦК. Наиболее выраженное изменение коэффициента стимуляции клеток крови по продукции ЦК наблюдается в том случае, когда комплекс «СА-ИФН- $\alpha 2$ » прединкубировался в ацетатном буфере, pH 3,4.

На основании проведённых экспериментов и литературных данных можно предположить, что при развитии патологических процессов, сопровождающихся ацидозом интерстиций, формируются условия, обеспечивающие эффективное взаимодействие не только СА и FcRn, но и СА и ИФН- $\alpha 2$. Данный тип взаимодействий может определять функциональную активность реагирующих молекул, особенности которой требуют дальнейшего исследования.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Сагакянц А.Б. Биохимические механизмы протекторного действия сывороточного альбумина, нитроглицерина и протимозина-альфа при гипокинетическом и вестибулярном воздействиях. // Дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук. – Ростов-на-Дону, 2003. – 173 с.
2. Сагакянц А.Б., Синичкин А.А. Структурно-функциональная метастабильность альбумина как источник коммуникативной функции белка. // Материалы международного симпозиума: «Молекулярные механизмы регуляции функции клетки». – Тюмень, 2005. – С. 98-100.
3. Синичкин А.А., Бардахчян Э.А., Сагакянц А.Б. Трансэндотелиальные переходы сывороточного альбумина, связанного с красителем Эванса синим, через гематоэнцефалический барьер у крыс при острой форме гипероксии. // Известия Высших учебных заведений. Сев.-Кавказский регион. Естествен. науки, 2009. - №2. - СС. 96-98.
4. Хаитов Р.М., Сагакянц А.Б. Эволюция современных представлений о формировании ответной реакции организма на повреждение. // Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогенетика. - Т. 15. - № 5, 2011. – СС. 10-17.
5. Fanali G., Alessandra di Masi, Trezza V., Marino M., Fasano M., Ascenzi P. Human serum albumin: From bench to bedside. // Molecular Aspects of Medicine. – 33. – 2012. – p. 209–290
6. Hertzog P.J., O'Neill L.A., Hamilton J.A. The interferon in TLR signaling: more than just antiviral. // TRENDS in immunology. - 2003. – Vol. 24. – No 10. – P. 534-539.
7. Peters, T., Jr. (Ed.). All about Albumin: Biochemistry, Genetics and Medical Applications. Academic Press, San Diego and London. - 1996.
8. Roche M., Rondeau Ph., Singh N.R., Tarnus E., Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin // FEBS Letters. – 582. – 2008. – p. 1783–1787

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОППОЗИЦИОННЫХ ЦИТОКИНОВ (ИЛ-17А, ИЛ-35) СЫВОРОТКИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЭРИТЕМНОЙ И БЕЗЭРИТЕМНОЙ ФОРМАМИ I СТАДИИ ИКСОДОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА

Бондаренко А. А., Сапожникова В. В.

Кировский ГМУ Минздрава России, Киров

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF OPPOSITION CYTOKINES (IL-17A, IL-35), BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH ERYTHEMA FORM AND FORM WITHOUT ERYTHEMA I STAGE IXODES TICK BORRELIOSIS

Bondarenko A. L., Sapozhnikova V. V.

Kirov SMU MOH Russia, Kirov, Russian Federation

Иксодовый клещевой боррелиоз (боррелиозная инфекция, Лайм-боррелиоз) – инфекционное трансмиссивное заболевание, вызываемое спирохетами *Borrelia burgdorferi sensu lato*, передающимися через присасывание клещей рода *Ixodes* [1]. Боррелиозная инфекция является актуальной проблемой общественного здравоохранения. Среднероссийские показатели заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом за 2010-2015 годы составляют от 4,00 до 7,02 случаев в год, в среднем $5,2 \pm 0,44$ случаев на 100 000 населения. Заболеваемость боррелиозной инфекцией в Кировской области, расположенной на севере Волго-Вятского региона Российской Федерации, составляет 10,21-35,57 случаев, ежегодно превышая среднероссийские показатели в 2,5-6,6 раз [1,2]. Цитокины (интерлейкины) являются веществами белковой природы, участвующими в реализации реакций врожденного и адаптивного иммунитета [3]. Цитокины осуществляют межклеточные взаимодействия, играют важную роль в тканевом гомеостазе при воспалении. Взаимодействующие интерлейкины обладают синергическими и антагонистическими свойствами, при этом образуется цитокиновая сеть. Интерлейкины направляют дифференцировку CD4+ клеток в Th1- и Th2-клетки, играют важную роль в реализации типов иммунного ответа [3]. Ряд от-

ечественных и зарубежных научных работ был посвящён вопросам исследования иммунопатогенетических особенностей у пациентов с боррелиозной инфекцией при различных клинических формах и стадиях заболевания [6,7,8,9,10]. Цитокиновый профиль в раннюю стадию заболевания определяет выраженность интоксикационно-воспалительного синдрома, клинические проявления болезни [10]. У пациентов с I стадией иксодового клещевого боррелиоза исследована роль некоторых Th1- и Th2-цитокинов (IFN γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-8, IL-12, IL-22, IL-23, TNF α), противовоспалительных интерлейкинов (IL-10) [6,7,8,9,10]. Однако, до настоящего времени не изучены особенности выработки сывороточных цитокинов, ответственных за аутоиммунные воспалительные процессы (IL-17A), и противовоспалительных интерлейкинов (IL-35) у больных с I стадией клещевого боррелиоза.

Цель исследования. Провести сравнительный анализ уровня цитокинов сыворотки крови (IL-17A, IL-35) у пациентов с эритемной и безэритемной формой I стадии боррелиозной инфекции.

Задачи исследования.

1. Изучить особенности содержания IL-17A, IL-35 при эритемной и безэритемной форме I стадии иксодового клещевого боррелиоза при

госпитализации в инфекционный стационар.

2. Сравнить цитокиновый статус у пациентов с эритемной и безэритемной формой I стадии боррелиозной инфекции.

Материалы и методы исследования. В исследовании с 2011 по 2014 год участвовали 30 пациентов с эритемной формой и 30 пациентов с безэритемной формой I стадии боррелиозной инфекции. В каждой из групп исследования мужчины составляли 53,3% (16 человек), женщины – 46,7% (14 человек). Средний возраст пациентов с эритемной формой составил $48,4 \pm 12,2$ лет, больных с безэритемной формой – $45,5 \pm 15,73$ лет. Больные проходили стационарное лечение в Кировской инфекционной клинической больнице. Пациенты с эритемной формой были госпитализированы на $4,0 \pm 0,72$ день болезни, также как и больные с безэритемной формой (на $4,1 \pm 0,66$ день болезни). Исследование соответствовало законодательству Российской Федерации, было одобрено Локальным этическим комитетом Кировского ГМУ. От участников исследования было получено письменное информированное согласие. Клинический диагноз иксодового клещевого боррелиоза был поставлен с использованием классификации, разработанной Воробьёвой Н.Н. В исследовании не участвовали пациенты с соматической патологией опорно-двигательного аппарата, нервной системы, сердца, печени, почек. В исследование не были включены пациенты с онкологической патологией, острыми и хроническими инфекционными заболеваниями, беременностью, лактацией. Группа контроля состояла из 30 здоровых доноров, сопоставимых по половому и возрастному составу с группой исследуемых пациентов. Диагноз I стадии иксодового клещевого боррелиоза был поставлен на основании эпидемиологических, анамнестических, клинико-лабораторных показателей. Специфическое подтверждение диагноза включало серологические методы исследования с определением IgM и IgG в реакции иммуноферментного анализа в лаборатории Кировской инфекционной клинической больницы или определение антител к возбудителям боррелиозной инфекции методом иммунного блота (иммуночипа) в «Центральном научно-исследовательском институте эпидемиологии» (Москва). Концентрацию интерлейкинов сыворотки крови определяли у 30 пациентов с эритемной формой и 30 больных с безэритемной формой I стадии иксодового клещевого боррели-

оза в первые сутки госпитализации, а также у 30 человек из контрольной группы. Образцы венозной крови отбирали в объеме 10 мл, центрифугировали 10 минут при 200 оборотах в минуту. Полученную сыворотку крови замораживали и хранили при температуре -20°C . Определение цитокинового профиля сыворотки крови проводили в лаборатории направленного регулирования межмикробных взаимодействий в экзо- и эндо-экологических системах ФГБОУ ВО «Кировский ГМУ» Минздрава России. В работе применялся автоматический иммуноферментный анализатор «Personal Lab», фирмы «Adaltis» (Италия) и диагностикумы «Bender MedSystems» (Австрия), «Uscscn Life Science Ins. Wuhan» (Китай). Содержание цитокинов определяли по построенной стандартной калибровочной кривой зависимости оптической плотности от концентрации для стандартного антигена в пикограммах на миллилитр (пг/мл). Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием «StatSoft Statistica v 8.0» и «Microsoft Excel 2002». Минимальный объем выборок был оценен с помощью метода power analysis (stat soft), определена достаточность взятых объемов выборок для мощности критерия (0,95). Распределение количественных данных (уровней интерлейкинов) было определено путём построения гистограмм и вычисления критерия Шапиро-Уилка. При оценке распределения количественных данных (уровней цитокинов) выявлено отличное от нормального распределение. При статистической обработке результатов вычислялись медиана (Me), нижний (Q 25,00) и верхний (Q 75,00) квартили. Для определения достоверности различий независимых выборок использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различия значений являлись достоверными при критическом уровне значимости более 95% ($P < 0,05$).

Результаты. В ходе исследования определено содержание провоспалительного IL-17A в сыворотке крови пациентов с эритемной формой I стадии иксодового клещевого боррелиоза при госпитализации, составившее $0,74 (0,22; 3,19)$ пг/мл. В сыворотке крови здоровых доноров концентрация данного цитокина меньше в 3,9 раза — $0,19 (0,00; 0,64)$ пг/мл. При сравнении результатов профиля сывороточного IL-17A в группах пациентов с эритемной формой и здоровых доноров получены достоверные различия ($p = 0,002$, $p < 0,01$). Содержание IL-17A в сыворотке крови больных

с безэритемной формой при госпитализации составило 0,54 (0,26; 0,63) пг/мл, что в 2,8 раза выше уровня здоровых доноров. Концентрация IL-17A сыворотки крови у пациентов с эритемной формой превышает в 1,4 раза показатели больных с безэритемной формой, полученные различия не достоверны ($p=0,158$, $p>0,05$). Известно, что IL-17A представляет собой гомодимер, цитокин с молекулярной массой 32 kDa [4]. IL-17A вырабатывается активированными Th17-лимфоцитами-памяти. IL-17A стимулирует врождённый иммунитет и иммунную защиту организма. Данный цитокин мобилизует нейтрофилы через гранулопоэз, способствует их локальному выживанию. Продукция IL-17A Т-лимфоцитами регулируется активацией IL-23-рецептора. Цитокин IL-17A характеризуется выраженными воспалительными свойствами и способностью инициировать тяжёлые аутоиммунные патологии [4]. IL-17A вызывает развитие воспалительных процессов в тканях головного мозга, суставных хрящей, костей, менисков, кожи [4]. В ходе нашей работы определено содержание противовоспалительного IL-35 в сыворотке крови пациентов с эритемной формой при госпитализации, составившее 22,99 (5,12; 50,62) пг/мл. Концентрации сывороточного IL-35 здоровых доноров ниже уровня пациентов с эритемной формой а – 17,16 (5,12; 28,67) пг/мл ($p=0,425$, $p>0,05$). Уровень IL-35 в сыворотке больных с безэритемной формой при госпитализации составил 12,07 (2,03; 19,92) пг/мл, что достоверно ниже значений контрольной группы в 1,4 раза ($p=0,006$, $p<0,01$). Содержание IL-35 в сыворотке крови больных с эритемной формой в 1,9 раз выше, чем у больных с безэритемной формой ($p=0,009$, $p<0,01$). Известно, что IL-35 принадлежит семейству IL-12 и выделяется дендритными клетками, регуляторными Т-лимфоцитами супрессорами (Treg (Foxp3+)) [3,5]. IL-35 состоит из двух субъединиц (Ebi3 и IL-12p35). IL-35 является регуляторным супрессорным фактором. Данный цитокин стимулирует наработку регуляторных Т-лимфоцитов супрессоров (Treg), приводящих к снижению дифференцировки Th17 и подавлению продукции IL-17A [3,5].

Выводы.

1. У пациентов с эритемной формой иксодового клещевого боррелиоза в периоде разгара выраженное повышение активности IL-17A сочетается с высокой выработкой IL-35, что свидетельствует об уравниваемости аутоиммунных и

противовоспалительных процессов. 2. У больных с безэритемной формой боррелиозной инфекции в разгар заболевания повышение сывороточных уровней IL-17A сопровождается недостаточной активностью ИЛ-35, что подтверждает преобладание аутоиммунных воспалительных процессов над иммуносупрессивными реакциями.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бондаренко, А. Л. Лайм-боррелиоз / А. Л. Бондаренко, О. Н. Любезнова. - Киров. – 2009. – С. 185.
2. Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека // 2010-2015 гг.
3. Ярилин, А. А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
4. Human IL-17A ELISA. Bender MedSystems. 2015; ЗАО «БиоХимМак»:1-6.
5. Interleukin 35. Uscscn Life Science Inc. Wuhan. 2015. «БиоХимМак»: 1-7.
6. Симакова, А. И. Цитокиновый профиль у больных с иксодовым клещевым боррелиозом / А. И. Симакова, Н. В. Мандракова, Е. В. Маркелова, В. А. Иванис // Цитокины и воспаление. – 2004. – с 21-24
7. Миноранская, Н. С. Значение воспалительных маркеров для дифференциальной диагностики различных форм острых иксодовых клещевых боррелиозов / Н. С. Миноранская, Е. И. Миноранская // Современные проблемы науки и образования. 2014. - №1. - URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=12124> (дата обращения: 25.01.2017).
8. Strle, K. Elevated levels of IL-23 in a subset of patients with post-Lyme disease symptoms following Erythema migrans / K. Strle, D. Stupica, E. E. Drouin, A. S. Steere, F. Strle // Clin Infect Dis. – 2014. - №58 (3). – P. 372-380.
9. Shemenski, J. Cimetidine as a novel adjunctive treatment for early stage Lyme disease / J. Shemenski // Med Hypotheses. - 2016. S0306-9877(16)30007-X. doi: 10.1016/j.mehy.2016.03.015.
10. Bachmann, M. Early Production of IL-22 but Not IL-17 by Peripheral Blood Mononuclear Cells Exposed to live Borrelia burgdorferi: The Role of Monocytes and Interleukin-1 / M. Bachmann, K. Horn, I. Rudloff, I. Goren, M. Holdener, U. Christen, et al // PLoS Pathog. 2010. Vol. 6(10), available at: PMID: PMC2954834.

Информация об авторах:

Бондаренко Алла Львовна, доктор медицинских наук, профессор. Место работы: ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России. Должность: заведующая кафедрой инфекционных болезней. Почтовый адрес: 610008, г. Киров, ул. Ленина, 207, кафедра инфекционных болезней ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России, номер телефона: 33-03-98. E-mail: al.bond@mail.ru.

Сапожникова Вера Викторовна. Место работы: ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России. Должность: очный аспирант кафедры инфекционных болезней. Почтовый адрес: 610004, г. Киров, ул. Советская, д.33, кв.196. номер телефона: 8-909-721-57-77. E-mail: v_v_sapozhnikova@mail.ru.

СТАБИЛЬНОСТЬ ФИКСИРОВАННОЙ ОБСТРУКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Сергеева Г.Р., Емельянов А.В., Лешенкова Е.В., Знахуренко А.А., Реброва С.А., Асатиани Н.З.
Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург,
Российская Федерация

STABILITY OF FIXED AIRFLOW LIMITATION IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

Sergeeva G. R., Emelyanov A. V., Leshenkova E. V., Znakhurenko A. A., Rebrova S. A., Asatiani N. Z.
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

Бронхиальная астма (БА) характеризуется обратимым нарушением бронхиальной проходимости [1]. Тем не менее, у части больных развивается фиксированная обструкция, которая определяется как отсутствие нормализации соотношения $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ ($ОФВ_1/ФЖЕЛ < 0.7$) после ингаляции бронхолитика [2-4]. В последние годы эту форму болезни рекомендовано выделять в качестве отдельного фенотипа [1].

Целью настоящего исследования явилась оценка стабильности этой формы болезни и выявление факторов, связанных с её развитием.

Материалы и методы. Обследовано 22 амбулаторных пациентов с астмой лёгкого течения, 37 пациентов со среднетяжёлой БА и 37 больных тяжёлой астмой по определению ERS/ATS (2014) в возрасте 18-82 лет без сопутствующей ХОБЛ. В течение года каждые 3 месяца выполнялись спирометрия (Vitalograph 2120) с бронхолитической пробой. Атопический статус оценивался по результатам кожных проб или уровню специфических IgE в сыворотке крови к распространенным ингаляционным аллергенам. FeNO измерялся на газоанализаторе Logan 4100. Контроль астмы и качество жизни оценивались по русскоязычным версиям вопросника ACQ-5 и SGRQ, соответственно.

Результаты. Среди обследованных больных БА исходно доля пациентов с фиксированной обструкцией составила 18% при лёгком течении,

41% при среднетяжёлой астме и 87% при тяжёлом течении БА ($p < 0.001$). Ранее не получали базисную терапию ИГКС 41% больных при лёгкой астме и 24% пациентов ($p > 0.05$) с БА средней тяжести; при тяжёлой астме все пациенты ранее применяли средние или высокие дозы ИГКС. Частота активного курения в период наблюдения составила 14% при лёгкой астме, 11% при БА средней тяжести и 5% при тяжёлой астме. Ранее курили 27% больных лёгкой БА, 16% пациентов со среднетяжёлой и 30% больных тяжёлой БА.

В течение года наблюдения стабильно выявлялась достоверная связь между наличием фиксированной обструкции и тяжестью астмы ($r = 0.55$, $p < 0.05$ исходно и $r = 0.53$, $p < 0.05$ через год наблюдения), возрастом больных ($r = 0.25$, $p < 0.05$ и $r = 0.32$, $p < 0.05$), а также с длительностью течения астмы ($r = 0.35$, $p < 0.05$ и $r = 0.32$, $p < 0.05$). Частота выявления $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 0.70$ после пробы с бронхолитиком у больных БА положительно коррелировала с курением в анамнезе ($r = 0.38$, $p < 0.05$ и $r = 0.28$, $p < 0.05$), а также с длительностью пассивного курения ($r = 0.40$, $p < 0.05$ и $r = 0.37$, $p < 0.05$). Из сопутствующих заболеваний значение имели перенесённые ранее затяжные бронхиты ($r = 0.27$, $p < 0.05$ и $r = 0.34$, $p < 0.05$).

У больных астмой фиксированная бронхиальная обструкция дыхательных путей была связана с частотой стойкой утраты трудоспособности ($r = 0.50$, $p < 0.05$) и госпитализаций по поводу обо-

стрений БА в анамнезе ($r=0.41$, $p<0.05$), худшим контролем БА ($r=0.27$, $p<0.05$) и качеством жизни SGRQ (активность - $r=0.35$, $p<0.05$, общий балл SGRQ $r=0.27$, $p<0.05$).

Наличие фиксированной бронхиальной обструкции отрицательно коррелировало с относительной ($r= - 0.69$, $p<0.05$) и абсолютной величиной исходного ОФВ₁ ($r= - 0.65$, $p<0.05$), положительно – с относительной величиной её прироста в пробе с бронхолитиком ($r=0.43$, $p<0.05$) и частотой положительной бронхолитический пробы ($r=0.31$, $p<0.05$).

Выявлена связь суточной дозы ИГКС по БДП и выявляемой фиксированной бронхиальной обструкцией ($r=0.38$, $p<0.05$). Величина ИМТ, наличие атопии и уровни маркеров эозинофильного воспаления дыхательных путей (FeNO, эозинофилов периферической крови), а также уровень нейтрофилов периферической крови не были ассоциированы с фиксированной обструкцией.

У большинства пациентов (86%) фиксированная бронхиальная обструкция явилась стабильным фенотипом. Через год она отмечалась у 18% ($p>0.05$) больных лёгкой астмой, 38% ($p>0.05$) пациентов с БА средней тяжести и 84% ($p>0.05$) больных с тяжёлым течением заболевания. У 7 пациентов отмечался переход фиксированной обструкции в обратимую (2 пациента при лёгкой астме, 4 больных при БА средней тяжести и 1 пациентка с тяжёлым течением астмы), у 5 больных – наоборот (2 пациента при лёгкой и 3 пациента при астме средней тяжести).

Факторами, способствующими переходу фиксированной обструкции в обратимую явились регулярное использование терапии ИГКС в дозах, соответствующих степени тяжести астмы (100% больных), в том числе и у пациентов, ранее не применявших ИГКС, а также прекращение курения (14% больных).

Формированию фиксированной обструкции способствовало нерегулярная терапия ИГКС либо дозы, не соответствующие тяжести астмы (60% больных), продолжающееся курение (40%) и у 1 пациентки со средней степенью тяжести астмы, с доказанной сенсibilизацией к большому числу ингаляционных аллергенов, не выполнялись рекомендации по элиминации аллергенов и отсутствовала адекватная терапия сопутствующей

щего аллергического персистирующего ринита и хронического синусита.

Заключение. Фиксированная бронхиальная обструкция представляется стабильной и чаще наблюдается при тяжёлой астме у пациентов старшего возраста, курильщиков и при длительном течении заболевания. При этом фенотипе у больных отмечается более низкий контроль и качество жизни, большая частота госпитализаций и стойкой утраты трудоспособности, чем при обратимой бронхиальной обструкции. Переходу ранее обратимой бронхиальной обструкции в фиксированную способствуют неадекватное лечение астмы и курение. С другой стороны, использование регулярной базисной терапии и отказ от курения у части пациентов может привести к восстановлению обратимости обструкции.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Global Initiative for asthma.- NHLB/WHO Workshop Report.-National Heart Lung Blood Institute, updated 2016//www.ginasthma.org. Доступ 11.07.2016.
2. Contoli M, Baraldo, Marku B et al. Fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease: 5-year follow-up. J Allergy Clin Immunol 2010; vol 125, p. 830-837.
3. Lee T L, Lee YS, Bae YJ et al. Smoking, longer disease duration and absence of rhinosinusitis are related to fixed airway obstruction in Koreans with severe asthma: findings from the COREA study. Respiratory Research 2011, vol 12, p.1
4. Lee JH, Haselkorn T, Borish L, et al. Risk factors associated with persistent airflow limitation in severe or difficult- to-treat asthma: insights from the TENOR study. Chest 2007, Vol 132, p.1882-1889.

ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧЕСКОГО МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К STAPHYLOCOCCUS AUREUS И KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Краснопрошина Л.И., Серова Т.А., Бишева И.В., Фошина Е.П.

ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва.

EVALUATION OF SPECIFIC MUCOSAL IMMUNITY TO STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Krasnoproshina L.I., Serova T.A., Bisheva I.V., Foshina E.P.

FSBSI «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow.

Многочисленные исследования последних лет в области специфического антительного ответа к различным патогенам в отделяемом носоглотки показали его большую информативность и перспективность как в качестве диагностического показателя инфекционных заболеваний, так и при оценке эффективности проводимого лечения [1,2,3,4]. Последнее особенно важно при проведении иммунотерапии непарентеральными бактериальными вакцинами: перорально – бронхомунал (Словения), бронховаксом (Швейцария), рибомунил (Франция) или интраназально – имудон (Германия), ИРС-19 (Франция) и отечественная вакцина «Иммуновак ВП-4», которые действуют преимущественно на систему местного иммунитета верхних отделов респираторного тракта и носоглотки. Хотя они и не вызывают длительного и стойкого протективного иммунитета, но всё же стимулируют специфический антимикробный иммунитет, повышают активность защиты от наиболее распространённых возбудителей гнойно-воспалительных процессов. Следует отметить, что все вышеперечисленные наиболее часто применяемые бактериальные вакцины содержат от 4-х до 19-ти компонентов, среди которых в обязательном порядке присутствуют антигены *S. aureus* и *Kl. pneumoniae*. Определение уровня специфических антител к этим двум патогенам в слюне и назальном секрете будет полезным для оценки местного иммунитета при различных состояниях и анализа стимуляции антимикробного иммунного ответа к этим компонентам бактериальных вакцин.

Целью нашей работы являлось определение в слюне и назальном секрете уровня IgA- и IgG-антител к *S. aureus* и *Kl. pneumoniae*, играющим существенную роль в этиологии воспалительных

заболеваний слизистых оболочек и кожи.

Материалы и методы. Работа проводилась на 3-х группах пациентов по 20 человек в каждой в возрасте от 18 до 60 лет:

- 1-ая группа – практически здоровые лица, контроль;
- 2-ая – больные хроническими заболеваниями ЛОР-органов (синуситы, отиты, тонзиллиты);
- 3-я – больные хроническим рецидивирующим фурункулезом (ХРФ).

Уровень антител в исследуемых образцах оценивали с помощью твердофазного ИФА. На полистироловые планшеты сорбировали очищенные белково-полисахаридные комплексные препараты клеточной стенки *S. aureus* или *Kl. pneumoniae*, инкубировали с исследуемыми образцами слюны или назального секрета, связавшиеся антитела выявляли конъюгатами моноклональных антител против соответствующего класса иммуноглобулинов человека фирмы «ООО Полигност», Санкт-Петербург. Предварительно образцы назального секрета стандартизовались по массе (50 мг/мл) и их изначальный титр до разведения принимался как 1:20, исходя из среднего удельного веса назального секрета – около 1 г/мл. Каждый образец слюны и назального секрета титровали с разведения 1:2 с шагом 2. Величина уровня антител в образцах выражалась значением обратного титра, дающего величину оптической плотности, равную 0,3. Результаты обрабатывались методами непараметрической статистики с помощью программы «STATISTICA 6», данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха от 25 до 75%. Значимость различий величин между группами оценивали по критерию Манн-Уитни.

Результаты. Было установлено, что уровень

специфических антител к *S. aureus* в слюне и назальном секрете значительно выше, чем – к *Kl. pneumoniae*, при этом в назальном секрете показатели всех специфических антител были значительно на порядок выше, чем в слюне. В отличие от назального секрета уровень антител А-изотипа в слюне значительно превышал уровень антител G-изотипа. В группе контроля в слюне уровень анти- *S. aureus* антител А-изотипа составил – Ме-16,0 (10,0–21,0), у больных ХРФ он равнялся – Ме-101,0 (66,0–128,0), что более чем в 5 раз выше значения в группе контроля ($p=0,00001$), а у пациентов с ЛОР заболеваниями этот показатель равнялся Ме-39,0 (27,0–114,0) и превышал более чем в 2 раза показатель 1-ой группы ($p=0,0002$). При этом группы 2 и 3 также статистически значимо различались между собой по уровню стафилококковых IgA антител в слюне ($p=0,002$). Наивысшее значение IgA антител к *S. aureus* в слюне отмечалось в группе больных ХРФ, что коррелирует с высоким значением высеваемости у них *S. aureus* из очагов воспаления – более чем в 90% случаев, хотя его локализация не была связана со слизистыми оболочками. Более низкое значение этого показателя во 2-ой группе больных не свидетельствует о столь высокой, как при ХРФ, ключевой роли *S. aureus* в патогенезе их заболеваний, хотя его значение также достоверно было выше, чем в группе контроля.

Уровень специфических антител к *Kl. pneumoniae* в слюне пациентов исследуемых групп был более чем в 3 раза ниже уровня стафилококковых антител, при этом медиана обратных титров антител А-изотипа не превышала значения 14. Однако было выявлено статистически значимое отличие этого показателя – Ме-13,0 (7,0–22,0) в группе ЛОР-больных ($p=0,002$) и больных ХРФ – Ме-14,0 (8,0–30,0) ($p=0,005$) от данного показателя группы контроля – Ме-4,0 (3,0–7,0). Во всех трёх группах обследованных пациентов значения обратных титров бактериальных антител G-изотипа были более чем в 2 раза ниже, чем уровень антител А-изотипа. В группе 1 уровень антител G-изотипа к *S. aureus* составил – Ме-9,0 (4,0–23,0), у пациентов 2-ой группы – Ме-17,0 (8,0–53,0), у больных ХРФ – Ме-26,0 (9,0–81,0); медиана обратных титров антител G-изотипа к *Kl. pneumoniae* во всех трёх группах была равна единице. При этом статистически значимого различия между уровнем специфических стафилококковых и клебсиеллезных антител G-изотипа в слюне пациентов всех трёх групп выявлено не было.

В назальном секрете уровень бактериальных антител А-изотипа был ниже, чем G-изотипа,

при этом значения обратных титров антител А-изотипа к *S. aureus* имели статистически достоверное различие ($p=0,05$) только между группой 1 – Ме-562,0 (264,0–958,0) и группой больных ХРФ – Ме-798,0 (629,0–2029,0), в то время как в слюне этот показатель достоверно отличался от значения группы контроля для всех групп больных. Также как и в слюне, в назальном секрете были выявлены статистически значимые различия этого показателя между группами 2 – 3 ($p=0,005$).

Значения обратных титров антител к *Kl. pneumoniae* в назальном секрете были более чем на порядок ниже по сравнению с уровнем антистафилококковых антител. Однако также было выявлено статистически значимое отличие величины медианы обратных титров антител к *Kl. pneumoniae* А-изотипа в группе больных ХРФ – Ме-140,0 (75,0–265,0), от данного показателя группы 1 – Ме-20,0 (20,0–97,0), ($p=0,04$), при этом группы 2 и 3 отличались между собой по данному показателю с уровнем значимости $p=0,07$, а между группами 1 и 2 не было выявлено статистически значимого различия. В отношении антител G-изотипа как к *S. aureus*, так и к *Kl. pneumoniae* в назальном секрете не было выявлено статистически значимого отличия по этим показателям двух обследованных групп больных от группы контроля.

Проведённый сравнительный анализ показателей обратных титров специфических бактериальных антител в группе контроля и 2-х группах больных установил, что уровень IgA антител к *S. aureus* и *Kl. pneumoniae* в слюне и назальном секрете в группе контроля и группе больных ХРФ отличались между собой с высокой степенью статистической значимости. Для ЛОР больных эти же статистически значимые различия с группой контроля были выявлены только в слюне. При этом ни в слюне, ни в назальном секрете не было выявлено статистически значимого различия между группой контроля и какой-либо группой больных в отношении уровня специфических бактериальных антител G-изотипа.

Таким образом, уровень специфических антител IgA-изотипа, которые являются основной составляющей гуморального иммунитета слюны и назального секрета и определяют устойчивость слизистых оболочек к инфекции (5), может служить неинвазивным диагностическим критерием инфекционного процесса, а также использоваться при терапевтическом мониторинге заболевания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Румель Н.Б., Головачева Е.Г., Осшак Л.В., и др. Роль специфических секреторных и сывороточных

антител при острых респираторных заболеваниях различной этиологии у детей. // Медицинская иммунология, 2003, Т.5, №5-6, с.609-614.

2. Кочурова Е.В., Козлов С.В. Диагностические возможности слюны. // Биохимия, 2014, № 1, с. 13-15.

3. Augustine SA, Eason TN, Simmons KJ, Curioso CL, et al. Developing a saliva antibody multiplex immunoassay to measure human exposure to environmental pathogens. // Journal of visualized experiments, 2016, Sep 12; (115). Doi: 10.3791/54415.

4. Heaney JL, Phillips AC, Carroll D, Drayson MT. The utility of saliva for the assessment of anti-pneumococcal antibodies: investigation of saliva as a marker of antibody status in serum. // Biomarkers, 2016, №12, p. 1-8.

5. Мельников О.Ф., Заболотный Д.И. Диагностика иммунодефицитов при патологии слизистой оболочки на основе определения иммуноглобулинов в секретах. // – К.: Институт оториноларингологии им. Коломийченко АМН Украины, 2003. -31с.

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА К IL-6 У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Виткина Т.И., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т. П., Сидлецкая К.А.

Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток.

EXPRESSION OF IL-6 RECEPTOR IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE OF VARYING SEVERITY

Vitkina T. I., Denisenko Yu. K., Novgorodtseva T. P., Sidletskaia K. A.

Vladivostok Branch of «Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration» – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Vladivostok.

Одной из проблем современной молекулярной иммунологии является изучение сигнальных цитокиновых путей, активируемых при различных патологиях. В нашей статье мы рассматриваем эту проблему в контексте хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), которая занимает ведущее место по заболеваемости и смертности среди других бронхолегочных патологий. В основе патогенеза ХОБЛ лежит нарушение иммунных механизмов регуляции воспалительного процесса [4]. Воспаление при ХОБЛ носит системный характер и проявляется в повышении плазменного уровня цитокинов, ассоциированных с воспалением и иммунной реактивностью. Большую роль в развитии системной воспалительной реакции при ХОБЛ играет интерлейкин-6 (IL-6). Это подтверждается повышенным уровнем этого цитокина в крови больных ХОБЛ [1,2,7,8,9,14]. IL-6 представляет собой плеiotропный цитокин с молекулярной массой 21-28 кДа, продуцируется антиген-пре-

зентирующими клетками – дендритными клетками и макрофагами. IL-6 обладает как про- так и противовоспалительной активностью, играет важную роль в дифференцировке Т-хелперных клеток, которые являются основным компонентом приобретенного иммунного ответа, участвует в процессах клеточной пролиферации и апоптоза [9,10,11,12,15]. Реализация функций IL-6 осуществляется за счёт связывания лиганда (IL-6) с рецептором и последующей активации JAK/STAT-сигнального пути, завершающегося запуском экспрессии определенных генов в клетке-мишени. Выделяют два типа IL-6 сигналинга – классический и трансигналинг. При классическом сигналинге IL-6 взаимодействует с мембранной формой рецептора (IL-6R или CD126) и 2 молекулами gp130. Трансигналинг осуществляется с помощью растворимой формы рецептора (sIL-6R) и 2 молекул gp130. Gp130 экспрессируется на мембране большинства клеток, в то время как IL-6R присутствует в основном

на макрофагах, нейтрофилах, некоторых видах Т-клеток и гепатоцитах. Согласно недавним исследованиям, противовоспалительные свойства IL-6 реализуются при классическом сигналинге, а провоспалительные опосредованы трансигналингом [5,8,9,10,11,15].

Целью данного исследования явилось изучение экспрессии рецептора к IL-6 у пациентов с ХОБЛ разной степени тяжести.

Материалы и методы. Исследование осуществлялось на базе Владивостокского филиала «ДНЦ ФПД» – НИИ МКВЛ в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации (пересмотр 2013 г.) с одобрения локального Биоэтического комитета. На основании добровольного информированного согласия в исследование были включены 112 пациентов с ХОБЛ 1-го (36 человек), 2-го (52 человека) и 3-го (24 человека) спирометрического класса стабильного течения [4]. Средний возраст пациентов составил $57,5 \pm 4,8$ года. В контрольную группу вошли 32 практически здоровых лица, некурящих, с нормальной функцией внешнего дыхания, средний возраст составил $42,0 \pm 3,4$ года. В период обследования никто из пациентов не получал регулярной противовоспалительной терапии. Из исследования были исключены больные, имеющие сопутствующие хронические заболевания в фазе обострения. Заболевания бронхолегочной системы диагностировали на основании данных анамнеза, объективного осмотра, пикфлоуметрии, спирографии с выполнением бронхолитического теста (спирограф «FUKUDA», Япония), результатов тестов mMRC и CAT, рентгенологического и лабораторного исследования. В качестве материала для исследования использовали цельную кровь здоровых лиц и пациентов с ХОБЛ разной степени тяжести. Экспрессию рецептора IL-6R (CD126⁺) определяли по процентному содержанию Т-лимфоцитов (CD3⁺ - клетки), Т-хелперов (CD4⁺-клетки), моноцитов и гранулоцитов, несущих на своей мембране исследуемый рецептор, методом проточной цитометрии (цитометр «BD FACSCantoII») с использованием реагентов фирмы BD (USA). Для определения экспрессии рецептора использовали антитела – CD126 (APC). В качестве маркирующих агентов использовали следующие антитела: CD45 (APC-H7), CD3 (FITC), CD4 (PE-Cy7). Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «Statistica 6.0 для Windows».

Результаты описательной статистической обработки экспрессии рецептора представляли в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Статистическую значимость различий экспрессии рецептора между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,001$; $0,01$; $0,05$ [3].

Результаты и обсуждение. В ходе исследования было выявлено, что число циркулирующих иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих поверхностный рецептор IL-6R, повышено у пациентов с ХОБЛ в сравнении с контрольной группой. Статистически значимых различий между параметрами контрольной группы и группы пациентов с ХОБЛ лёгкой степени тяжести не прослеживалось. Но, тем не менее, у пациентов с ХОБЛ лёгкого течения была обнаружена тенденция к увеличению количества CD126⁺ - клеток в сравнении с контрольными значениями. В этой группе пациентов экспрессия IL-6R в наибольшей степени возросла на субпопуляции Т-хелперов в сравнении с контрольными значениями. У больных среднетяжёлой ХОБЛ статистически значимо возрастал уровень экспрессии IL-6R на иммунокомпетентных клетках. Экспрессия данного рецептора была наиболее выражена на популяциях гранулоцитов – увеличение числа CD126⁺ - клеток на $55,1\%$ ($p < 0,01$) и Т-хелперов – возрастание количества CD126⁺ - клеток в 2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями. Статистически значимое увеличение относительного количества клеток с маркером CD126⁺ по сравнению с контрольными значениями наблюдалось и у пациентов с ХОБЛ тяжёлого течения. При этом у пациентов на этой стадии регистрировалось наибольшее процентное содержание CD4⁺CD126⁺ - клеток в сравнении с группой контроля (возрастание на $368,6\%$ ($p < 0,001$)). Число гранулоцитов, несущих IL-6R, на этой стадии значительно повысилось в сравнении с контролем (на $298,4\%$ ($p < 0,001$)). Также увеличилось количество Т-лимфоцитов и моноцитов с маркером CD126⁺ по сравнению с контрольными значениями – на $188,9\%$ ($p < 0,001$) и на $150,9\%$ ($p < 0,001$) соответственно. В ходе проведения сравнительного анализа значений, полученных для пациентов с ХОБЛ лёгкой и тяжёлой степени тяжести, было выявлено, что относительное число CD4⁺CD126⁺ - клеток у больных ХОБЛ тя-

жёлтого течения повышается на 308,6 % ($p < 0,001$), $CD3^+CD126^+$ - клеток – на 164,5% ($p < 0,005$), моноцитов $CD126^+$ – на 136,9 % ($p < 0,001$), гранулоцитов $CD126^+$ – на 283,6 % ($p < 0,001$).

Таким образом, у больных ХОБЛ были выявлены изменения уровня экспрессии IL-6R в зависимости от степени тяжести заболевания. По мере прогрессирования ХОБЛ происходило увеличение числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов, гранулоцитов и моноцитов, несущих на своей поверхности IL-6R. Классический путь передачи IL-6 сигнала опосредует противовоспалительные эффекты, подавляющие воспалительную реакцию и компенсирующие апоптотические изменения [8,9,10,11,13,15]. Следует отметить, что в наибольшей степени было повышено число $CD4^+CD126^+$ - клеток на всех стадиях ХОБЛ. Кроме того, по мере утяжеления ХОБЛ значительно возрастало число гранулоцитов с маркером $CD126^+$, большая часть которых представлена нейтрофилами. Возможно, большое количество циркулирующих $CD126^+$ - гранулоцитов связано с нейтрофильным характером воспаления при ХОБЛ [1,6]. Можно предположить, что Т-хелперы и гранулоциты являются основными клетками-мишенями для противовоспалительного действия IL-6.

Подводя итог всему вышесказанному, можно сделать вывод, что сигнальный путь, активируемый IL-6 по классическому пути, играет важную роль в регуляции системного воспалительного процесса при ХОБЛ. Возможно, данный цитокин способен влиять на цитокиновый баланс путем переключения своей активности с провоспалительной на противовоспалительную, действуя при этом классический путь передачи сигнала в клетку. В свою очередь, цитокиновый баланс определяет течение болезни и её исход. Таким образом, IL-6R, как важный участник классического IL-6 сигналинга, может рассматриваться в качестве мишени для лечения ХОБЛ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., Денисенко Ю.К. Особенности содержания цитокинов Th1- и Th17-лимфоцитов у лиц с хронической обструктивной болезнью легких // Медицинская иммунология. – 2016. – Т.18, №3. – С. 287-290.
2. Лобанова Е.Г., Калинина Е.П., Виткина Т.И., Денисенко Ю.К., Назаренко А.В., Юренко А.В. Т-клеточная иммунорегуляция и уровень цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких // Медицинская иммунология. – 2015. – Т.17, №3с.

– С. 69-70.

3. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

4. Global initiative for chronic obstructive lung disease: global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease, 2014 [Electronic resource]. URL: http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2014_Jun11.pdf. 2.

5. Goldsby R., Kindt T., Osborne B., Kuby J. Immunology: 5th ed. W. H. Freeman, 2003, 603 p.

6. Kalinina E., Karaman Yu., Vitkina T., Lobanova E., Novgorodtseva T., Antonyuk M., Gvozdenko T., Knyshova V. and Nazarenko A. The mechanisms of the regulation of immune response in patients with comorbidity of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. Canadian Respiratory Journal, 2016, Vol. 2016, pp. 8.

7. Liang R., Zhang W., Song Y. M. Levels of leptin and IL-6 in lungs and blood are associated with the severity of chronic obstructive pulmonary disease in patients and rat models. Molecular medicine reports, 2013, T. 7, no. 5, pp. 1470-1476.

8. Rincon M., Irvin C.G. Role of IL-6 in Asthma and Other Inflammatory Pulmonary Diseases. Int. J. Biol. Sci., 2012, Vol. 8, no. 9, pp. 1281-1290.

9. Rose-John S. IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. Int. J. Biol. Sci., 2012, T. 8, no. 9, pp. 1237-1247.

10. Schaper F., Rose-John S. Interleukin-6: biology, signaling and strategies of blockade. Cytokine & growth factor reviews, 2015, T. 26, no. 5, pp. 475-487.

11. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research, 2011, Vol. 1813, no. 5, pp. 878-888.

12. Toumpanakis D., Vassilakopoulos T. Molecular mechanisms of action of Interleukin-6 (IL-6). Pneumon, 2007, T. 20, no. 1, pp. 154-67.

13. Vitkina T.I., Yankova V.I., Gvozdenko T.A., Nazarenko A.V., Golokhvast K.S., Kuznetsov V.L., Krasnikov D.V., Chaika V.V., Smagin S.V., Tsatsakis A.M., Engin A.B., Karakitsios S.P., Sarigiannis D.A. The impact of multi-walled carbon nanotubes with different amount of metallic impurities on immunometabolic parameters in healthy volunteers. Food and Chemical Toxicology, 2016, T. 87, pp. 138-147.

14. Vitkina T.I., Denisenko Yu.K., Davydova K.A. The changes in the profile of cytokines in progressing chronic obstructive pulmonary disease. International Research Journal, 2016, Vol.49, no. 7-3, pp. 6-8.

15. Young R. P., Hopkins R. J. Interleukin-6 and statin therapy: potential role in the management of COPD. Respiratory research, 2013, T. 14, no. 1, pp. 1.

ВАРИАНТЫ ИНТРАИММУННОЙ ДИСРЕГУЛЯЦИИ И ИХ ИСХОДЫ

Сизякина А.П., Андреева И.И.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», г. Ростов-на-Дону.

THE VARIANTS OF THE INTRAIMMUNE DYSREGULATION AND THEIR RESULTS

Sizyakina L.P., Andreeva I.I.

State Medical University, Rostov-on-Don.

Функционирование иммунной системы обеспечено скоординированностью процессов её активации и супрессии за счёт интраиммунной регуляции. Механизмы регуляции иммунного ответа индуцируются одновременно с запуском эффекторных реакций, дисбаланс этих процессов может лежать в основе нарушения иммунного реагирования и развития разных клинических вариантов иммунопатологии [1,2,3,4]. В литературе накоплен большой фактический материал о роли различных факторов, обеспечивающих направленность и силу иммунного ответа, однако остаются неясными механизмы нарушения скоординированности активации и супрессии, нет чётких представлений об уровне его формирования в зависимости от этапа иммуногенеза [5,6,7,8].

Цель исследования. Выявление дисрегуляторных механизмов формирования аутоиммунного и инфекционного фенотипов иммунной недостаточности.

Материалы и методы. Обследовано 50 пациентов в динамике прогрессии ВИЧ-инфекции и 89 больных рассеянным склерозом (РС) в стадии активации и полной клинической ремиссии. Контрольную группу составили 40 практически здоровых доноров крови. Методом проточной лазерной цитофлуориметрии с использованием цитометра Cytomics FC 500 (BeckmanCoulter) и моноклональных антител производства Beckman Coulter, eBioscience исследовали субпопуляционный состав, а также экспрессию активационных (CD25, HLADR) рецепторов, внутриклеточное содержание сигнальных и эффекторных фак-

торов (Foxp3, ИФН- γ , ИЛ-4) лимфоцитов периферической крови. Результаты представлены в виде процента позитивных клеток (Mean $\pm$ SD). Оценка пролиферативной способности Т-клеток осуществлялась с использованием РБТЛ с радиометрическим учётом на β -счётчике БЕТА-2. Результаты выражали в импульсах в минуту (имп/мин) и рассчитывали индекс стимуляции (ИС) – отношение включения метки в присутствии и при отсутствии митогена (ФГА). Определение относительной аффинности антител IgG к антигенам ВИЧ проводили на основании методики R. W. Luxton, E. J. Thompson [9] с расчётом коэффициента снижения аффинности (КСaf.). Содержание в сыворотке крови цитокинов (ИФН- γ , ИЛ-4) определяли методом иммуноферментного анализа с применением тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест. Полученные данные были интерпретированы исходя из патогенетического принципа оценки иммунной системы [10]. При анализе особенностей иммуногенеза характеризовали этапы распознавания, активации, пролиферации, регуляции и реализации эффекта. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ Statistica 7.0.

Результаты. Выявлено, что у инфицированных ВИЧ в терминальной стадии приобретенного вторичного иммунодефицита при снижении как общего числа CD4+-лимфоцитов ($6,60 \pm 0,85\%$, в контроле $41,92 \pm 0,35\%$), так и количества наивных Т-клеток, обеспечивающих первичное распознавание антигена ($1,4 \pm 0,7\%$, в контроле $29,2 \pm 6,1\%$), увеличено количество периферических CD4+Foxp3+Т-лимфоцитов до

2,7±0,3% (в контроле 1,3±0,3%). Наиболее отчетливо этот факт документирует показатель, отражающий долю Treg в общем пуле CD4+Т-клеток, который составляет 40,9±1,8% (в контроле 3,25±1,6%). При этом пролиферативная способность Т-лимфоцитов существенно угнетена (ИС РБТЛ 9,60±3,30 у.е., в контроле 63,60±0,87 у.е.), хотя экспрессия маркеров ранней (CD3+CD25+ 3,01±0,50%) и поздней активации (CD3+HLADR+ 10,38±1,33%) превышает параметры контрольных значений (2,15±0,17% и 8,04±0,14% соответственно). В гуморальном звене выявляется гипериммуноглобулинемия при снижении на 67,9±6,9% способности связывать специфический антиген, что подтверждено значением коэффициента снижения аффинности анти-ВИЧ IgG антител. Кроме того, регистрируется гиперцитокинемия оппозитных цитокинов (ИЛ-4 69,60±21,75 пг/мл, в контроле 1,90±0,20 пг/мл; ИФН-γ 53,49±23,03 пг/мл, в контроле 6,2±3,3 пг/мл). Таким образом, в условиях сформировавшегося вторичного иммунодефицитного состояния, опосредованного инфицированием ВИЧ, существенно нарушены процессы согласованности активации и супрессии с вовлечением иммунорегуляторных механизмов, связанных с усилением негативной регуляции.

У больных с РС в период клинической манифестации в циркуляции увеличено количество Т-лимфоцитов, экспрессирующих маркеры ранней (CD3+CD25+ 2,77±0,24%) и поздней (CD3+HLADR+ 9,49±0,51%) активации при усилении пролиферативных свойств, что демонстрирует ИС РБТЛ на Т-клеточный митоген (72,12±1,97 у.е.). CD4+-субпопуляция характеризуется увеличением абсолютного количества CD4+CD45RA+наивных клеток (40,9±2,55%), снижением как общего количества CD4+CD25+Foxp3+-регуляторных лимфоцитов (0,42±0,02%), так и их доли в общей популяции CD4+-Т-клеток (0,97±0,03%). В гуморальном звене выявлено увеличение количества зрелых В-лимфоцитов (9,36±0,46%, в контроле 6,20±0,24%) и продукции IgM (1,57±0,04 г/л, в контроле 1,1±0,1 г/л). Изменения цитокинового спектра сыворотки крови проявляются увеличением содержания ИФН-γ (38,37±16,91 пг/мл) и, как следствие, изменением коэффициента соотношения иммунорегуляторных цитокинов в сторону клеточно-опосредованных процессов:

ИФН-γ/ИЛ-4 45,14±8,72 (в контроле 3,3±1,5).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о доминировании активационных процессов иммунного реагирования, которые поддерживаются в том числе ослаблением Т-клеточной негативной иммунорегуляции.

Сопоставляя полученные данные можно резюмировать, что различная клиническая манифестация иммуноопосредованной патологии ассоциирована с разными механизмами нарушения интраиммунной регуляции. Угнетение процессов распознавания и пролиферации при усилении негативной регуляции приводит к формированию иммунопатологии с превалированием инфекционного варианта иммунной недостаточности. При активации распознавания, усилении пролиферативных свойств лимфоцитов и ослаблении иммунорегуляторной Т-супрессии процессы интраиммунной дисрегуляции способствуют развитию аутоиммунного фенотипа иммуноопосредованной патологии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ильина Н.И. Клиническая иммунология и иммуноопосредованные воспалительные заболевания / Н.И. Ильина // Рос.аллергол. журн. – 2010. – № 2. – С. 54–58.
2. Борисов, А.Г. Заболеваемость, связанная с нарушениями функции иммунной системы (на примере Красноярского края) / А.Г. Борисов, А.А. Савченко, В.К. Соколовская // Здравоохранение РФ. – 2014. – Т. 58, № 6. – С. 38–41.
3. Козлов, В.А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений: руководство для врачей / В.А. Козлов, А.Г. Борисов, С.В. Смирнова [и др.]. – Новосибирск: Наука, 2009. – 274 с.
4. Depont, F. Interventions to Improve Adherence in Patients with Immune-Mediated Inflammatory Disorders: A Systematic Review Published / F. Depont, F. Berenbaum, J. Filippi [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, N 12. – Article e0145076. – doi: 10.1371/journal.pone.0145076.
5. Хаитов, Р.М. Вклад Александра Александровича Ярилина в развитие современной иммунологии / Р.М. Хаитов, В.М. Манько // Иммунология. – 2014. – Т. 35, № 4. – С. 172–190.
6. Пашнина, И.А. Регуляторные Т-клетки у детей с аутоиммунными заболеваниями / И.А. Пашнина // Мед.иммунология. – 2014. – Т. 16, № 4. – С. 363–350.
7. Сизякина, Л.П. Патогенетические аспекты формирования несостоятельности иммунной системы в динамике ВИЧ-инфекции / Л.П. Сизякина, И.И. Андреева // Иммунология. – 2016. – Т. 37, № 5. – С. 228–232.
8. Henderson, J.G. CD5 Instructs Extrathymic Regulatory T Cell Development in Response to Self and Tolerizing Antigens / J.G. Henderson, A. Opejin, A. Jones [et al.] // Immunity. – 2015. – Vol. 42, N 3. – P. 471–483.
9. Luxton, R.W. A study of immunoglobulin G in the cerebrospinal fluid of 1007 patients with suspected neurological disease using isoelectric focusing and the

Log IgG-Index. A comparison and diagnostic applications / R.W. Luxton, E.J. Thompson // Brain. – 1990. – 113, Pt 5. – P. 1269-1289.

10. Ковальчук, Л.В. Развитие патогенетического принципа оценки иммунной системы человека / Л.В.

Ковальчук, А.Н. Череев // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1997. – № 6. – С. 89-92.

ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОЙ КРАПИВНИЦЫ У ДЕТЕЙ

Синельникова Н.А., Калинина Н.М., Савенкова Н.Д.

СПбГПУ, ВЦЭРМ им. А.М.Никифорова МЧС России, г. Санкт-Петербург.

IDEAS ABOUT THE IMMUNOPATHOGENESIS OF CHRONIC URTICARIA IN CHILDREN

Sinelnikova N.A., Kalinina N.M., Savenkova N.D.

SPbSPMU; ARCERM, EMERCOM of Russia, Saint-Petersburg, Russia.

Хроническая крапивница (ХК) – этиологически гетерогенное заболевание или синдром, основным проявлением которого является волдырь (от лат. Urtica – волдырь). Хронической принято считать крапивницу, при которой уртикарные высыпания персистируют или рецидивируют более 6 недель. ХК у детей в общей популяции в среднем составляет 0,1-3% [1]. В мировой практике проблема ХК ещё не решена, и актуальность обусловлена ограниченностью знаний о клеточных и молекулярных механизмах, длительностью заболевания, трудностями диагностики и не всегда чётким эффектом на проводимое лечение, социальными проблемами и снижением качества жизни пациентов. Тем не менее, тенденция направлена на «упрощение» терминологии, классификации, уменьшение объёма диагностических процедур, что расценивается как положительный шаг в понимании вопроса ХК.

Согласно Федеральным клиническим рекомендациям по оказанию медицинской помощи детям с крапивницей (2015 г.) и Европейским согласительным документам, (GA2LEN GLOBAL URTICARIA FORUM, 2016) предлагают классифицировать крапивницу по подтипам, выделяя спонтанную и индуцированную формы [2]. Используемая в настоящее время терминология

отражает роль провоцирующего фактора в развитии обострений заболевания. Многообразие условий и факторов возникновения заболевания, в большинстве случаев, не является основной причиной болезни, а только провоцирует обострения и способствует хронизации и поддержанию воспалительного процесса [3].

В настоящее время центральную роль этиопатогенеза занимает так называемая «клеточная» теория в основе, которой ХК рассматривается как аутоиммунное/аутореактивное заболевание, а воспалительные механизмы обусловлены каскадом иммунопатологических реакций, воздействующих на тучные клетки и базофилы [4].

Считается, что у 25-60% больных ХК патогенез опосредован присутствием функциональных IgG аутоантител к молекулам IgE или к α-субъединицам 9 рецепторов FcεRI на тучных клетках и базофилах, что выявляется в виде положительной реакции при проведении внутрикожного теста с аутологичной сывороткой крови (ASST). Этот вид аутореактивности может быть описан как реакция гиперчувствительности II типа в соответствии классификации Gell and Coombs [5]. Второй вид аутореактивности у больных ХК, согласно данным международной экспертной группы по крапивнице (GA2LEN GLOBAL

URTICARIA FORUM, 2016), опосредован синтезом IgE антител против аутоантигенов, таких как антинуклеарные антигены, 2-хспиральная ДНК, тиреоглобулин (ТГ) и тиреопероксидаза (ТПО) [6]. Несмотря на то, что ХК обычно рассматривается как не IgE-зависимое заболевание, имеются исследования, где отмечают повышение уровня общего IgE в группе больных ХК по сравнению с контрольной группой. Некоторые исследования указывают на другую, отличную от «аллергической», роль общего IgE в патогенезе ХК. Появилось мнение, что увеличение циркулирующего IgE может отражать присутствие Th2 ответа в «неаллергических условиях». Кроме того, пациенты со вторым видом аутореактивности часто имеют сопутствующие аутоиммунные заболевания [7].

Цель исследования. Изучить особенности иммунных механизмов, лежащих в основе патогенеза спонтанной (СК) и индуцированной (ИК) ХК у детей.

Материалы и методы. Обследовано 62 ребёнка от 9 месяцев до 18 лет (средний возраст $9,4 \pm 0,72$) с хронической крапивницей, из которых 32 (52%) пациента от 0,9 до 18 лет (средний возраст $8,5 \pm 0,9$) со СК, 30 (48%) пациентов от 3 до 18 лет (средний возраст $11,8 \pm 0,9$) с ИК. Включение пациентов в группу СК или ИК проведено в соответствии с классификацией, представленной Федеральными Клиническими Рекомендациями по оказанию медицинской помощи детям с крапивницей (2015г) и систематикой Т. Zuberbier et.al. (2016). Пациенты в группе ИК имели смешанный характер заболевания, сочетая различные формы ХК, а так же эпизоды СК в анамнезе. Исключение составили два пациента с изолированной холодовой ХК и один ребёнок с холинергической ХК. Преобладающим был подтип крапивницы, выявляемый по средствам провокационных тестов, рекомендованных в согласительных документах. Данная группа ИК имела более длительные сроки заболевания и более высокие цифры тяжести заболевания, измеренные с помощью оценки тяжести крапивницы (UAS7). Группу сравнения составили 25 здоровых детей от 10 месяцев до 18 лет (средний возраст $6,8 \pm 0,84$).

В сыворотке крови всех пациентов методом ИФА измерены уровень общего IgE (ХемаМедика), и концентрации компонентов комплемен-

та (С3а, С4, С1 ингибитора) с использованием наборов реактивов «ИФА-С1-инг», «ИФА-С4», «ИФА-С3а» (ООО «Цитокин»), предназначенных для количественного определения компонентов комплемента человека. Изучение активации базофилов проводили методом проточной цитометрии (FC 500, BECKMAN-COULTER) в цельной гепаринизированной крови с использованием набора Allergenicity kit (Cellular Analysis of Allergy, BECKMAN-COULTER) в соответствии с инструкцией к набору. Применяя многоэтапное гейтирование, в каждой пробе было оценено относительное количество активированных базофилов с фенотипом CD3-CRTh2+CD203c++, а также Т-хелперов 2 с фенотипом CD3+CD294+. Референтный интервал спонтанной активации базофилов 0-8% у здоровых детей.

Детям с хронической крапивницей старшего возраста проводили пробу с аутосывороткой (autologous serum skin test - ASST).

Статистический анализ осуществлялся с использованием непараметрических тестов (Wilcoxon-Mann-Whitney test), корреляционного анализа (Spearman rank correlation coefficient). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. При изучении общего IgE в группе пациентов со СК и ИК выявлено повышение в группе СК ($158,8 \pm 47,4$) по сравнению с ИК ($90,8 \pm 19,34$; $p = 0,04$) и группой контроля ($34,9 \pm 15,8$; $p = 0,01$), что может быть связано с аутореактивностью при СК. Показано повышение Th-2 при СК ($0,7 \pm 0,05\%$) по сравнению с ИК ($0,5 \pm 0,05\%$) и группой здоровых детей ($0,3 \pm 0,04\%$).

Отмечено повышение С3а в обеих группах детей с крапивницей ($314,0 \pm 27,4$ при СК и $329,82 \pm 26,1$ при ИК), при сравнении С3а с группой здоровых детей ($115,85 \pm 12,1$, $p = 0,0001$). Отмечено снижение С4 у детей со СК $203,6 \pm 13,32$, достоверно отличавшееся от показателей С4 у детей с ИК $342,4 \pm 54,5$ и группой здоровых детей $376,13 \pm 29,5$ ($p = 0,01$). У детей со СК C1inh находился в пределах нормы $345,72 \pm 27,4$ и не отличался от группы сравнения здоровых детей ($p > 0,05$); у пациентов с ИК был статистически достоверно повышен $477,95 \pm 45,19$ при сравнении с группой СК ($p = 0,02$) и группой здоровых детей ($p = 0,004$).

В группе детей со СК количество активированных базофилов не превышало референтных значений $5,9 \pm 1,4\%$ и статистически не отличалось от

группы здоровых детей $4,3 \pm 0,7\%$ ($p > 0,05$). У детей с ИК количество активированных базофилов было повышено у 19 (62%) пациентов и составило $14,74 \pm 3,6\%$, что статистически достоверно отличалось от группы детей со СК ($p = 0,002$) и от группы здоровых детей ($p = 0,0002$). Отмечены положительные корреляции активации базофилов с уровнем Cl_{inh} ($r = 0,5$) и тестом с аутосывороткой ($r = 0,4$), что может быть описано, как проявление гиперчувствительности II типа.

Заключение. Данное исследование демонстрирует иммунологические различия в основе патогенеза спонтанной и индуцированной (смешанной) крапивницы; наличие аутоиммунных механизмов при спонтанной крапивнице, иммунный ответ у которых развивается преимущественно по Т-хелперному 2 типу; и II типа иммунных реакций при индуцированной (смешанной) крапивнице с активацией классического пути системы комплемента. Полученные результаты показывают большую активацию базофилов у детей в группе индуцированной (смешанной) крапивницы в сравнении со спонтанной ХК и группой здоровых детей, что является признаком

большей активности заболевания при смешанных формах ХК.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. Федеральные клинические рекомендации. Аллергология. 2014; с. 90.
2. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С. Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с крапивницей. 2015г; с. 9.
3. Giménez-Arnau A.M., Grattan C., Zuberbier T., Toubi E. An individualized diagnostic approach based on guidelines for chronic urticaria (CU). Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2015; 29(3): 3–11.
4. Maurer M. Chronic urticaria: The evolution of etiopathogenic concepts. Abstract book. 3rd GA2LEN GLOBAL URTICARIA FORUM. 2016; 12.
5. Panaszek B., Pawłowicz R., Grzegorzówka J., Obojski A. Autoreactive IgE in Chronic Spontaneous/Idiopathic Urticaria and Basophil/ Mastocyte Priming Phenomenon, as a Feature of Autoimmune Nature of the Syndrome. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2016; 11(67): 1-6. Chang K.L., Yang Y.H., Yu H.H., Lee J.H., Wang L.C., Chiang B.L. Analysis of serum total IgE, specific IgE and eosinophils in children with acute and chronic urticaria. J Microbiol Immunol Infect. 2013; 46(1): 53-8.
7. Колхир П.В., Олисова О.Ю., Кочергин Н.Г. Эндотипическая классификация хронической спонтанной крапивницы – путь к персонализированной терапии. Лечащий врач. 2015; 5: 45.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРИОПЕРАЦИОННОЙ ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ИЗБЫТОЧНОГО АДГЕЗИОГЕНЕЗА

Снимщикова И.А., Халилов М.А., Шохина М.Д., Честнихина А.Д., Захарченко О.Г.
ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», Орёл
г. Орёл, ул Октябрьская, 25, мединститут, Снимщиковой И.А.

THE EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF APPLICATION PERIOPERATION IMMUNOPHARMACOLOGICAL CORRECTIONS OF ADGESIOGENESIS

Snimshchikova I.A., Khalilov M.A., Shohina M.D., Chestnichina A.D., Zaharchenko O.G.
Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Orel State University named after I.S. Turgenev”, Orel.

Вопросы своевременной диагностики и рациональной лечебной тактики при перитонеальных спаечных процессах продолжают оставаться одной из сложных и весьма актуальных

проблем абдоминальной хирургии. Спаечный процесс, как правило, формируется у 60-100% пациентов, перенесших оперативные вмешательства, и у 15-20% – на фоне воспалительных

заболеваний органов брюшной полости и малого таза. Данные исследований патогенеза спаечного процесса, критериев ранней диагностики и прогноза, несмотря на многочисленность, достаточно противоречивы, что не позволяет разработать стройную лечебно-диагностическую концепцию.

Известно, что на развитие и исход репаративного процесса после операционной травмы, в первую очередь, влияет локальная реакция клеток воспаления и состояние местного звена иммунитета, контролирующего дифференцировку клеток-предшественников в фибробласты и регулирующих их активность.

Исследованиями последних лет показано, что одним из перспективных способов предупреждения патологического адгезиогенеза после оперативных вмешательств может быть ускорение процессов репаративной регенерации тканей путём воздействия на первичный локально-воспалительный процесс, ведущую роль в обеспечении которого играют перитонеальные макрофаги и продуцируемые ими медиаторы.

Целью работы явилось изучение на модели спаечной болезни в эксперименте противоспаечной эффективности Глюкозаминилмурамилдипептида.

Материал и методы. Моделирование внутрибрюшных спаек проводилось на 60 крысах «Вистар» мужского пола весом 170 ± 30 г. Все животные до начала эксперимента прошли карантинный режим вивария, содержались в одинаковых условиях в индивидуальных клетках на типовом пищевом рационе. При проведении экспериментальных работ соблюдены принципы Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (2000), требования приказа №267 МЗ РФ от 19.06.2003 «Правила по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных».

Поскольку стойкий спаечный процесс с необратимыми соединительнотканными сращениями образуется через 2 месяца после воздействия на брюшину травмирующего агента, все животные выводились на 60 сутки. Выраженность спаечного процесса оценивалась фотографированием с дальнейшей компьютерной обработкой по разработанной нами методике, методом гистологического исследования органов брюшной полости и спаек по стандартным методикам. Во

время лапаротомии, проводили десерозирование слепой кишки и терминального отдела тонкой кишки, а также париетальной брюшины вблизи лапаротомной раны путём травмирования брюшины (скарификация, ишемия и высыхание брюшины), которая зашивалась с оставлением микроиригатора для введения в брюшную полость противоспаечных медикаментозных средств, широко используемых в хирургической практике. В частности, для сравнения эффективности предлагаемого способа, в область повреждения брюшины, вводился преднизолон в течение 3 дней 1 раз в сутки. Через 2 мес. животным проводилась повторная лапаротомия для выяснения степени развития у них спаечного процесса. Животные в зависимости от серии исследований и применяемого метода лечения были распределены на 3 группы:

- животные, не получавшие лечения (I - контрольная группа);
- животные II группы - сравнения (с применением преднизолона);
- основная группа животных (III группа), получавших Глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП), который является действующим веществом препарата Ликопид.

Результаты и обсуждение. Для сравнения результатов экспериментальных исследований была разработана балльная оценка на основании распространённости, количества, морфологического вида, степени васкуляризации, консистенции спаек, нарушения функции внутренних органов (сужение и деформация полых органов). В I группе экспериментов из 20 животных до конца экспериментального цикла было доведено 18 крыс. При вскрытии внутрибрюшные спайки выявлены у всех 18 крыс (100%). В 8 случаях спаечный процесс представлял собой единый конгломерат органов, что соответствовало в среднем $6,5 \pm 0,15$ баллам. Имело место сужение полых органов, причиной которых являлся спаечный процесс у 10 крыс. По первому критерию оценки спаечного процесса у 8 животных процесс спайкообразования занимал около двух этажей брюшной полости, в 2-х случаях спаечный процесс представлял собой единый конгломерат органов. Таким образом, при балльной оценке этого критерия среднее количество баллов в этой группе животных составило $5,4 \pm 0,25$ баллов. При расчете среднего количества спаек у животных этой группы оно составило в среднем $54 \pm 0,5$ спаек, что соответ-

ствовало $4,4 \pm 0,2$ баллам. Образовавшиеся спайки имели умеренно плотную консистенцию, при попытке их отделения растягивались, а затем разрывались, повреждая серозный покров париетальной и висцеральной брюшины. По морфологическому виду образовавшиеся сращения были достаточно васкуляризованы, преобладали плоскостные, редко встречались шнуровидные и мембранозные спайки. Среднее количество баллов по этому критерию составило $12,5 \pm 0,3$.

Во II группе животных до конечного этапа экспериментов доведено 19 крыс. На секции спаечный процесс обнаружен у 80% животных, при этом массивный спаечный процесс обнаружен в 40% случаев. При ревизии у животных II группы спаечный процесс брюшной полости, в основном, носил очаговый характер. Спаечный процесс, занимающий два этажа брюшной полости, обнаружен у 11 животных, у 6 животных спаечный процесс занимал один этаж брюшной полости, что соответствовало в среднем $2,6 \pm 0,13$ баллам. При ревизии сужение полых органов наблюдалось у 4 животных. У остальных 14 животных сужений не отмечалось, что составило, в среднем, $2,4 \pm 0,13$ баллов. Бальная оценка количества спаек составила в среднем $4,4 \pm 0,13$. Сращения в основном имели плоскостной характер, реже мембранозный или шнуровидный. По этому критерию расчёты составили в среднем $36,5 \pm 2,6$ балла. Спайки были средней плотности, при попытке отделить в редких случаях повреждалась стенка кишечника или париетальная брюшина, главным образом спайки растягивались, а затем достаточно легко разрывались.

У животных III группы до конца экспериментального цикла были доведены все 20 крыс, при этом массивный процесс имел место только в 5%, невыраженный спаечный процесс выявлен у 10 животных (50%). Спаечный процесс в основном занимал область послеоперационного рубца. Сращения в пределах двух этажей брюшной полости у 8 животных. В 1 случае спаечный процесс представлял собой единый конгломерат органов с сужением полых органов, что соответствовало в среднем $2,6 \pm 0,15$ баллам. В остальных случаях деформации кишечной трубки не наблюдалось. По данному критерию среднее количество баллов составило $2,1 \pm 0,15$ баллам. Далее произведена оценка спаечного процесса по среднему количеству спаек, которое соответствовало в среднем $2,3 \pm 0,12$ баллам. Спайки главным образом пло-

скостные, достаточно васкуляризованные, при попытке отделить их разделяются без труда. По морфологическому виду наблюдались плоскостные спайки, единичные мембранозные и шнуровидные. Среднее количество баллов по данному критерию составило $4,1 \pm 0,5$ баллов.

При проведении анализа эффективности применённых способов профилактики спаечной болезни установлено, что, если в контрольной серии опытов массивный спаечный процесс развивался почти в 100% случаев, при использовании преднизолона – у 40% животных, а при использовании ГМДП массивный процесс имел место только у одного животного, что составило 5%.

Выводы. Полученные нами экспериментальные данные свидетельствуют о том, что при применении иммунофармакотерапии с использованием Глюкозаминилмурамилдипептида в профилактике повышенного адгезиогенеза имеет место выраженный противоспаечный эффект а также ускорение процессов восстановления активной жизнедеятельности лабораторных животных. Результаты позволяют сделать заключение о перспективности применения для профилактики спаечного процесса в комплексном периперационном ведении пациентов иммунофармакотерапии препаратом ликолипид.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Способ профилактики спаечной болезни / Халилов М.А., Снимщикова И.А., Гострый А.В. - Патент на изобретение RU 2523263 22.14.2014.
2. Теоретические и клинические аспекты избыточного адгезиогенеза / И.А. Снимщикова, А.И. Медведев, М.А. Халилов, И.А. Шманева и др. // Вестник РГМУ.- 2008.- №4(63).- С.99-102.
3. Халилов М.А. Методика профилактики и лечения избыточного адгезиогенеза в послеоперационном периоде. / М.А. Халилов, А.В. Гострый, И.А. Снимщикова // Учёные записки Орловского Государственного Университета.- 2011.- № 5(43).- С. 127-130.
4. Томашев П.Н. Комбинированная иммунокоррекция в комплексном лечении больных с острой спаечной кишечной непроходимостью: автореф дисс... канд. мед. наук // П.Н. Томашев.- М.- 2007.- 25 С.
5. Эффективность локальной иммунокоррекции в комплексном лечении спаечных процессов органов малого таза/ И.А. Снимщикова, В.С. Анцупова, А.И. Медведев, М.А. Халилов и др. // Russian journal of Immunology.- 2007.- Vol.9 (S. 4).- С.63-70.
6. Macrophages induce the adhesion phenotype in normal peritoneal fibroblasts / J.C. White., Z.L. Jiang, M.P. Diamond, G.M. Saed // Fertil. Steril. – 2011, Sep. – Vol.96(3). – P.758-763.
7. Postoperative adhesion development following cesarean and open intra-abdominal gynecological operations: a review / A.O. Awonuga, N.M. Fletcher, G.M. Saed, M.P. Diamond // Reprod. Sci. – 2011, Dec. – Vol. 18(12). – P.1166-1185.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ АСПИРИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ АСТМЫ

Суздальцева Т.В., Суздальцева Н.А.

«АДЦ Иммунологии и Аллергологии», г. Самара

PATHOGENIC VARIANTS OF ASPIRIN-EXACERBATED ASTHMA

Suzdaltseva T.V., Suzdaltseva N.A.

Center of Immunology and Allergology, Samara

На сегодняшний день не вызывает сомнения правомочность выделения особого неаллергического варианта бронхиальной астмы – «аспирин-индуцированной астмы» (АИА), имеющего характерную клиническую картину [1]. Долгое время оставался непонятным факт значительного повышения уровня IgE без признаков сенсибилизации к аллергенам у части больных с АИА.

Цель работы. Установить характерные особенности состояния иммунной системы больных АИА в зависимости от ведущего патогенетического механизма развития заболевания.

Материал и методы исследования. Обследование 100 больных с АИА проводилось на базе «Центра аспирина-индуцированной патологии» (Самара, Россия). Среди обследованных было 83% лиц в возрасте от 35 до 50 лет, из них 67% – женщины. Пациенты со смешанным вариантом (аспирин-индуцированный и атопический) заболевания в опытную группу не включались. Иммунологическое обследование больных проводилось с помощью метода лазерной проточной непрямой цитофлуориметрии, твердофазного иммуноферментного анализа. Аллергологическое обследование включало, наряду с общепринятыми клиническими методами, тест торможения естественной эмиграции лейкоцитов с лекарственными аллергенами, а также определение аллерген-специфических IgE хемилюминисцентным методом.

Результаты исследования и обсуждение. Уровень IgE был повышен в 40% случаев. Исследуемые были разделены на 2 группы:

- 1 – с повышенным уровнем IgE;
- 2- с нормальным уровнем IgE.

При анализе клинической картины заболевания отмечено, что у больных АИА с высоким уровнем IgE течение БА было более тяжёлым, часто возникала необходимость в назначении кор-

тикостероидов, отмечалась большая частота рецидивирования полипоза носа и полипотомий, чаще обнаруживались другие патологические синдромы (грибковые заболевания, рецидивирующие ОРВИ, хронический тонзиллит, доброкачественные новообразования, хроническая анемия, нарушения жирового обмена). У большинства пациентов с высоким уровнем IgE наблюдались клинические проявления бронхиальной обструкции (приступообразный кашель, приступы удушья) каждую ночь. Выраженность назальных симптомов у этих пациентов была также больше, чем у больных с нормальным уровнем IgE.

По результатам лабораторного обследования больных, у пациентов с высоким уровнем IgE среднее значение показателя более чем в 2,5 раза превышало величину соответствующего нормированного параметра. Ряд изменений в иммунной системе имел сходный характер как в обоих анализируемых вариантах, так и в целом по группе АИА. К этому ряду относились следующие иммунологические сдвиги: повышенное содержание CD4+8+ -клеток, CD56+ -клеток, абсолютного содержания CD 8+ -лимфоцитов, уровня IgM и фибронектина. Вместе с тем, отмечены и своеобразные черты нарушений в иммунной системе при 1 и 2 вариантах АИА. Во-первых, обращал на себя внимание тот факт, что средние значения относительного числа CD4+ -лимфоцитов и CD8+ -лимфоцитов были достоверно ($p < 0,05$) сниженными, а относительного количества В-лимфоцитов, NK -клеток, абсолютного содержания HLA-DR+CD3+ - лимфоцитов и NK- клеток – достоверно ($p < 0,05$) повышенным только при варианте АИА с высоким уровнем IgE. При этом же варианте наблюдалось существенное повышение по сравнению с контрольной группой содержания IFN-gamma (в 2,5 раза), TNF-alpha (в 2,4 раза), IL-6 (в 2,7 раза), ЦИК (в 1,3 раза). При 2 варианте АИА относительное и абсолют-

ное количество NK-клеток и CD3+56+ - лимфоцитов было достоверно ($p < 0,01$) снижено, при этом количество «двойных негативных» Т-лимфоцитов – увеличенным в 1,4 раза (по сравнению с контрольной группой). Проведён анализ взаимосвязи некоторых изучаемых иммунологических показателей у больных АИА. Сходных (по направлению) с контрольной группой корреляций при АИА выявлено 3: между относительным количеством Т-лимфоцитов и CD4+ -клеток ($r = +0,609$, $r = +0,611$, соответственно), содержанием HLA-DR+CD3+ -лимфоцитов и количеством В-лимфоцитов ($r = +0,59$, $r = +0,630$, соответственно), уровнем IgG и IgM ($r = +0,58$, $r = +0,72$, соответственно). Следует отметить, что при АИА относительное количество CD4+8+ -клеток положительно коррелировало с уровнем IgE ($r = -0,81$ и $r = -0,78$, соответственно). У больных с высоким уровнем IgE установлена прямая взаимосвязь между уровнем IgE и относительным числом NK - клеток ($r = +0,76$) и обратная взаимосвязь между уровнем IgE и содержанием мелатонина ($r = -0,75$). Несмотря на то, что полученные нами ранее данные (5) по содержанию IgE в крови у пациентов с АИА, а именно: нормальный средний уровень IgE, не зависимо от степени тяжести заболевания, согласовывались с представлениями о АИА как неаллергическом процессе, было обращено внимание на разнонаправленный характер изменений указанного параметра среди обследованных больных. О высоком уровне IgE при аспирин- индуцированном варианте БА сообщили также Menz G. et.al. в 1998г. [3]. По мнению авторов, повышенный уровень аллерген- неспецифического IgE, а также обнаруженное ими увеличение содержания CD25+ -лимфоцитов и повышенная IL-4 продукция указывают на то, что IgE- механизм вовлечён в патогенез АИА. Принимая во внимание тот факт, что уровень IgE является одним из маркеров пути дифференцировки Th-лимфоцитов, представлялось интересным исследование особенностей функционирования иммунной системы больных АИА с учётом уровня IgE. Результаты проведенного исследования указали на наличие очевидных различий в состоянии иммунной системы больных с высоким и нормальным уровнем IgE, что дало основание для выделения двух патогенетических вариантов АИА. Для варианта с нормальным уровнем IgE было характерно снижение содержания NK-клеток и CD3+56+ - лимфоцитов при, в среднем, повышенном количестве CD4-8- - клеток в периферической крови. Повышение уровня IgE у больных АИА сопровождалось особенностями клинической картины заболевания, увеличени-

ем количества NK- клеток и общего числа CD56+ -лимфоцитов, повышением относительного и абсолютного содержания «активных» Т-лимфоцитов, снижением относительного количества CD4+ -клеток и CD8+ -клеток, высоким уровнем ЦИК и цитокинов Th-1 профиля (TNF-alpha, IL-6, INF-gamma), что, в целом, свидетельствовало о большей выраженности и ином характере иммунопатологического процесса. Следует обратить внимание на тот факт, что у обследованных нами ранее пациентов с рецидивирующей герпетической инфекцией, имеющих высокий уровень IgE, было также значительно увеличено содержание NK- клеток, CD56+ -клеток, CD4-8- -лимфоцитов и уровень TNF-alpha, что свидетельствует об иммунопатогенетической общности АИА и персистирующей герпетической инфекции. В ряде научных исследований также показано увеличение содержания провоспалительных цитокинов у больных с неаллергической БА [3,4]. Причём, уровень их не коррелировал с выраженностью эозинофилии, в отличие от атопической БА, при которой уровень TNF-alpha был сильно взаимосвязан с количеством эозинофилов в крови и мокроте. Примечательно, что как при аллергическом, так и при аспирин- индуцированном вариантах БА наблюдалось существенное увеличение содержания CD4-8- -клеток, CD4+8+ -клеток и CD3-19- -лимфоцитов, что, по-видимому, связано с особой ролью этих клеток к патогенезу эозинофильного воспаления. В ряде работ приведены сходные с нашими факты, свидетельствующие о повышении содержания NK- клеток и CD8+ -лимфоцитов [4] при АИА. В то же время, другие исследователи указывают либо на отсутствие достоверных изменений перечисленных выше параметров, либо – на наличие других дефектов в иммунной системе у пациентов с АИА, в том числе: повышенное содержание в крови CD45+ -клеток, Т-лимфоцитов, CD4+ - клеток, CD25+ -лимфоцитов, снижение количества T-gamma-delta- клеток [2]. Существенные расхождения имеются также и по результатам исследования продукции цитокинов. В отдельных работах приведены данные о повышенной продукции IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, TNF-alpha, INF-gamma, CSF-GM, как при аспирин-индуцированном, так и при атопическом вариантах БА. Другие авторы [3] указывали на наличие диссоциации в синтезе цитокинов при АИА, а именно: повышенную продукцию IL-5 и INF-gamma при нормальном уровне IL-4. Таким образом, разнонаправленный характер изменения уровня IgE и наличие соответствующих клинических особенностей течения АИА легли в основу создания нового методологического под-

хода к анализу результатов исследования и выделения 2 патогенетических вариантов АИА:

- 1 вариант – с повышенным уровнем IgE;
- 2 вариант – с нормальным уровнем IgE.

Полученные результаты позволяют высказать предположение о различном патогенезе иммунологических расстройств при выделяемых вариантах АИА.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Isola S., Gangemi S., Forestieri A. Acetylsalicylic acid (ASA) triad // Aspirin Intolerance and Related Syndromes: a Multidisciplinary Approach: International Symposium. – Rome, 1999. – p.43
2. Krejsek J., Král B., Vokurková D., Derner V.,

Tousková M., Paráková Z., Kopecký O. Decreased peripheral blood gamma delta T cells in patients with bronchial asthma // Allergy. – 1998 – Vol. 53, №2. – p. 73-77.

3. Menz G., Ying S., Durham S.R., Corrigan C.J., Robinson D.S., Hamid Q., Pfister R., Humbert M., Kay A.B. Molecular concepts of IgE-initiated inflammation in atopic and nonatopic asthma // Allergy. – 1998 – Vol. 53, №1. – p. 15-21

4. Nasser S.M., Pfister R., Christie P.E., Sousa A.R., Barker J., Schmitz-Schumann M., Lee T.H. Inflammatory cell populations in bronchial biopsies from aspirin-sensitive asthmatic subjects // Am J Respir Crit Care Med. – 1996 – Vol. 153, № 1. – p. 90-96

5. Souzdtseva T., Makarova T., Migacheva N., Kuznetsov S. Aspirin-induced asthma from the point of clinical immunology // The Immunologist 1997.-Vol.1- P. 21.

Влияние некоторых антагонистов лейкотриеновых рецепторов на процессы воспаления и ремоделирования в лёгких, введённых методом «СУХОЙ» ИНСУФЛЯЦИИ НА МОДЕЛИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Сырцова М.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФА Минздрава России), г. Санкт-Петербург.

EFFECT OF CERTAIN LEUKOTRIENE RECEPTOR ANTAGONISTS ON THE PROCESSES OF INFLAMMATION AND REMODELING IN THE LUNG INTRODUCED BY THE «DRY» INSUFFLATION OF THE MODIFIED ON A MODEL OF ASTHMA

Syrzova M.A.,

FSEI «Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy».

Фундаментальные исследования, проводимые в области иммуноопосредованных заболеваний, таких как бронхиальная астма, являются приоритетными и перспективными на сегодняшний момент. Бронхиальная астма (БА) является хроническим воспалительным заболеванием дыхательных путей, характеризующееся гиперреактивностью бронхов, частично или полностью обратимой обструкцией, гиперсекрецией и отёком слизистой оболочки бронхов, где триггерами выступают множественные факторы, часто сочетающиеся друг с другом, что обуславливает

трудности подбора лечения для каждого отдельного клинического случая [7]. Ведущим иммунологическим механизмом атопической БА является IgE-опосредованная аллергическая реакция немедленного типа, а воспаление дыхательных путей носит аллергический характер [5,7]. Доклинические исследования, проводимые на лабораторных животных, у которых моделируется аллерген-специфическая бронхиальная астма, где триггером выступают вещества различной природы, открывают возможности для применения новых способов терапии и уже известных лекар-

ственных препаратов. Антогонисты лейкотриеновых рецепторов, в основном, применяют в случае интермиттирующий или легкой степени персистирующей бронхиальной астмы, как средства для лучшего контроля над БА и уменьшения кратности приёма и дозы препаратов базисной терапии [1,2,4]. Данных о пользе применения антилейкотриеновых препаратов при обострении БА крайне мало.

Цель нашего исследования состояла в изучении влияния различных антогонистов лейкотриеновых рецепторов (монтелукаста и zileutona) на гиперреактивность бронхов, воспаление и ремоделирования дыхательных путей. Для исследования были выбраны монтелукаст и zileuton, которые в настоящий момент применяются в качестве альтернативной терапии для лечения астмы у разных возрастных групп ввиду их бронхопротективного, противовоспалительного и противоаллергического эффектов. Специфически ингибируя CysLT₁-рецепторы (ЛТС₄, ЛТД₄ и ЛТЕ₄) они подавляют мощный медиаторный каскад хронического персистирующего воспаления, поддерживающего гиперреактивность бронхов при бронхиальной астме [6,8]. Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены комитетом по этике ФГБНУ «ИЭМ». Исследование выполнено на беспородных крысах-самцах массой от 210 до 230 гр. (n=30). Для оптимизации введения аллергена при моделировании воспалительного процесса нами предлагается использовать метод «сухой» инсуффляции на основе модифицированной модели бронхиальной астмы с заменой адьюванта. Для этого первые 30 дней у аутбредных крыс моделировали бронхиальную астму с помощью подкожных инъекций овалбумина (Grade V, Sigma, США) в дозе 1 мг/кг, который предварительно адсорбировали на геле алюминия гидроксида (Sigma, США) 1:100, и внутрибрюшинных инъекций препарата «Бронхо-Мунал» (БМ) в дозе 2,5 мг/кг на 1-й и 7-й дни. С 14-го дня, в последующие 45 дней каждые 2 дня проводили «сухую» инсуффляцию при помощи инсуффлятора Dry Powder Insufflator™ – Model DP-4 (Penn-Century, США) овалбумином (4 мг/кг). Для проведения инсуффляции животные наркотизировались с помощью комбинации тилетамина гидрохлорида/золазепам гидрохлорида (Золетил-100, Virbac, Франция) в дозе 4 мг/кг и ксилазина гидрохлорида (Ксила 2%, Interchemie, Нидерланды) в дозе 10 мг/кг. После этого крыс фиксировали на специальной платформе, проводили интубацию трахеи с помощью ларингоскопа Small Animal Laryngoscope for Rat (Model LS-2-R, Penn-Century, США) и проводили инсуффляцию «сухим» инсуффлятором Dry Powder Insufflator DP-4 (Penn-Century, США).

Животных разделили на 6 групп:

- 1-я группа включала в себя контрольных животных;
- 2-я группа – интактных животных (с инсуффляционным введением лактозы);
- 3-я группа – инсуффляция субстанцией монтелукаста (10 мг/кг);
- 4-я группа – инсуффляция субстанцией zileutona (10 мг/кг);
- 5-я группа – стандартная терапия сальматерол + флутиказон (10мг/кг);
- 6-я группа – моделирование бронхиальной астмы.

На 46-й день производили вывод животных из эксперимента и осуществляли взятие материала (кровь, ткань легких) с его последующей фиксацией, согласно методическим рекомендациям [3]. Исследование периферической крови проводили с помощью прибора Abacus (Diatron, Австрия). Морфологическому исследованию во всех случаях подвергали левое лёгкое. Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде, обезжизняли и заливали в парафин, согласно общепринятой методике, с использованием автоматической системы карусельного типа для гистологической проводки ткани, модель STP 120 (Thermo Scientific, Германия). Для одновременного выявления тучных клеток, эозинофильных гранулоцитов и муцина использовали оригинальную методику [3]. Полученные после окрашивания срезы изучали с помощью микроскопа Leica DM750 (Leica, Германия) с камерой, увеличение x400, x1000. Подсчёт клеток вели с помощью программ ImageJ 1.410 (WRNIH, США) и LAS EZ (Leica, Германия) в 10-ти полях зрения.

Оценивали следующие параметры:

- эозинофильную инфильтрацию тканей;
- гиперплазию тучных клеток;

- объём бокаловидных клеток и гиперсекрецию слизи;
- изменения в картине крови.

Результаты. Исследование периферической крови у животных показало, что при моделировании БА (группа 6) наблюдается повышение количества лейкоцитов (в 2,3 раза) с увеличением числа эозинофильных (в 6,7 раз) и нейтрофильных (в 1,5 раза) гранулоцитов и лимфоцитов (в 2,3 раза) по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$). Гистологический анализ тканей лёгкого показал достоверное возрастание популяции эозинофильных гранулоцитов в перибронхиальном пространстве в 1,6 раза, в бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани (БАЛТ) в 1,8 раза и в периваскулярном пространстве в 2,5 раза по сравнению с группой 1 и 2. Количество тучных клеток (ТК) снижалось в крупных бронхах (в 4,2 раза), в мелких бронхах (в 1,5 раза), в бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани (в 2,5 раза) и в периваскулярном пространстве (в 2 раза) по сравнению с группой 1 и 2 ($p < 0,01$). Подсчёт числа эозинофилов в лёгких, показало достоверное возрастание количества клеток в ПВ в 16,4 раза, в БАЛТ – в 56 раз, в ПВ – в 63,5 раза. Одновременно возрастала площадь, занимаемая слизью в просвете бронхов, в среднем, в 79 раз по сравнению с группой контроля ($p < 0,01$). У животных в группах 3 и 4 наблюдали в тканях лёгкого снижение популяции ТК в крупных (в 6,1 раз) и мелких бронхах (в 2 раза), в БАЛТ (в 3,9 раз), в ПВ в 4 раза ($p < 0,05$). Число эозинофильных гранулоцитов снижалось в ПВ в 3,4 раза, в БАЛТ в 3,7 раза и в ПВ в 7,8 раз по сравнению с группой без терапии ($p < 0,01$). Объём слизи в просвете бронхов также уменьшался в 4 раза по сравнению с группой 6 ($p < 0,01$). В группе 5 (стандартная терапия) в крупных бронхах количество ТК снижалось в 4,2 раза, в мелких бронхах в 1,5 раза, в бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани в 2,5 раза, в периваскулярном пространстве в 2 раза по сравнению с контролем. Число эозинофилов в исследуемых областях также уменьшалось. В ПВ их количество снижалось в 3,5 раза, в БАЛТ в 4,8 раза, в ПВ в 6,6 раза по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,01$). Объём слизи в просвете бронхов достоверно уменьшался в 3,2 раза по сравнению с группой 6. Под действием базисной

противовоспалительной терапии (группа 5), происходило повышение количества лимфоцитов в 1,2 раза, содержание лейкоцитов возрастало в 1,1 раза. Нейтрофильные гранулоциты повышались в 1,5 раз, а эозинофильные гранулоциты падали в 1,4 раза по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$).

Заключение. Таким образом, как и монтелукаст так и zileuton имели благотворное влияние на функцию лёгких, значительно уменьшали воспаление дыхательных путей и ремоделирование гладких мышц по сравнению с группой БА и не уступали в данных показателях группе со стандартной терапией. Введенные непосредственно в лёгкие антагонисты лейкотриеновых рецепторов в низких дозировках оказали фармакологический эффект сравнимый со стандартной терапией, что делает эту группу многообещающим лекарственным средством для лечения больных с хронической бронхиальной астмой.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Балабокин И.И. Современные подходы к терапии бронхиальной астмы у детей// Журнал Им. Г.Н. Сперанского.- 2016. Т. 95. № 4. – С. 131-135.
2. Волкова Н.А., Бельтюков Е.К. Эффективность монтелукаста в достижении контроля над атопическими заболеваниями у детей дошкольного возраста// Российский аллергологический журнал.- 2015. -№1. С.49-52.
3. Коржевский Д.Э., Гилерович Е.Г., Кирик О.В., Сухорукова Е.Г., Григорьев И.П. Морфологическая диагностика. - СПб.: СпецЛит, 2013. – С. 127.
4. Ненашева Н.М. Целевая терапия бронхиальной астмы с помощью антагонистов лейкотриеновых рецепторов// Российский аллергологический журнал.-2013. -№5.-С. 46-54.
5. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы, 2016.
6. Barbosa J.S., Almeida Paz F.A., Braga S.S. Montelukast medicines of today and tomorrow: from molecular pharmaceuticals to technological formulations// Drug Delivery.-2016. – Vol. 23, №9.-P.3257-3265.
7. Global strategy for asthma management and prevention. Asthma 2016
8. Vargaftig B.B., Singer M. Leukotrienes mediate part of Ova-induced lung effects in mice via EGFR// American Physiological Society.-2003.- Vol. 285, № 4. – P.808-818.

СОДЕРЖАНИЕ В МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ И ФОСФОРИЛИРОВАННЫХ ФОРМ ТЕРМИНАЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ MAPK/SAPK-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ

Терехов И.В.

Тульский государственный университет, г.Тула

THE CONTENT IN MONONUCLEAR LEUKOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD OF TRANSCRIPTION FACTORS AND THE LEVEL OF PHOSPHORYLATION OF THE TERMINAL COMPONENTS OF THE MAPK/SAPK-SIGNALING PATHWAY AT THE CONVALESCENT COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

Terekhov I. V.

Tula state University, Tula

Эффективность восстановления организма после перенесённых инфекционных заболеваний в значительной степени определяется завершённостью их постклинических стадий и восстановлением нормальных межклеточных взаимодействий, а так же молекулярных процессов в иммунокомпетентных клетках, включая процессы транскрипции генов провоспалительных цитокинов, молекул межклеточных взаимодействий, белков ответа острой фазы и т.п. [1]. Из числа факторов, контролирующих процессы, лежащие в основе саногенеза, важную роль играют транскрипционные факторы AP-1, NF-AT, T-box, FOXP3, NF-κB и др. [2]. В регуляции ответа острой фазы, а также пролиферации и дифференцировки клеток важную роль играет также митоген-стимулируемый и стресс-активируемый (MAPK/SAPK) сигнальный путь [3,4]. Показано, в постклиническом периоде внебольничной пневмонии имеет место дизрегуляция продукции про- и противовоспалительных цитокинов, депрессия фагоцитарной активности мононуклеарных клеток цельной крови, повышение активности внутриклеточных сигнальных путей, способствующих затяжному течению заболева-

ния и снижению резистентности организма [5,6]. Указанные изменения, очевидно, определяются дисбалансом активности транскрипционных факторов и дизрегуляции сигнальных путей в ответствующих клетках.

Учитывая недостаточно полное исследование вопроса о содержании в иммунокомпетентных клетках реконвалесцентов внебольничной пневмонии, целью настоящего исследования являлось изучение уровня факторов транскрипции NF-AT, AP-1, T-box, FOXP3, NF-IL6, YB1, E2F4, GATA3, протеинкиназ ERK и p38 в мононуклеарных лейкоцитах периферической крови (МНК).

Материалом исследования служила венозная кровь практически здоровых лиц (n=30), составивших группу контроля, и лиц с внебольничной бактериальной пневмонией (ВП) нетяжёлого течения (n=30) в возрасте 20-35 лет (средний возраст 22,5±2,5 года) на 17-21 сутки заболевания (перед выпиской из стационара). Выделение МНК и подготовка ядерно-цитоплазматических лизатов осуществлялись в соответствии с рекомендациями производителя наборов реагентов для проведения иммуноферментного анализа (ИФА), для чего использовали 1 мл клеточной су-

спензии содержащей 5×10^6 клеток. Подсчёт клеток и анализ их жизнеспособности осуществляли с помощью счётчика TC20 (Bio-Rad, США). Жизнеспособность клеток составляла более 90%.

В соответствии с поставленной целью, в лизате МНК, методом ИФА определяли содержание (концентрацию – нг/мл) факторов транскрипции NF-AT, AP-1, T-box, FOXP3, NF-IL6, YB1, E2F4, GATA3, а также уровень фосфорилирования (в условных единицах на нг белка – ед/нг) терминальных протеинкиназ MAPK/SAPK-сигнального пути – p38, ERK (1 и 2 изоформ).

При проведении исследования использовали наборы реактивов производства CUSABIO BIOTECH (Китай). Анализ проводили на анализаторе Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия).

Статистическую обработку проводили в программе STATISTICA 7,0. В процессе исследования рассчитывалось среднее значение, медиана (Me) исследуемого показателя, а также 25 и 75 проценты выборки (25%; 75%). Статистическую значимость (p) межгрупповых различий оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Результаты исследования представлены в следующем виде: среднее значение (25%; Me; 75%).

Результаты исследования и их обсуждение. Проведенный анализ показал, что содержание в МНК фактора транскрипции FOXP3 в группе контроля составило 10,1 (9,74; 10,2; 10,5) нг/мл, в основной группе – 11,0 (10,4; 10,9; 11,5) нг/мл. Содержание GATA3 у практически здоровых лиц составило 0,15 (0,08; 0,1; 0,23) нг/мл, у реконвалесцентов ВП – 0,36 (0,14; 0,2; 0,48) нг/мл. Уровень T-box в группе контроля составил 1,28 (1,2; 1,31; 1,37) нг/мл, в основной группе – 1,24 (1,16; 1,33; 1,37) нг/мл. Содержание NF-AT в контрольной группе составило 0,18 (0,16; 0,16; 0,19), в основной – 0,4 (0,18; 0,4; 0,61) нг/мл.

Уровень транскрипционных факторов контролирующей инфекционно-воспалительный ответ, в частности, NF-IL6, в контрольной группе составил 0,47 (0,15; 0,23; 0,79) нг/мл, в основной – 0,39 (0,21; 0,26; 0,38) нг/мл. При этом содержание AP-1 в контрольной группе составило 0,16 (0,14; 0,17; 0,17) нг/мл, в основной – 0,28 (0,19; 0,23; 0,36) нг/мл. Также установлено, что уровень транскрипционного фактора E2F4 в группе контроля составил 0,71 (0,65; 0,67; 0,77) нг/мл, тогда как в основной группе – 0,46 (0,35; 0,45; 0,58) нг/мл. При этом концентрация фактора YB1 в группе контроля

составила 0,39 (0,35; 0,39; 0,42) нг/мл, в основной группе – 0,48 (0,41; 0,44; 0,51) нг/мл.

На этом фоне уровень фосфорилирования протеинкиназы p38 в группе контроля составил 0,43 (0,31; 0,44; 0,57) ед/нг, а в основной группе – 0,66 (0,29; 0,36; 0,86) ед/нг, при содержании в МНК протеинкиназы ERK – 2,38 (1,98; 2,14; 2,82) и 2,17 (1,63; 2,11; 2,8) ед/нг соответственно.

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что реконвалесценция ВП протекает на фоне повышенного на 136,6% ($p = 0,0005$) содержания в МНК фактора транскрипции GATA3, на 128,6% – NF-AT ($p < 0,0001$), на 77,4% – AP-1 ($p < 0,0001$), на 23,4% – YB1 ($p = 0,0002$), на 9,0% – FOXP3 ($p < 0,0001$). Также у реконвалесцентов ВП имело место снижение содержания в МНК ядерного фактора транскрипции E2F4 на 20,7% ($p < 0,0001$), NF-IL6 на 16,0% ($p = 0,33$), T-box на 3,3% ($p = 0,46$) от соответствующего уровня практически здоровых лиц.

На этом фоне уровень фосфорилированной формы протеинкиназы p38 у реконвалесцентов ВП, в сравнении с практически здоровыми лицами, был повышен на 51,8% ($p = 0,02$), при сниженном на 8,7% ($p = 0,19$) уровне ERK.

Полученные результаты позволяют говорить о том, что постклиническая фаза инфекционно-воспалительного процесса у пациентов с ВП отличается сохранением активационных стимулов, способствующих поддержанию активности иммунокомпетентных клеток, в частности, T-регуляторных клеток и T-хелперов 2-го типа. Кроме того, повышенный уровень фосфорилированной формы протеинкиназы p38, в сочетании с повышенным уровнем фактора транскрипции AP-1, позволяет говорить о незавершённом воспалительном ответе иммунокомпетентных клеток миелоидного ряда, в частности, моноцитов и макрофагов.

Сниженный уровень фактора транскрипции E2F4, терминальной протеинкиназы ERK, наряду с повышенным уровнем фактора YB1 позволяет говорить о дизрегуляции клеточной пролиферации и дифференцировки в данную фазу патологического процесса. Указанное обстоятельство требует более тщательной клинической оценки состояния реконвалесцентов ВП и акцента при осуществлении реабилитационных мероприятий на иммунореабилитации с применением немедикаментозных методов лечения [7,8].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Хадарцев А.А., Морозов В.Н., Хрупачев А.Г. Депрессия антистрессовых механизмов как основа развития патологического процесса // Фундаментальные исследования. 2012; 4-2: 371 – 375.
2. Quinton L.J., Jones M.R., Simms B.T. Functions and regulation of nf-kappaB relA during pneumococcal pneumonia. J. Immunol. 2007; 178 (3): 1896–1903.
3. Pearson G., Robinson F., Beers Gibson T., Xu B.E., Karandikar M., Berman K., Cobb M.H. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. Endocrine Reviews. 2001; 22 (2): 153–183. doi:10.1210/er.22.2.153.
4. Wuyts W.A., Vanaudenaerde B.M., Dupont L.J. et al. Involvement of p38 MAPK, JNK, p42/p44 ERK and NF-kappaB in IL-1beta-induced chemokine release in human airway smooth muscle cells. Respir. Med. 2003; 97(7):811-817.
5. Терехов И.В., Громов М.С. Характеристика системного воспалительного ответа у больных вне-

больничной пневмонией в динамике при помощи активной СВЧ-радиометрии // Казанский медицинский журнал. 2010; 91(5): 611-614.

6. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Бондарь С.С. Состояние рецепторзависимых сигнальных путей в агранулоцитах периферической крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием микроволнового излучения // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2016; 93(3): 23-28. doi. 10.17116/kurort2016323-28.

7. Солодухин К.А., Никифоров В.С., Ицкович В.О. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии // Медицинская иммунология. 2012; 14(6): 541-544.

8. Терехов И.В., Солодухин К.А., Ицкович В.О. Особенности биологического действия низкоинтенсивного СВЧ-излучения на продукцию цитокинов клетками цельной крови при внебольничной пневмонии // Цитокины и воспаление. 2012; 11 (4): 67-72.

ПОЛИМОРФИЗМ TOLL-ПОДОБНЫХ КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ TLR₂ И TLR₄ И УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Фассахов Р.С.¹, Тюрин Ю. А.², Решетникова И.Д.^{1,2}, Агафонова Е. В.², Ризванов А.А.¹, Шарифуллина А.А.²

¹ Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань

² Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Казань

POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE CELL RECEPTORS (TLR2, TLR4) AND CYTOKINE LEVELS IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

Fassahov R.S.¹, Tyurin Yu. A.², Reshetnikova I. D.^{1,2}, Agafonova E. V.², Rizvanov A. A.¹, Sharifullina A. A.²

¹ Kazan (Volga) Federal University, Kazan, Russia

² Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia

Молекулярно-генетические исследования, проведённые за последние два десятилетия, показали, что в основе формирования атопического фенотипа участвуют несколько сотен генных мутаций [1, 2]. При атопическом дерматите (АтД) выявлены существенные ассоциации с полиморфизмом генов, участвующих в формировании эпидермального барьера, иммунных реакций и их регуляции [2]. Не меньшую актуальность представляют исследования, касающиеся изучения связи различных полиморфных ва-

риантов генов, контролирующих врождённые и адаптивные иммунные реакции в патогенезе аллергических заболеваний. Нарушение барьерной функции кожи – один из значимых факторов в патогенезе атопического дерматита, что признаётся большинством исследователей.

Толл-подобные рецепторы (TLR) являются одной из групп рецепторов в системе иммунного ответа, которые участвуют в воспалительных реакциях различных типов клеток на микробные антигены [3]. Установлено, что клеточные рецеп-

торы TLR2 и TLR4 участвуют в формировании реакций врождённого и адаптивного иммунитета к липотейховым кислотам клеточной стенки грамположительных бактерий, вирусным белкам, ЛПС грамотрицательных бактерий [4].

Показана клиническая значимость мутаций rs5743708 (с.2258 G>A) толл-подобного рецептора 2 типа, характеризующаяся заменой в гене *tlr2* в 2258 нуклеотиде от стартового кодона азотистого онования гуанина на аденин (миссенс мутация), что приводит к изменению первичной аминокислотной последовательности в 753 позиции с заменой аргинина Arg на глутамин Gln.

Исследования участия различных полиморфных вариантов генов, контролирующих врождённые и адаптивные иммунные реакции, в патогенезе atopического дерматита (АтД) представляются актуальными. Полиморфизм rs5743708 гена TLR2, характеризующийся заменой кодона гуанина (G) на аденин (A), и приводящий к замене Arg на Gln в 753 положении, приводит к нарушению активации клеток через TLR2-сигнальный путь. В связи с этим нам представилось интересным изучить связь полиморфизма генов *tlr2* и *tlr4*, кодирующих рецепторы TLR2 и TLR4, с уровнем цитокинов у больных АД.

Материалы и методы. В исследование были включены биологические образцы, полученные от 50 человек с АД (5-35 лет). Контроль - 100 человек, не страдающих аллергического заболевания.

Полиморфизм генов TLR2 (p.Arg753Gln) и TLR4 (Asp299Gly) рецепторов определяли методом ПЦР с электрофоретической детекцией («Литех», Россия). Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов цельной крови и из клеток щечного эпителия («ДНК-экспресс» НПО «Литех», Россия).

Уровень IL-1, IL2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN γ определяли в ИФА - («Вектор-Бест», Россия).

Статистическая обработка: распределение генотипов по критерию χ^2 , значимости различий количественных признаков оценивали с помощью *t* –теста для неравных дисперсий.

Результаты. Генотипы в общей выборке по изученным полиморфизмам генов TLR2 TLR4 рецепторов распределились следующим образом: гомозиготы - 91,63%, гетерозиготы 8,37%, гомозиготы по мутантному аллелю 0%. Распределение частот аллелей и генотипов в исследованных

группах соответствовало закону Харди-Вайнберга-Кастла, и было равновесным.

Распределение частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs5743708 гена TLR2 рецептора.

Среди больных с АД встречаемость гомозиготного генотипа G/G была в 1,17 раза ниже, а гетерозиготного генотипа G/A* - в 3,3 раза выше, по сравнению с группой здоровых лиц. Уровень INF- γ в сыворотке крови у больных АД был в 1,5 раза, а уровень ИЛ-1 и ИЛ-2 - в 2 раза ниже в группе больных с гетерозиготным генотипом, тогда как содержание ИЛ-4, 8,10 напротив было выше в 1,4 и 1,8 раза соответственно.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма rs5743708 гена TLR4 рецептора в исследованных выборках. Полиморфный гомозиготный генотипа G*/G* у больных и в группе контроля не выявлен. Частоты встречаемости аллеля A rs4986790 гена TLR4 у больных составила 92,4%, в контроле - 94,0%, а мутантного аллеля G* у больных - 3,5%, в контроле - 4,5%, что также не выявило достоверных различий (*p*-value $\chi^2 > 0,05$). В сыворотке крови больных АД уровня INF- γ был ниже в 1,6 раза, ИЛ1 и 2 в 1,7 раза в группе гетерозигот, по сравнению с гомозиготами. Уровни ИЛ- 4, 10 и ИЛ- 6, 8 в сыворотке гетерозигот были повышены в 1,3 и 1,6 раза соответственно по сравнению с гомозиготами.

Обсуждение. Таким образом, установлена значимость генетических полиморфизмов (p.Arg753Gln, rs5743708) генов TLR2 и (Asp299Gly, *tlr4*, rs4986790) TLR4 в патогенезе дисрегуляции продукции цитокинов клетками, организма экспрессирующими TLR2 и TLR4, осуществляющие регуляцию баланса TH1/TH2/TH17-субпопуляций лимфоцитов, участвующих в иммунных реакциях при АтД.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гималова Г.Ф., Карунас А.С., Хуснутдинова Э. К. Молекулярно-генетические аспекты atopического дерматита // Медицинская генетика, 2012, №12, С. 18-22.
2. Zang J., Pare P. D., Sandford A.J. Recent advances in asthma genetics //Respire. Res. – 2008.-Vol.9:4.-P.1-8.
3. Medzhitov R. TLR-mediated innate immune recognition. /Semin Immunol. 2007 vol. 19, no. 1, pp. 1-2.
4. Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. // Immunity, 2011, T.27, vol. 34, no.5 pp. 637-650.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ПОВЫШЕННОГО РИСКА ОСТРОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У РАБОТНИКОВ ХИМИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА ПО ДАННЫМ ОДНОКРАТНОГО ИММУНОЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Мартынов А.И., Федоскова Т.Г., Феофанова Т.В., Зеленова З.В.
ФГБУ “ГНЦ Институт иммунологии” ФМБА России, г. Москва.

THE DETERMINATION OF MARKERS OF HIGH RISK OF ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTIONS IN WORKERS IN CHEMICAL PRODUCTION ACCORDING TO A CROSS-SECTIONAL IMMUNOEPIDEMIOLOGICAL STUDY

Martynov A.I., Fedoskova T.G., Feofanova T.V., Zelenova Z.V.
National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow.

В структуре общей заболеваемости населения России болезни органов дыхания традиционно занимают лидирующую позицию – на их долю приходится до 27,8% всей зарегистрированной и 42,7% выявленной впервые в жизни патологии [1]. Частые инфекции респираторного тракта, особенно острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ), являются одним из факторов, который в дальнейшем способствует развитию заболеваний органов дыхания.

Количественной характеристикой процесса распространения ОРВИ является абсолютный риск (AR), или просто риск ежегодного заболевания ОРВИ, который вычисляют как отношение числа лиц, болеющих ОРВИ хотя бы раз в течение года, к общему числу обследованных.

Такой подход даёт одинаковую оценку показателя AR для всех обследованных лиц и не учитывает индивидуальные особенности их здоровья, в частности, состояние их иммунного статуса. В ходе многолетних многочисленных исследований установлено влияние так называемого производственного фактора (ПФ) на иммунную систему человека, приводящего к сдвигам некоторых показателей в сторону их повышенных или пониженных значений [2]. Эта связь подтверждена расчетами рисков формирования групп с повы-

шенными/пониженными значениями показателей иммунного статуса (ПИС) среди работников промышленного производства, работающих в контакте с ПФ [3]. Полагая, что группы лиц с повышенными (пониженными) значениями ПИС могут быть потенциальными группами риска по какому-либо заболеванию, можно ожидать, что риски такого заболевания, рассчитанные для этих групп, будут существенно отличаться от рисков, которые рассчитаны для групп с нормальными значениями этих же показателей.

Цели исследования. Рассчитать риски ежегодного развития ОРВИ у работников химического предприятия с учётом их иммунного статуса и определить маркеры повышенного значения этих рисков.

Материалы. В исследование были включены 55 человек (36 мужчин и 19 женщин, медиана возраста 55 лет, размах: 20 – 75 лет), работавшие в условиях контакта с ПФ. Ежегодное число случаев ОРВИ определяли со слов обследуемых работников как среднее число случаев ОРВИ в год за 5 последних лет. Обследование проводилось в рамках планового профосмотра. Все обследованные на момент осмотра были практически здоровы. Таким образом, в группу ежегодно болеющих ОРВИ вошли лица, которые за последние 5 лет

каждый год болели хотя бы один раз. В течение года ОРВИ болел 31 человек, не болели – 24.

Состояние иммунного статуса оценивали по содержанию иммунокомпетентных клеток и иммуноглобулинов в сыворотке крови (leuk, lymph, CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 (в абсолютных количествах и в %), FAGn, FAGm, IgE, IgG, IgA, IgM, IRI) и слюне (IgG-sal, IgA-sal, s-IgA-sal).

Методы. Для анализа данных использовали таблицы сопряженности 2x2, которые предназначены для проверки гипотезы о независимости двух факторов (признаков), каждый из которых принимает два значения [4]. В нашей задаче первый фактор – «значение ПИС», второй фактор – «ежегодное заболевание ОРВИ». Первый фактор принимал два значения: «повышенное значение ПИС (ПИС↑)» и «значение ПИС в норме (ПИС_N)». Второй фактор принимал два значения: «есть ежегодное заболевание ОРВИ (ОРВИ>0)», «нет ежегодного заболевания ОРВИ (ОРВИ=0)». Всех обследованных подразделяли на четыре группы в зависимости от того, какие значения принимали выбранные факторы: группа 1 (ПИС↑, ОРВИ>0, а объектов), группа 2 (ПИС↑, ОРВИ=0, b объектов), группа 3 (ПИС_N, ОРВИ>0, c объектов), группа 4 (ПИС_N, ОРВИ=0, d объектов). Для количественной оценки связи ПИС↑ и ОРВИ>0 рассчитывали показатели AR в группах с ПИС↑ ($a/(a+b)$) и в группах с ПИС_N ($c/(c+d)$). Наличие статистически значимой связи ПИС↑ и ОРВИ>0 оценивали с помощью точного критерия Фишера (ТКФ, pF). Риск AR(ПИС↑, ОРВИ>0) считали повышенным при выполнении следующих неравенств:

$$a/(a+b) > c/(c+d) \text{ и } pF < 0,20 (1).$$

Результаты и обсуждение. При анализе данных с помощью таблиц сопряженности 2x2 были определены пять ПИС, для которых частоты таблиц (a, b, c, d) и значение pF удовлетворяли условию (1).

Так, для показателя CD16% $a=13$, $b=5$, $c=18$, $d=19$, значение $AR(CD16\%↑, ОРВИ>0) = 0,722$, значение $AR(CD16\%N, ОРВИ>0) = 0,486$, их отношение – 1,49. Риски различались по критерию ТКФ с уровнем значимости $pF=0,149$ (или с достоверностью $\approx$ в 85%).

Для показателя CD16abs $a=20$, $b=11$, $c=11$, $d=13$, значение $AR(CD16abs↑, ОРВИ>0) = 0,645$, значение $AR(CD16absN, ОРВИ>0) = 0,458$, их от-

ношение – 1,41. Риски различались по критерию ТКФ с уровнем значимости $pF=0,184$ (или с достоверностью $\approx$ в 82%).

Для показателя IgE $a=16$, $b=7$, $c=15$, $d=17$, значение $AR(IgE↑, ОРВИ>0) = 0,696$, значение $AR(IgEN, ОРВИ>0) = 0,469$, их отношение – 1,48. Риски различались по критерию ТКФ с уровнем значимости $pF=0,108$ (или с достоверностью $\approx$ в 89%).

Для показателя IgA-sal $a=8$, $b=2$, $c=23$, $d=22$, значение $AR(IgA-sal↑, ОРВИ>0) = 0,800$, значение $AR(IgA-salN, ОРВИ>0) = 0,511$, их отношение – 1,57. Риски различались по критерию ТКФ с уровнем значимости $pF=0,159$ (или с достоверностью $\approx$ в 84%).

Для показателя s-IgA-sal $a=14$, $b=6$, $c=15$, $d=18$, значение $AR(s-IgA-sal↑, ОРВИ>0) = 0,700$, значение $AR(s-IgA-salN, ОРВИ>0) = 0,455$, их отношение – 1,54. Риски различались по критерию ТКФ с уровнем значимости $pF=0,097$ (или с достоверностью $\approx$ в 90%).

Таким образом, гипотеза о том, что в условиях действия производственного фактора группа лиц с повышенным значением показателя иммунитета может быть группой повышенного риска по определенному заболеванию, получила подтверждение. В исследовании, проведенном нами, среди работников химического производства, работавших в условиях контакта с производственным фактором, выявлены пять групп лиц с повышенным риском ежегодного заболевания ОРВИ. Маркерами этих групп были повышенные значения показателей иммунитета CD16%, CD16abs, IgE, IgA-sal, s-IgA-sal, т.е. повышенным значениям этих показателей соответствовали повышенные значения риска ежегодного развития ОРВИ. Окончательное число маркеров было уточнено с учётом того, что один обследованный мог попадать одновременно в несколько этих групп. Была изучена связь между числом использованных маркеров и процентом выявленных лиц, ежегодно болевших ОРВИ. Показано, что максимальное число лиц с ежегодными случаями ОРВИ – 28 человек из 31 (90,3%) – было обнаружено уже при использовании четырёх показателей из пяти – CD16%↑, CD16abs↑, IgE↑, s-IgA-sal↑. По этой причине показатель IgA-sal↑ из числа маркеров был исключен. Оставшиеся три человека (9,7%) не были выявлены этим способом, потому что значения указанных показателей у них не были по-

вышены.

Заключение. Для работников данного химического предприятия, имеющих контакты с производственным фактором, с достоверностью 82-90% можно утверждать, что повышенные значения показателей CD16%, CD16abs, IgE, s-IgA-sal являются маркерами повышенного риска ежегодного заболевания ОРВИ. С помощью этих маркеров на данном предприятии было выявлено 90,3% всех ежегодно болеющих ОРВИ лиц. Рассмотренный подход может быть рекомендован для дополнительного анализа результатов иммуноэпидемиологического скрининга работников промышленного объекта.

ЛИТЕРАТУРА:

1. А.Г. Чучалин. Пульмонология: национальное руководство / Под. ред. А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009, 960 с.
2. Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, Х.И. Истамов. Экологическая иммунология. М.: Изд-во ВНИРО, 1995, 219 с.
3. Т.В. Феофанова, А.И. Мартынов, Т.Г. Федоскова. Использование таблиц сопряженности 2x2 для анализа количественных данных иммуноэкологического исследования. Труды XII Всероссийского совещания по проблемам управления. ВСПУ-2014. Москва, 16-19 июня 2014 г. М.: Изд-во Институт проблем управления им. В.А. Трапезникова РАН, 2014, с.6538-6545.
4. М. Кендалл, А. Стьюарт. Статистические выводы и связи: / Под ред. А.Н. Колмогорова. Пер. с англ. Л.И. Гальчука и А.Т.Терехина. М.: Издательство «Наука», главная редакция физико-математической литературы, 1973, 899 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АЛЛЕРГЕНА ИЗ ЯДА ПЧЕЛЫ МЕДОНОСНОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛГОРИТМА ПОШАГОВОЙ ОЦЕНКИ

Федоскова Т.Г., Федосеева В.Н., Мартынов А.И., Шабанов Д.В., Миславский О.В., Маковецкая А.К.

ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

THE RESEARCH OF SPECIFIC ACTIVITY OF ALLERGEN FROM HONEY BEE VENOM WITH USE OF ALGORITHM OF A STEP-BY-STEP ESTIMATION

Fedoskova T.G., Fedoseeva V.N., Martynov A.I., Shabanov D.V., Mislavsky O.V., Makovetskaya A.K.

NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow

Во врачебной практике чаще встречаются аллергические реакции на ужаление пчелой, осой, шершнем – насекомыми, относящимися к отряду перепончатокрылых (Hymenoptera). Аллергические реакции на ужаление характеризуются тяжестью симптомов, бурным течением и возможностью летального исхода [1].

Распространённость инсектной аллергии к перепончатокрылым насекомым в России составляет 0,4–8% [2]. Выраженные местные реакции на ужаления перепончатокрылых насекомых встречаются в 2,4–26,4% общей популяции населения. Системные реакции выявлены у 0,5–3,3%

обследованных жителей в США. Среди взрослого населения Европы сенсibilизацию к жалящим насекомым выявляют в 9,2-28,7% случаев, а превалирование системных реакций колеблется от 0,3 до 7,5% [3,4]. В России системные реакции отмечены у 6,4% обследованных пациентов на гиперчувствительность к ужалению перепончатокрылыми насекомыми [5].

Смертность от анафилактических реакций на яд жалящих насекомых составляет 0,03-0,48% случаев на миллион населения ежегодно [6]. К группе риска относятся пчеловоды, так как у 15-43% возникает аллергия к яду пчёл. Атопические

заболевания зарегистрированы у 31-35% больных аллергией к ужалению перепончатокрылым насекомым [1]. Следует обратить внимание, что проведение специфической алергодиагностики у пациентов с аллергией к ужалению перепончатокрылыми насекомыми с использованием метода кожного тестирования, может привести к обострению аллергического заболевания, вплоть до провокации реакций анафилактического типа. Из этого следует необходимость применения лабораторных тестов позволяющих исключить контакт пациента с инсектным аллергеном. Существующая система клиноко-лабораторной диагностики инсектой аллергии (анализ анамнеза болезни, оценка специфических IgE) не охватывает все механизмы реакций гиперчувствительности к жалящим насекомым. В этом случае постановка тестов с использованием клеток-мишеней аллергических реакций позволит выявить наличие сенсибилизации у пациента к конкретному насекомому и обеспечит прогнозирование развития у пациента анафилактического шока. Разработанный в институте иммунологии алгоритм представляет собой последовательность методических исследований для изучения специфической активности инсектных аллергенов в системе «in vitro» на модели клеток-мишеней аллергических реакций.

Алгоритм включает следующие методические исследования:

1) Определение специфических IgE-антител в сыворотках крови пациентов к инсектным аллергенам.

2) Определение уровня выделения гистамина при воздействии инсектными аллергенами на клетки-мишени (базофилы). В работе нами было показано необходимость использования контроля на специфическое IgE связывания с высокоаффинным Fc рецептором базофилов.

3) Клеточный аллерген, стимуляционный тест для количественного определения уровня выделения сульфидолекотриенов из базофилов [7].

4) Базофильный активационный тест для определения процента активированных базофилов на поверхности, которых появляется маркер CD63 [8].

5) Тест «для диагностики in vitro» для обнаружения активированных базофилов. Этот

тест позволяет чётко гейтировать базофилы в образцах цельной крови по фенотипу (CRTH2^{pos}CD203^{cpos}CD3^{neg}) [9].

Использование, указанных в алгоритме методов оценки специфической активности инсектных аллергенов обеспечило проведение исследований в соответствии со спецификой патофизиологических процессов, определяющих алергореактивность суммарной аллергенной фракции (САФ) из яда пчелы медоносной – препарата отечественной разработки [10]. Провели исследование 175 сывороток больных различными атопическими заболеваниями, имеющими в анамнезе гиперчувствительность на укусы пчелами (диагнозы устанавливались на основании данных сбора анамнеза и общепринятых методов алергологического обследования в клинике ГНЦ-Института Иммунологии ФМБА России). При этом было выявлено 26 пациентов с высокими показателями специфических IgE, сыворотки которых составили основной диагностический банк сывороток. Общий IgE в интервале 400-800 МЕ/мл (3-4 класс ИФА). У 14 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (3 класс ИФА) уровень гистаминолиберации составил $38,7\% \pm 4,7$ при постановке теста с аллергеном из яда пчелы (АЯП), в тесте использованием специфического контроля – $45,4\% \pm 5,2$ (антитела против IgE-связывающего FcεR1 рецептора базофилов). При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (4 класс) уровень гистаминолиберации составил $52,6\% \pm 5,4$ при использовании АЯП, при использовании специфического контроля – $58,4\% \pm 4,9$. Отрицательным считали результат, когда уровень гистаминолиберации был менее 10%. Для 14 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (3 класс) уровень сульфидолекотриенов (sLT) в супернатанте лейкоцитарной взвеси составил $539,8 \text{ пг/мл} \pm 24,7$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля – $585,4 \text{ пг/мл} \pm 28,2$. При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на укусы пчелами (4 класс) уровень sLT составил $665,6 \text{ пг/мл} \pm 29,5$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля – $694,8 \text{ пг/мл} \pm 34,7$. У 14 пациентов с гиперчувствитель-

ностью на ужаления пчелами (3 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 63+ составил $42,7\% \pm 5,8$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля – $47,4\% \pm 4,8$. При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на ужаления пчелами (4 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 63+ составил $55,6\% \pm 4,7$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании специфического контроля – $59,4\% \pm 5,1$. Для 14 пациентов с гиперчувствительностью на ужаления пчелами (3 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 203+ составил $53,7\% \pm 6,1$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании положительного контроля – $69,4\% \pm 5,8$. При исследовании проб от 12 пациентов с гиперчувствительностью на ужаления пчелами (4 класс) уровень активации базофилов по маркеру CD 203+ составил $63,7\% \pm 6,5$ при использовании аллергена яда пчелы, при использовании положительного контроля – $75,4\% \pm 5,6$. Показатели активации клеток-мишеней выше $10\% \pm 1,2$ свидетельствовали о позитивном результате при оценке специфической активности САФ полученной из яда пчелы медоносной. За 100% брали общее количество базофилов в пробе (600 клеток) при измерении на проточном цитометре. Разработан алгоритм для пошаговой оценки специфической активности инсектных аллергенов с использованием маркеров активации (CD63, CD203) клеток-мишеней аллергических реакций (базофилов), количественного определения медиаторов аллергических реакций (гистамина, сульфидолекотриенов) и IgE-специфического критерия в системе «in vitro». Использование данного алгоритма в клинической лабораторной диагностики позволит прогнозировать интенсивность формирования аллергических реакций, выявлять состояние «готовности» клеток-мишеней (базофилов) к дегрануляции и медиаторному ответу на специфический аллерген. Проведенное изучение специфической активности инсектных аллергенов в системе «in vitro» на модели клеток-мишеней аллергических реакций, с использованием представленного в нашей работе алгоритма исследования, показало специфическую активность полученного аллергена из яда пчелы.

ЛИТЕРАТУРА:

- 1 Гушин И.С., Читаева В.Г.//Аллергия к насекомым – М. – 2003. – С.7-48.
- 2 Швец С.М. Аллергические реакции на яд жалящих насекомых // Российский аллергологический журнал – 2004. – №3. С. 9–18.
- 3 Antonicelli L., Bilo M.B., Bonifazi F. Epidemiology of hyme-noptera allergy.// Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. –2002 – V. 2 – P. 341–346.
- 4 Bilo M.B., Bonifazi F. Epidemiology of insect-venom anaphylaxis // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. –2008 – V. 8 – P. 330–337.
- 5 Шабанов Д.В., Мартынов А.И., Федоскова Т.Г., Федосеева В.Н., Гришина Т.И. Проблема аллергии к жалящим насекомым в условиях мегаполиса: Распространенность, Патогенетическое лечение // Сборник материалов IX-ого Международного симпозиума «Экология человека и медико-биологическая безопасность населения» – Франтишковы Лазне, 25 октября-01 ноября 2014 г. – С. 141-144.
- 6 Bilo M., Bonifazi F. The natural history and epidemiology of insect venom allergy.// J. Clin. Exp. Allergy –2009. –V.39 –P. 1467–1476.
- 7 De Weck, A.L. Cellular allergen stimulation test (CAST) – A new dimension in allergy diagnostics/ A.L. De Weck et al.// Allergy Clin. Immunol. News. – 1993. – V. 5. – P. 9-14.
- 8 DeWeck, A.L. Flow cytometric cellular allergen stimulation Test (FAST/Flow-CAST): technical and clinical evaluation of a new diagnostic test in allergy and pseudo-allergy/ A.L. DeWeck A.L., M.L. Sanz// ACI International. – 2002. – V.14. – P. 204-215.
- 9 Kahlert, H., Cromwell, O., Fiebig, H., Measurement of basophil-activating capacity of grass pollen allergens, allergoids and hypoallergenic recombinant derivatives by flow cytometry using anti-CD203c/H. Kahlert, O. Cromwell, H. Fiebig// Clin. Exp. Allergy. – 2003. – V.33, № 9. – P.1266-1272.
- 10 Федосеева В.Н., Орлова И.А., Мартынов А.И., Федоскова Т.Г. Патент №2279888 на изобретение “Аллергоид из яда пчел для аллерген-специфической иммунотерапии больных с аллергическими реакциями на ужаление пчелами и способ его получения”, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений РФ 20.07.2006

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ АСПЕКТАХ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ РСВ ИНФЕКЦИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ НА ПРИМЕРЕ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Бурлуцкая А.В., Фирсова В.Н., Шарова Е.В.

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, ГБУЗ ДККБ МЗ КК, г. Краснодар

MODERN REPRESENTATIONS ABOUT ETIOPATHOGENIC ASPECTS OF DIAGNOSTICS AND TREATMENT OF RSV INFECTION IN NEWBORNS IN KRASNODAR REGION AS AN EXAMPLE

Burlutskaia A.V., Firsova V.N., Sharova E.V.

Kuban Medical University, Regional Clinical Hospital for Children

В статье представлен обзор современных представлений о респираторно-синцитиальной вирусной инфекции у новорожденных детей: этиология, распространённость, клинические проявления, факторы риска, подходы к диагностике, лечению и профилактике. Показано влияние паливизумаба на организм ребёнка, как основного препарата в диагностике и возможности лечения респираторно-синцитиального вируса. Приведены конкретные данные эффективности данного препарата.

Актуальность темы. В структуре заболеваемости детей 1-го года жизни на протяжении последних 10 лет первое место занимают болезни органов дыхания, и их удельный вес возрастает с каждым годом. В 2014 году заболевания органов дыхания среди детей первого года жизни составили 57,8% от всех заболеваний [1]. По данным ВОЗ, основной причиной острых заболеваний органов дыхания у детей раннего возраста является респираторно-синцитиальный вирус (РСВ). В течение первых двух лет жизни 90% детей инфицируются РСВ, в 40% случаев – развивается инфекция нижних дыхательных путей [2,3].

Среди возбудителей респираторных инфекций у детей раннего возраста респираторно-синцитиальный вирус занимает первое место среди

причин бронхолитов, пневмонии, госпитализации детей первого года жизни, вирусных причин смерти детей раннего возраста [4].

По результатам эпидемиологического исследования этиологического фактора бронхолитов и пневмоний у детей младше 1 года, были госпитализированы в сезон 2009-2011 гг., что проводилось в странах Европы и Азии, в котором также принимала участие и Россия, положительный тест на РСВ был обнаружен в 1423 (42,4%) детей с 3354, у 57,1% детей был установлен диагноз бронхолит, в 34,1% – пневмония, в 8,9% – оба диагнозы [5-7].

РСВ-инфекция является причиной развития бронхолита с необходимостью искусственной вентиляции лёгких в условиях отделений интенсивной терапии, повышает риск смерти ребёнка. РСВ – наиболее частая причина смерти детей 1-го года жизни [8]. По данным ВОЗ, число детей 1-го года, что умерли от РСВ инфекции, более чем в 9 раз превышает число детей, которые умерли от гриппа [9,10,11]. Перенесённая в раннем возрасте РСВ инфекция негативно влияет на состояние здоровья детей в последующие годы, в частности, в 13 раз повышает риск заболевания бронхиальной астмой. Особенно тяжёлое течение РСВ инфекции наблюдается у недоношенных новоро-

жденных детей с бронхолегочной дисплазией (БЛД) и врожденными пороками сердца (ВПС) [12].

У детей группы риска высокая частота и большая продолжительность госпитализации, чаще развиваются осложнения, высокий риск летальности. Развитие бронхоолита у новорожденных, родившихся с очень малой массой тела, является одной из основных причин смертности детей первого года жизни [13,14]. По данным международных научных исследований, риск развития тяжелого заболевания при РСВ инфекции у недоношенных детей в 2 раза выше в сравнении с доношенными. В случае госпитализации недоношенным детям в 3 раза чаще требуется проведение искусственной вентиляции лёгких, чем доношенным. Летальность среди недоношенных детей, госпитализированных по поводу РСВ инфекции в 6 раз выше по сравнению с аналогичным показателем у доношенных младенцев [15-17].

У детей с БЛД вероятность тяжелого течения РСВ инфекции, что требует госпитализации, в сравнении со здоровыми детьми выше в 11 раз, а среди детей с ВПС – выше в 3 раза [18]. Для новорожденных с БЛД, тяжелая острая РСВ инфекция чревата возникновением гипоксемии и гиперкапнии, что обусловлено пониженной способностью лёгких, противостоять воспалению и уменьшению оксигенации лёгких [19].

РСВ относится к РНК содержащим вирусам, роду *Pneumovirus* семьи *Paramyxoviridae*. Вирус получил своё название в том, что клетки, в которых он размножается, сливаются друг с другом в многоядерные синцитии. Впервые вирус выделил г. Ченк у детей с ОРВИ (1957) [21]. Вирус диаметром 150-300 нм содержит спиральный капсид и одноцепочный РНК, кодирующей 10 специфических вирусных белков. Внешняя липидная оболочка несет 2 гликопротеида – G-белок, с помощью которого вирус прикрепляется к клетке, и F – белок, что облегчает проникновение вируса в клетку с помощью слияния оболочки вируса с клеточной мембраной. Ранее был известен один серотип вируса, но сейчас описаны два серотипа (А и В) и многочисленные штаммы. Эпидемиологическая и клиническая роль отдельных штаммов не выяснена [22-25].

РСВ передаётся при непосредственном контакте через загрязнённые руки или предметы на конъюнктиву и в переднюю часть слизистых носовых ходов. Распространение вируса происходит воздушно-капельным путём [26]. РСВ мало устойчив во внешней среде и склонен к самораспаду. Быстро инактивируется под действием высокой температуры и дезинфектантов [27].

РСВ – важный возбудитель госпитальных инфекций. Нозокомиальная РСВ инфекция у новорожденных имеет более тяжёлое течение. Осложнения после нозокомиальной РСВ инфекции чаще, чем при РСВ инфекции вне стационара [28].

Продолжительность госпитализации больше в 2 раза, летальность выше в 10 раз. В проспективном исследовании, в котором принимали участие 8 лечебных заведений Канады, за 4 месяца было зафиксировано 96 случаев нозокомиальной респираторной инфекции у детей менее 18 месяцев. Респираторные вирусы были этиологическим фактором в 71% случаев, РСВ был наиболее распространённым возбудителем (80%), 9% детей с нозокомиальной инфекцией погибли [29-33].

Клиника РСВ инфекции у новорожденных отличается очень широким диапазоном клинических проявлений: от лёгких и стёртых форм заболевания до тяжёлых, что имеют клинику с развитием дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности. Начало заболевания постепенное, отличается незначительными начальными проявлениями инфекции со стороны дыхательных путей. Период разгара характеризуется внезапным и быстрым развитием симптомов дыхательной недостаточности вследствие вовлечения в патологический процесс нижних отделов респираторного тракта с преимущественным поражением мелких бронхов, бронхиол и альвеол. Развиваются бронхиты (обструктивные), бронхиолиты и пневмонии [31,32,33,34].

Для РСВ инфекции у новорожденных характерно несоответствие тяжести поражения нижних отделов дыхательных путей (выраженная дыхательная недостаточность) высоте лихорадки (субфебрильная t тела) и интоксикация (слабая или умеренная) [35]. Тяжесть состояния ребёнка с РСВ инфекцией обусловлена дыхательной недостаточностью: выраженная экспираторная

одышка с втягиванием межрёберных промежутков, западением грудины и эпигастрального участка, участием вспомогательной мускулатуры и раздуванием крыльев носа; бледность, мраморность кожи, периоральный или общий цианоз, нарушение двигательной активности или адинамия, тахикардия [36-39].

Развивается гипоксемия, в тяжёлых случаях и гиперкапния. Большое количество вязкой слизи нарушает дренажную функцию бронхов, способствует возникновению очагов ателектазы и эмфиземы [40].

При бронхиолите отмечается коробочный отенок перкуторного звука. Аускультативно над лёгкими на фоне удлинённого выдоха выслушиваются обильные рассеянные мелкопузырчатые и крепитирующие хрипы, иногда – сухие со свистом [41,42].

Диагностика базируется на данных клинического, инструментального, лабораторных (серологических и вирусологических) методов обследования.

При проведении рентгенологического исследования для бронхиолита характерно эмфизематозное вздутие грудной клетки. Информацию о характере заболевания может дать экспресс-диагностика с соответствующим вирусным антигеном. Для проведения анализа используются носоглоточные смывы, аспират, мазки со слизистой оболочки носа. Экспресс-анализ РСВ-сток (дипстик) представляет собой полоску нитроцеллюлозной мембраны с фиксированными специфическими моноклональными антителами, конъюгированные с коллоидными золотыми частицами. Другие неспецифические поликлональные антитела фиксированы в реагирующей зоне полоски мембраны. РСВ-антиген, который содержится в пробе, реагирует с моноклональными антителами, помеченными коллоидными золотыми частицами, формируя комплекс антиген-антитело [43-45]. Сформированный комплекс мигрирует вдоль полоски мембраны и образует в реагирующей зоне розовую полоску, что свидетельствует о положительном результате теста. Остаток конъюгата продолжает мигрировать дальше и образует аналогичную розовую полоску в контрольной зоне мембраны, на счёт реакции с поликлональными антителами. Это свидетель-

ствует о правильности выполнения теста [46].

Быстрая диагностика проводится путем иммунофлюоресцентного анализа наличия антигена РСВ в биологических материалах из дыхательных путей. Вирусологическая диагностика требует 3-7 дней. Визуально под электронным микроскопом можно обнаружить многоядерные клетки (синцитии) с цитоплазматическими включениями [47].

Специфической терапии для лечения РСВ-инфекции в мире не существует, а большинство симптоматических средств, которые применяются, не имеют доказательной базы и не являются рекомендованными международными клиническими рекомендациями [48].

Важным фактором в предотвращении РСВ-инфекции остаётся просветительская работа среди родителей и медицинских работников, что включает информирование о способах передачи вируса, факторы риска тяжёлого течения инфекции, важность соблюдения гигиены и важную роль грудного вскармливания [49].

Общие меры профилактики РСВ-инфекции включают: мытьё рук, особенно если члены семьи, проживающие вместе с ребёнком, болеют респираторной инфекцией (уровень доказательности А-III); ограничение пребывания ребёнка высокого риска среди больших групп детей в период сезона РСВ-инфекции; кормление грудью (уровень доказательности С); защиту ребёнка от сигаретного дыма (уровень доказательности В) [50].

Но основным мероприятием по предупреждению развития РСВ-инфекции является пассивная иммунизация, поскольку не существует вакцины против РСВ [51]. Единственное средство с доказанной эффективностью для специфической профилактики РСВ инфекции, широко применяется в мире с 1998 года, есть препарат паливизумаб.

Паливизумаб – препарат, содержащий моноклональные антитела к респираторно-синцитиальному вирусу. По данным рандомизированных контролируемых исследований, профилактическое назначение паливизумаба приводит к снижению частоты госпитализации детей, рождённых преждевременно, или с БЛД при РСВ инфекции на 55% и среди детей с гемодинамически значимыми ВПС на 45% [52].

Паливизумаб эффективно используется у пациентов групп риска тяжёлого течения РСВ-инфекции (недоношенность, БЛД, ВПС) много лет, фактически являясь средством сезонной пассивной иммунизации для этих детей.

Паливизумаб (Синагис) был одобрен для применения FDA (Food and Drug Administration) в США в 1998 г., а потом в 1999 г. был одобрен для применения ЕМЕА в странах ЕС, а в 2002 г. – в Японии и Канаде. Паливизумаб (Синагис) зарегистрирован более чем в 60 странах мира и включён в рекомендации и стандарты медицинской помощи недоношенным детям, рождённым до 35 недель гестации, детям с БЛД и ВВС [23].

Паливизумаб есть моноклональным антителом IgG1, взаимодействующим с эпитопом А антигена белка слияния (белок F) РСВ. Белок F – поверхностный вирусный гликопротеид РСВ, что отличается высокой консервативностью у различных штаммов вируса подтипов А и В. Молекула паливизумаба состоит из человеческих (95%) и мышиных (5%) последовательностей, относясь к III поколения препаратов моноклональных антител по классификации FDA [8]. Паливизумаб не несёт риска заражения другими инфекциями.

В многоцентровом рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании III фазы (MI CP018, IMpact РСВ) (n=1502) сравнивали безопасность и эффективность паливизумаба в дозировке 15 мг/кг в сравнении с плацебо в снижении частоты госпитализации с РСВ – инфекцией у недоношенных детей и детей с БЛД при ежемесячном внутримышечном введении препарата [50]. Критериями выбора были дети разного пола до 24 месяцев с диагнозом БЛД, что требовали медицинских вмешательств в течение последних 6 месяцев или дети, рождённые раньше 35-й недели гестации, в возрасте до 6 месяцев. Детей распределили на группы, получавшие по 5 инъекций препарата или плацебо 1 раз в 30 дней.

Ежемесячные внутримышечные инъекции паливизумаба в дозе 15 мг/кг ассоциировались с 55% снижением частоты госпитализации среди детей из группы риска. 53 из 500 детей (10,6%) из группы плацебо были госпитализированы с РСВ-инфекцией, в отличие от 48 с 1002 детей (4,8%) в группе паливизумаба ($p<0,001$).

Снижение числа РСВ – госпитализаций на-

блюдалось и у недоношенных новорожденных менее 35 недель гестации на 78% ($p<0,001$), а также у детей с БЛД – на 38 % ($p=0,038$).

Кроме того, в случае развития РСВ-инфекции, у пациентов группы паливизумаба регистрировали уменьшение количества дней РСВ – госпитализации на 42% ($p<0,001$), общего количества дней РСВ – госпитализации с необходимостью дополнительного кислорода – на 40% ($p<0,001$) и уменьшение частоты госпитализации в отделение интенсивной терапии – на 57% ($p=0,026$). Таким образом, по сравнению с плацебо, профилактика паливизумабом позволила снизить общую продолжительность на 100 детей за всеми тремя оцениваемыми факторами: продолжительность госпитализации по поводу РСВ инфекции, длительность кислородной поддержки и тяжёлого состояния в связи с инфекцией нижних дыхательных путей, оценённого по 5-балльной шкале оценки тяжести течения инфекции дыхательных путей.

Таким образом, эффективность паливизумаба у недоношенных детей, пациентов с БЛД подтверждена на основании мультицентрового рандомизированного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования (высокий уровень доказательности А).

В России введение паливизумаба для профилактики РСВ-инфекции рекомендовано:

- Детям с хроническими заболеваниями легких (БЛД), требующие лечения по поводу основного заболевания в течение 6 месяцев до начала сезона РСВ-инфекции в возрасте ≤ 24 месяцев на момент начала сезона РСВ-инфекции (уровень доказательности А-I).

- Детям с гемодинамически значимыми врождёнными заболеваниями сердца в возрасте ≤ 24 месяцев на момент начала сезона РСВ-инфекции (уровень доказательности А-I):

- решение о необходимости применения паливизумаба должно приниматься на основе степени нарушения функции сердечно-сосудистой системы;

- наиболее эффективное применение паливизумаба у детей, получающих медикаментозное лечение по поводу застойной сердечной недостаточности, с умеренной или тяжёлой легочной гипертензией и с «синими» пороками сердца.

• Детям, что родились в срок гестации ≤ 28 недель, в возрасте ≤ 12 месяцев на момент начала сезона РСВ-инфекции.

• Детям, что родились в срок гестации 28-31 неделе, в возрасте ≤ 6 месяцев на момент начала сезона РСВ-инфекции (уровень доказательности А-I).

• Детям, что родились в срок гестации 32-34 недели, в возрасте ≤ 6 месяцев на момент начала сезона РСВ-инфекции, при наличии 2 или более основных факторов риска 1 основного и 2 дополнительных факторов риска (основные факторы риска: возраст менее 10 недель на момент начала сезона РСВ-инфекции или рождение в сезон РСВ-инфекции, посещения центров по уходу за детьми или проживание вместе с детьми моложе 18 лет; дополнительные факторы риска: курение матери во время беременности, мужской пол ребёнка).

Как видим, респираторно-синцитиальная вирусная инфекция (РСВИ) занимает важное место в патологии органов дыхания, как у детей, так и у взрослых. Респираторно-синцитиальной вирус (РСВ) – наиболее частая причина поражения нижних дыхательных путей (НДП) у детей раннего возраста, причём заболевание может привести к летальному исходу. В наше время не существует вакцины для профилактики данного заболевания. Однако паливизумаб имеет положительную динамику в лечении РСВИ, что можно увидеть в результатах исследования. Вакцина от РСВИ для новорожденных находится только в разработке, потому паливизумаб применяют как профилактическое средство с положительной динамикой.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Богданова А.В. Хроническая обструктивная болезнь легких у детей. В кн.: Хроническая обструктивная патология легких у взрослых и детей. Руководство для врачей / А.В. Богданова, С.В. Старевская, С.Д. Попов / Под ред. А.Н. Кокосова. СПб.: СпецЛит, 2004: 263–285.
2. Бойцова Е.В. Облитерирующий бронхиолит у детей. В кн.: Хроническая обструктивная патология легких у взрослых и детей. Руководство для врачей / Е.В. Бойцова / Под ред. А.Н. Кокосова. СПб.: СпецЛит, 2004: 285–302.
3. Волков И.К. Эмфизема легких у детей / Волков И.К. / Под ред. А.В. Аверьянова // В кн.: Эмфизема легких (серия монографий Российского респираторного общества). – М.: Атмосфера, 2009: 92–97.
4. Геппе Н.А. Новая рабочая классификация бронхолегочных заболеваний у детей / Н.А. Геппе, Н.Н. Ро-

- зинова, И.К. Волков [и др.] // Доктор. Ру. 2009; 1: 7–13.
5. Давыдова И.В. Формирование, течение и исходы бронхолегочной дисплазии у детей: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М., 2010.
6. Дементьева Г.М. Повторные и хронические бронхолегочные заболевания в раннем возрасте у детей, находившихся на искусственной вентиляции легких в неонатальном периоде / Г.М. Дементьева, Т.Б. Кузьмина, Л.С. Балева [и др.] // Рос. вестн. перинатол. и пед. 1997; 1: 21–25.
7. Козарезов С.Н. Клинико-патогенетические аспекты бронхолегочной дисплазии в стадии хронической болезни: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Минск, 2010.
8. Козлов И.Г. Иммуноterapia: вчера, сегодня, завтра / И.Г. Козлов, М.А. Тимаков // Педиатрия. 2009; 87 (4): 140–149. 190 Неонатология, хирургия та перинатальна медицина Т. II, № 4(6), 2012
9. Лесфилд С. Бронхолегочная дисплазия / С. Лесфилд // В кн.: Р.Э. Берман, Р.М. Кliegman, Х.Б. Джонсон. Педиатрия по Нельсону: Пер. с англ. Т. 4. М.: ООО «Рид Элсивер», 2009: 589–591.
10. Овсянников Д.Ю. Бронхолегочная дисплазия у детей первых трех лет жизни: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. М., 2010.
11. Пятеркина О.Г. Течение и исходы бронхолегочной дисплазии у детей в Республике Татарстан / О.Г. Пятеркина, Д.С. Шагиахметова, Л.В. Храмова [и др.] // XIX Национальный конгресс по болезням органов дыхания. Под ред. А.Г. Чучалина. М.: ДизайнПресс, 2009: 95.
12. Рудакова А.В. Эффективность затрат на профилактику тяжелой респираторно-синцитиальной инфекции паливизумабом у недоношенных детей / А.В. Рудакова // Клиническая фармакология и фармакоэкономика. – 2010, 1(3): 13–18.
13. Самсонова М.И. Результаты бактериологических исследований при хронических неспецифических заболеваниях легких у детей в РС(Я) / М.И. Самсонова, О.Г. Чойдонова, Л.Е. Николаева // XIX Национальный конгресс по болезням органов дыхания. Под ред. А.Г. Чучалина. М.: ДизайнПресс, 2009: 105.
14. Спичак Т.В. Постинфекционный облитерирующий бронхиолит у детей / Т.В. Спичак // М.: Научный мир, 2005: 80.
15. Шунько Я.Е. Информационное письмо о нововведениях в системе здравоохранения: Профилактика респираторно-синцитиальной вирусной инфекции у детей групп высокого риска / Я.Е. Шунько, А.Т. Лакша, В.А. Жовнир / №291 – 2011.
16. Allen J. American Thoracic Society. Statement on the care of the child with chronic lung disease of infancy and childhood / J. Allen, R. Zwerdling, R. Ehrenkranz [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2003; 168: 356–396.
17. American Academy of pediatrics. Postnatal Corticosteroids to Treat or Prevent Chronic Lung Disease in Preterm Infants. Pediatrics. 2002; 109 (2): 330–338.
18. Baraldi E, Filippone M. Chronic lung disease after premature birth. N. Engl. J. Med. 2007; 357: 1946–1955.
19. Behrman R. E. Textbook of pediatrics. 16 th edition / R. E. Behrman, R. M. Kliegman, W. E. Nelson // London: Elsevier Saunders; 2000.
20. Boyce TG. Rates of hospitalization for respiratory syncytial virus infection among children in medicaid / TG Boyce, BG Mellen, EF Mitchel [et al.] // J. Pediatr. 2000;

137 (6): 865–870.

21. Christakis D. A. Variation in inpatient diagnostic testing and management of bronchiolitis / D.A. Christakis, C. A. Cowan, M. M. Garrison [et al] // *Pediatrics*. 2005; 115: 878–884.

22. Cost-Effectiveness of Palivizumab Against Respiratory Syncytial Viral Infection in High-Risk Children in Austria / Resch B., Gusenleitner W., Nuijten M.J.C. [et al.] // *Clin Ther*. 2008;30:749-760.

23. Eber E, Zach M S. Long term sequelae of bronchopulmonary dysplasia (chronic lung disease of infancy) / E Eber, M S. Zach // *Thorax*. 2001; 56: 317–323.

24. Fitzgerald D.A. Preventing PCB bronchiolitis in vulnerable infants: The role of palivizumab / D.A. Fitzgerald // *Paediatric Respiratory Reviews*.-2009.-10.-P.143–147.

25. Hall C.B. Respiratory Syncytial Virus And Parainfluenza Virus / C.B. Hall // *N Engl J Med*, 2001, 344(25): 1917-1928.

26. Hyvarinen MK. Lung function and bronchial hyperresponsiveness 11 years after hospitalization for bronchiolitis / MK. Hyvarinen // *Acta Paed*. 2007; 96: 1464–1469.

27. Jeng SF Bronchopulmonary dysplasia predicts adverse developmental and clinical outcomes in very-low-birth infants / SF Jeng, CH Hsu, PN Tsao [et al] // *Dev. Med. Child Neurol*. 2008; 50 (1): 51–57.

28. Jones MH Postinfections bronchiolitis obliterans / MH Jones, PM Pitresz, RT Stein // *Pediatric Pulmonology*.-2004; 26: 64–65.

29. Nuijten M. Cost effectiveness of palivizumab in children with congenital heart disease in Germany / M. Nuijten, M. Lebmeier, W. Wittenberg // *Journal of Medical Economics*.- 2009; 12(4): 301–308

30. Rennie JM A Manual of Neonatal Intensive Care. Oxford University Press/ Rennie JM, Robertson// *NRS*.-2002: 204–214.

31. Robinson R. Addressing the burden of respiratory syncytial virus / *Am J Health-Syst Pharm*.-2008.-V.65(1), S8, S1-S24.

32. Schroeder A.R. Pulse oximetry in bronchiolitis patients / A. R. Schroeder, A. Marmor, T. B. Newman // *Pediatrics*. - 2003; 112 (6 Pt 1): 1463.

33. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Bronchiolitis in children. NHS Quality Improvement Scotland [Internet] Available from www.sign.ac.uk [cited January 16, 2009].

34. Simon A. Respiratory syncytial virus infection in 406 hospitalised premature infants: results from a prospective / A Simon, RA Ammann, A Wilkesmann [et al.] // *German multicentre database. Eur. J. Pediatr*. 2007; 166: 1273–1283.

35. Smyth R. L. Bronchiolitis / R. L. Smyth, P. J. Openshaw // *Lancet*. - 2006; 368: 312–322.

36. Wainwright C. A multicenter, randomized, double-blind, controlled trial of nebulized epinephrine in infants with acute bronchiolitis / C. Wainwright, L. Altamirano, M. Cheney [et al.] // *N Engl J Med*. 2003; 349: 27–35

37. AAP Policy Statement Modified Recommendations for Use of Palivizumab for Prevention of Respiratory Syncytial Virus Infections / *Pediatrics*.-2009.-V.124(6): p.1-8. 191

38. Acute Respiratory Infections (Update September 2009).

39. Bronchiolitis in children. A national clinical

guideline, SIGN, 2006.

40. Chang R.-K.R. Impact of Palivizumab on PCB Hospitalizations for Children with Hemodynamically Significant Congenital Heart Disease / R.-K.R. Chang / *Pediatr Cardiol*, 2010, 31:90–95.

41. Guidelines for the use of palivizumab in infants and young children with congenital heart disease (Japan) / *Pediatrics International*.-2006.-48:190–193

42. Heikkinen T. Hospital admission of high risk infants for respiratory syncytial virus infection: implications for palivizumab prophylaxis / T. Heikkinen // *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005 90: F64-F68

43. Lo'pez C.M. Community-acquired Respiratory Infections in Young Children With Congenital Heart Diseases in the Palivizumab Era / C.M. Lo'pez / *Pediatr Infect Dis J*,2010; 29:1077–82

44. Mitchell J. CARESS: The Canadian Registry of Palivizumab / J. Mitchell / *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30

45. Mortality and morbidity among infants at high risk receiving prophylaxis with palivizumab: A systematic literature review and meta-analysis / Checchia PA [et al.] // *Pediatr Crit Care Med*. 2010 Dec 31. [Epub ahead of print]

46. Nuijten M. Cost effectiveness of palivizumab in children with congenital heart disease in Cost-Effectiveness of Palivizumab Against Respiratory Syncytial Viral Infection in High-Risk Children in Austria Bernhard Resch / M. Nuijten // *Journal of Medical Economics*, 2009; 12(4): 301–308.

47. Nuijten M.J.C. Cost Effectiveness of Palivizumab for Respiratory Syncytial Virus Prophylaxis in High-Risk Children. A UK Analysis / M.J.C. Nuijten / *Pharmacoeconomics* 2007; 25 (1): 55-71.

48. Prevention of hospitalization due to respiratory syncytial virus: results from the Palivizumab Outcomes Registry / Frogel M. [et al.] // *Journal of Perinatology*. - 2008, 1–7

49. Prevention of respiratory syncytial virus infection. Canadian Paediatric Society / *Paediatr Child Health* 2009; 14(8):521-6

50. Prevention und Therapie der bronchopulmonalen Dysplasie Frühgeborener, 2010

51. Recommendations for the use of palivizumab in the prevention of PCB infection in late preterm infants (32(1) to 35(0) weeks of gestation. / *Anales de pediatria*.-2010.-v.73(2): p. 98.e1–4.

52. Resch B. Cost-Effectiveness of Palivizumab Against Respiratory Syncytial Viral Infection in High-Risk Children in Austria / B. Resch / *Clin Ther*. 2008; 30:749-760.

53. Simoes E.A.F. Immunoprophylaxis of respiratory syncytial virus: global experience / E.A.F. Simoes / *Respir Res*, 2002, 3(s1):S26-S33.

54. Van de Steen O. Respiratory Syncytial Virus as Cause of Lower Respiratory Tract Infection in Young Children in Central and Eastern Europe / O. Van de Steen, M. Gunjaca, V. Klepac [at al.] / Poster presented at the 4th Congress of the European Academy of Paediatric Societies (October 5-9, 2012, Istanbul).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА 8, 13, TGF β 1 у ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ ПОЧЕК ДО И ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Фомина О.И., Фисенко В.Г., Турмова Е.П.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владивосток.

DETECTION OF THE EARLY RENAL INJURY BIOMARKERS IL8, 13, TGF β 1 IN PATIENTS DURING HEART SURGERY

Fomina O.I., Fisenko V.G., Turmova E.P.

State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Pacific State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladivostok

Операции на сердце и искусственное кровообращение, несмотря на совершенствование технологий, являются мощными факторами агрессии и индуцируют в организме пациента каскад защитных реакций, которые повышают риск развития осложнений [1,7]. Несмотря на развитие хирургической техники, методов анестезиологического пособия и защиты органов в условиях искусственного кровообращения (ИК), нерешённой остается проблема послеоперационных осложнений, большая часть которых связана с активацией каскада защитных реакций в ответ на агрессивное воздействие ИК [2,3,8]. Острое повреждение почек (ОПП) является одним из них. Внимание многих авторов привлекают данные о корреляции изменения уровня цитокинов с дисфункцией почек и их прогностическая значимость. Целью исследования явилась оценка диагностического и прогностического значения ИЛ 8, 13, TGF β 1 у пациентов с острым повреждением почек до и после АКШ.

Материал и методы. Определение уровня ИЛ 8, 13, TGF β 1 проведено в сыворотке крови и моче методом ИФА (R & D Systems, USA) у 30 пациентов с ИБС обоего пола от 45 до 74 лет до и после АКШ. Пациенты были разделены на группы:

- с острым повреждением почек (I гр.);
- с острым повреждением почек и сопут-

ствующей патологией в виде сахарного диабета 2 типа (II гр.);

- без острого повреждения почек (группа контроля).

Биологический материал забирали за сутки до операции, на 1-е, 2-е и 7-е сутки после операции. Статистическая обработка полученных данных проведена непараметрическими методами. Результаты представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Сравнение средних значений в выборках осуществляли с помощью непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Результаты выражали в пг/мл.

Результаты исследований. Цитокины играют важную роль в патогенезе развития ОПП. Немаловажную роль при этом играет ИЛ 8. У пациентов с острым повреждением почек, перенёвших аортокоронарное шунтирование (АКШ) клинические проявления выражались увеличением креатинина и мочевины, снижением СКФ, но без перехода в острую почечную недостаточность [4,5]. Было выявлено значимое повышение концентрации ИЛ 8 в сыворотке крови и моче. Уровень ИЛ 8 в сыворотке крови и моче у пациентов до операции с ОПП и ОПП с СД был значительно повышен – (11,98 (5,78; 14,81) пг/мл/6,01 (5,06; 10,77) пг/мл; 7,61 (3,30; 9,26) пг/мл /

9,12(6,81; 19,88) пг/мл, $p < 0,05$, соответственно) в сравнении с группой контроля – (5,15 (1,97; 5,55) пг/мл / 7,56 (5,97; 9,97) пг/мл, $p < 0,05$), что может быть прогностически значимым в целях раннего выявления и при необходимости коррекции пери- и послеоперационной терапии острого повреждения почек. Анализируя данные, полученные на 1-е и 2-е, 7-е сутки после оперативного вмешательства, можно проследить увеличение концентрации ИЛ 8 в сыворотке и моче в группах с ОПП и ОПП с СД, в отличие от группы контроля, где повышение было незначительно. Выявлены высокие значения уровня концентрации ИЛ 8 на 7-е сутки в сыворотке и моче в группах с ОПП, ОПП и СД (21,66 (14,35; 100,04) пг/мл / 82,89 (41,42; 282,25) пг/мл, $p < 0,05$; 14,79 (14,64; 17,71) пг/мл / 18,19 (12,27; 19 53) пг/мл, $p < 0,05$, соответственно) в сравнении с группой контроля без ОПП, где изменение концентрации цитокина минимально – 5,02 (1,46; 9,46) пг/мл / 18,19 (12,27; 19,53) пг/мл, $p < 0,05$.

Выявлено, что в группе пациентов с ОПП и нарушением углеводного обмена в виде сахарного диабета 2 типа, показатели ИЛ 13 в 1,5 раза превышают данные полученные в группах с ОПП и группой контроля без осложнений – 50,36 (29,24; 73,19) пг/мл / 49,33 (35,39; 60,21) пг/мл, $p < 0,05$ против 37,95 (29,19; 94,2) пг/мл / 45,19 (33,78; 64,89) пг/мл $p < 0,05$. Известно, что ИЛ 13 вовлечен в процесс фиброобразования при многих системных заболеваниях, в том числе при сахарном диабете 2 типа. Анализ данных, полученных после оперативного вмешательства на 2-е, 7-е сутки в сыворотке крови и моче в группе пациентов без ОПП и ОПП с СД, свидетельствует об активации Th-2 лимфоцитов в этой категории больных [5].

TGF $\beta 1$ является фиброгенным фактором роста, ключевым медиатором в развитии гломерулосклероза и тубулоинтерстициального фиброза. Уровень TGF $\beta 1$ в сыворотке крови и моче у пациентов до операции с ОПП и ОПП с СД 2 типа был значительно повышен – (10,44 (8,70; 13,97) пг/мл / 95,92 (84,09; 141,2) пг/мл; 9,40 (7,81; 17,32) пг/мл / 146,08 (137,97; 246,11) пг/мл, $p < 0,05$, соответственно) в сравнении с группой без ОПП – (5,62 (4,90; 7,34) пг/мл / 71,16 (48,03; 133,2) пг/мл, $p < 0,05$, что также может быть прогностически значимым в целях раннего выявления ОПП. У группы пациентов, определённых как группа контроля, без острого повреждения почек в послеопераци-

онном периоде, наблюдались низкие в сравнении с другими группами концентрации TGF $\beta 1$ – (7,84 (7,01; 9,40) пг/мл / 69,75 (49,34; 85,55) пг/мл против 16,72 (14,42; 18,10) пг/мл / 128,40 (95,92; 133,2) пг/мл и 14,97 (13,81; 16,80) пг/мл / 126,78 (95,92; 253,36) пг/мл, $p < 0,05$ в группе с ОПП и ОПП с СД. Известно, что TGF $\beta 1$ достоверно снижает цитокин-продуцирующую активность ряда клеток, участвующих в ряде воспаления. Рецепторы к этому цитокину экспрессируются на многих клетках, в том числе моноцитах, макрофагах, клетках эндотелия, тучных клетках. Следовательно, избыточная концентрация данного цитокина в сыворотке крови и моче может привести к инициации фиброобразования в почках [6].

Выявлены статистически значимые различия уровня цитокинов ИЛ 8, 13, TGF $\beta 1$ у пациентов групп с острым повреждением почек и пациентов без осложнений в послеоперационном периоде. Определение содержания данных цитокинов является полезным для прогнозирования развития острого повреждения почек, что, возможно, позволит провести коррекцию пери- и послеоперационной терапии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Табакьян Е.А., Партигулов С.А. Биомаркеры ишемии и острого повреждения почек после операций на сердце с искусственным кровообращением // Анестезиология, реаниматология, перфузиология. -2013.-№4.-С.30-33.
2. Колесников С.В., А.С. Борисов А.С. Острое почечное повреждение: новые аспекты известной проблемы // Патология кровообращения и кардиохирургия. -2013.-№4.-С.69-73.
3. Бокерия Л.А., Мерзляков В.Ю. Результаты малоинвазивной реваскуляризации миокарда у пациентов с хронической болезнью почек // Анналы хирургии. -2014.-№2.- С.17-24.
4. Алексеев А.В., Гильман А.Ж. Современные биомаркеры острого повреждения почек // Практическая медицина. -2014.-№3.С22-27.
5. Грязнова М.А., Хамнуева Л.Ю. Скорость клубочковой фильтрации и уровень интерлейкина 8 у пациентов с болезнью Грейвса // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. -2013.-№4.-С.46-51.
6. Шамхалова М.Ш., Курумова К.О. Факторы развития тубулоинтерстициального повреждения почек у больных сахарным диабетом // Сахарный диабет. Диабетическая нефропатия. -2010.-№3.-С.134-141.
7. O'Neal J.B., Shaw A.D. Acute kidney injury following cardiac surgery: current understanding and future directions // Critical Care. - 2016.-P.187.
8. Lu Y., He R. Comparative study on external use of mercury-containing preparation badu shengji san in sensitive monitoring indicators of induced early renal injury // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. -2012.-№3.- P. 706-10.

ОСОБЕННОСТИ МУКОЗАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ У ЧАСТО И ДЛИТЕЛЬНО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ

Фошина Е.П., Серова Т.А., Бишева И.В.

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

FEATURES OF MUCOSAL PROTECTION IN CHILDREN WITH FREQUENT INFECTIONS

Foshina E.P., Serova T.A., Bisheva I.V.

Mechnicov's research Inst. of Vaccines and Sera

В отечественной медицине сложилась практика относить детей с частыми респираторными инфекционными заболеваниями или респираторными инфекциями (ОРИ) в группу диспансерного наблюдения «часто болеющие дети» (ЧБД). Основным критерием для этого служит число ОРИ в течение года – более 4-6 раз в зависимости от возраста [1]. Как показывает практика, в эту группу попадают дети практически здоровые, у которых частые ОРИ могут быть следствием естественных транзиторных отклонений в иммунологической защите [2], возрастных анатомо-физиологических особенностей в условиях значительной инфекционной нагрузки (нахождение в организованных коллективах). Тем не менее, часть детей, относящихся к группе ЧБД, демонстрирует осложнённое течение респираторных заболеваний в виде гнойной очаговой патологии верхних и нижних дыхательных путей, среднего уха; затяжное течение, торпидность к стандартной противовоспалительной терапии и прочее. Иммунная система таких детей характеризуется крайней напряженностью процессов иммунного реагирования, нарушением межклеточной кооперации и недостаточностью резервных возможностей, что, по-видимому, является результатом длительного и массивного антигенного воздействия на организм ребенка [3]. Т.е. эта группа ЧБД изначально неоднородна по клиническому течению и требует дифференци-

рованного подхода к обследованию, лечению и профилактике ОРИ.

Цель исследования. Изучение мукозального иммунитета по состоянию иммуноглобулинового профиля слюны у часто и длительно болеющих детей с различным клиническим вариантом течения респираторной инфекции.

Материалы и методы. Определение концентрации иммуноглобулинов классов А и G в слюне методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Содержание специфических антител в слюне изотипов А и G к антигенам *S.aureus* и *S.pneumoniae* оценивали методом твердофазного ИФА. Величина уровня антител в образцах выражалась значением обратного титра, дающего величину оптической плотности равную 0,3. Результаты обрабатывались методами непараметрической статистики с помощью программы «STATISTICA 6», данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха от 25 до 75%. Значимость различий величин между группами оценивали по критерию Манн-Уитни. Были обследованы группы детей с частыми респираторными заболеваниями в анамнезе в возрасте 3-14 лет. Пациенты были распределены по группам в зависимости от основного клинического диагноза: дети с преимущественной клиникой хронического тонзиллофарингита (1 группа, 32 чел.), рецидивирующего и хронического риносинусита (2 группа 40 чел.), аллергического ри-

нита (АР) (3 группа 14 чел.), а также группа часто болеющих детей без очаговой гнойной инфекции и без отягощенного аллергоанамнеза (4 группа 44 чел.).

Результаты исследования. Было выявлено, что мукозальный иммуноглобулиновый профиль детей с гнойной инфекцией резко отличался от такового у детей без сформировавшихся очагов. В группах пациентов с риносинуситом и тонзиллофарингитом чаще определились высокие концентрации иммуноглобулинов обоих классов, тогда как дети с аллергическим ринитом и не осложнённым течением ОРИ гораздо чаще демонстрировали низкие уровни антител. Так, процент детей с дефицитом IgA в слюне 1 и 2 групп составил 4,2 %; в 3 и 4 группах – 27,6% ($p \leq 0,001$). Уровень IgG у детей 1 и 2 групп составил 27,4 и 29,8 мкг/мл, соответственно (медианные значения, Me). У трети детей из этих групп наблюдались высокие концентрации IgG – более 50 мкг/мл, тогда как в группах 3 и 4 присутствие IgG определялось в следовых концентрациях, что является физиологической нормой в данном методе исследования. Содержание sIgA в слюне детей без очаговой инфекции было статистически значимо ниже ($p \leq 0,05$), чем в группах детей с тонзиллофарингитом и риносинуситом: 12,5 мкг/мл (3 гр.) и 50,0 мкг/мл (4 гр.) против 125,0 мкг/мл (1 и 2 гр.).

Протективный гуморальный ответ в отношении этиозначимых микроорганизмов – пневмококка и золотистого стафилококка также имел ряд отличий в наблюдаемых группах. У детей без очаговой патологии мы наблюдали низкий, практически нулевой синтез IgG к изучаемым антигенам и умеренный IgA. В группе пациентов с риносинуситом наблюдали самый высокий уровень антител как G – Me = 2,37 (1,7 – 3,87), так и A – Me = 15,5 (10,7–23,8) классов к пневмококку. У детей с тонзиллофарингитом эти значения были в 2 раза ниже. Содержание антистафилококковых антител A-изотипа в группах 1 и 2 было относительно высоким и сравнимым: Me=6,5 (6,34–11,78) и Me=6,0 (4,7–10,6), соответственно. Но продукция антител G-изотипа превалировала у пациентов с тонзиллофарингитом и составила Me=10,0 (4–20), у пациентов с риносинуситом этот показатель был тоже высоким – Me=4,5 (0,2–18).

Таким образом, местный гуморальный ответ у

часто и длительно болеющих детей с разным типом клинического течения имеет принципиальные отличия. Дети с не осложнённым течением ОРИ и с аллергическими заболеваниями респираторного тракта имели практически одинаковый вариант реагирования – низкий синтез IgG и часто дефицит sIgA. Напротив, пациенты с персистирующей очаговой бактериальной инфекцией демонстрировали напряжённость местной иммунологической защиты, которая выражалась усиленной продукцией иммуноглобулинов, в том числе, протективных специфических антител к этиологически значимым патогенам. Полученные данные могут служить объективным критерием необходимости применения антибактериальной противовоспалительной терапии у детей с ЛОР-патологией и иммуностимулирующей терапии у детей ЧБД и с аллергическими заболеваниями.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Альбицкий В.Ю., Баранов А.А. Часто болеющие дети. Клинико-социальные аспекты. Пути оздоровления. Саратов, 1986.
2. Часто болеющие дети: чем они больны на самом деле? Н.В. Зиновьева, Н.В. Давыдова, А.Ю. Щербина и соавт. Ж.Трудный пациент. №2.2007
3. Часто болеющие дети: проблемы патогенеза, диагностики и терапии. Г.А.Самсыгина. Consilium Medicum. Педиатрия. Т.6 №2.2004..

ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЙ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ БРОНХОЛЕГОЧНЫМ АСПЕРГИЛЛЕЗОМ

Фролова Е.В.¹, Козлова Я.И.², Учеваткина А.В.², Филиппова Л.В.¹, Аак О.В.¹, Соболев А.В.², Климко Н.Н.²

¹ НИИ Медицинской микологии им. П.Н. Кашкина,

² Кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

THE CHARACTER OF THE IMMUNE RESPONSE CHANGES IN PATIENTS WITH ALLERGIC BRONCHOPULMONARY ASPERGILLOSIS

Frolova E.V.¹, Kozlova Y.I.², Uchevatkina A.E.¹, Filippova L.V.¹, Aak O.V.¹, Sobolev A.V.², Klimko N.N.²

¹ Kashkin Research Institute of Medical Mycology,

² Department of clinical mycology, allergy and immunology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg

Проведен сравнительный анализ иммунологических показателей у больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом (АБЛА) и бронхиальной астмой (БА). Выявлены сходные изменения иммунологических параметров у больных АБЛА и БА: снижение абсолютного и относительного количества НК-клеток, продукции интерферонов (ИФН-α и ИФН-γ), повышение числа НКТ-клеток. Особенностью иммунного реагирования больных АБЛА явилась повышенная продукция ИЛ-10 на фоне угнетения выработки ИФН-γ в ответ на стимуляцию клеток крови аллергеном *A. fumigatus*. Таким образом, соотношение уровней исследованных цитокинов может служить прогностическим биомаркером течения заболевания и использоваться при мониторинге терапии АБЛА.

АБЛА – заболевание легких, обусловленное гиперчувствительностью к *Aspergillus* spp., которое осложняет течение БА и муковисцидоза [1]. По оценкам экспертов, количество больных АБЛА в мире составляет около четырех миллионов человек, а в Российской Федерации порядка ста семидесяти пяти тысяч [2,3]. Считают, что сенсибилизация к *Aspergillus* spp. у пациентов с БА играет существенную роль в поддержании хронического аллергического воспаления при АБЛА [4]. Однако количество публикаций по этой теме ограничено, а иммунопатогенез АБЛА

изучен недостаточно.

Цель исследования – изучение характера изменений иммунного ответа у больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом.

Материалы и методы. В проспективное исследование включили две группы больных. Первую группу составили 11 больных АБЛА (М_е – 38 лет), вторую группу – 15 больных тяжелой БА (М_е – 45 лет). Для выявления микогенной сенсибилизации проводили кожное тестирование с грибковыми аллергенами *Aspergillus* («Allergopharma», Германия, разрешение этического комитета СЗГМУ им. И.И. Мечникова от 24.06.2014), в сыворотке крови методом ИФА определяли уровень общего иммуноглобулина Е (IgE) (ООО «Полигност», Россия) и специфических IgE (sIgE) к *A. fumigatus* («Алкор Био», Россия). Диагноз АБЛА устанавливали на основании критериев R. Agarwal et al., 2013 г. [5]. Контрольную группу составили 18 условно здоровых людей (М_е – 37,5 лет). Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили с использованием проточного цитометра «FC-500» (Beckman Coulter, США). Лимфоциты окрашивали моноклональными антителами, меченными флуорохромами: CD45-FITC, CD4-RD1, CD8-ECD, CD3-PC5, CD19-ECD и CD56-RD1 (Beckman Coulter, США). Для исследования спонтанной продукции интерферона ИФН-γ и ИФН-α использовали гепаринизированную кровь, разве-

денную в 5 раз полной питательной средой: среда RPMI 1640 с добавлением L-глутамина («Биолот», Россия), 200 мкг/мл гентамицина и 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, «Биолот», Россия). Для оценки индуцированной продукции интерферонов к клеткам крови добавляли ФГА («Sigma», США) в конечной дозе 50 мкг/мл или вирус болезни Ньюкасла (цитолитический титр 1/256, ФГУ НИИ гриппа, Россия). Время инкубации составило 24 часа. С целью изучения антиген-специфической продукции ИФН- γ и интерлейкинов (ИЛ-4 и ИЛ-10) к 100 мкл разведенной крови добавляли 100 мкл аллергена *A. fumigatus* («Алкор Био», Россия) в конечной концентрации 10 мкг/мл. В предварительных экспериментах были определены оптимальная доза аллергена и сроки культивирования клеток. Через 144 часа (6 суток) инкубации клеток надосадочную жидкость аликвотировали и замораживали при -20°C до проведения анализа. Цитокины в надосадочной жидкости определяли в коммерческих ИФА тест-системах («Вектор-Бест», Россия) в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя. Полученные данные обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA 10. Для оценки различий между независимыми выборками применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. Достоверными различиями сравниваемых параметров считали значения $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Микогенная сенсибилизация – важный этап в патогенезе АБЛА, поэтому положительная кожная проба и/или выявление sIgE к *Aspergillus* spp. в сыворотке крови $> 0,35$ МЕ/мл служат обязательными диагностическими критериями [1,5]. В группе АБЛА в отличие от больных БА у всех больных установлена положительная кожная проба с аллергеном *A. fumigatus* и достоверно выше уровни общего IgE ($963 (954 \div 1691)$ vs $68 (10,0 \div 600,0)$ МЕ/мл, $p=0,0002$) и sIgE к *Aspergillus* spp. ($4,59 (0,48 \div 13,1)$ vs $0,02 (0,01 \div 0,02)$ МЕ/мл; $p=0,0006$).

Иммунофенотипирование лимфоцитов у больных АБЛА и БА не выявило различий в относительном и абсолютном числе как Т-лимфоцитов в целом (CD3+CD19-), так и основных их субпопуляций (CD3+CD4+, CD3+CD8+) по сравнению с условно здоровыми лицами. Не установ-

лено изменений в экспрессии маркера ранней активации на Т-хелперах (CD3+CD4+CD25+) в обеих группах обследованных больных. Особенностью больных БА по сравнению с контрольной группой было снижение абсолютного и относительного количества NK-клеток (CD3-56+) и повышение числа NKT-клеток (CD3+56+). В группе больных АБЛА снижение числа NK-клеток установлено в 72% случаев, а повышение количества NKT-клеток у 56% больных. Однако из-за большого разброса данных статистически значимых различий с условно здоровыми лицами не было выявлено. Известно, что NK-клетки являются ранними продуцентами ИФН- α и ИФН- γ , участвующими в поляризации иммунного ответа по Т-хелперному 1 типу (Th1) [6,7]. В нашем исследовании установлено ослабление способности клеток крови к продукции ИФН- α в обеих группах больных, достоверное снижение секреции ИФН- γ у больных АБЛА и тенденция к снижению митоген-индуцированной продукции данного цитокина у больных БА. NKT-клетки рассматривают как неклассическую субпопуляцию Т-лимфоцитов. Уровень тех или иных цитокинов, продуцируемых NKT-клетками, может изменяться в зависимости от вида презентируемого антигена [4]. Считают, что при развитии аллергического воспалительного процесса NKT-клетки поддерживают активацию Th2, которые играют важную роль в патогенезе аллергических заболеваний.

На следующем этапе исследования провели сравнительный анализ уровней патогенетически значимых цитокинов, продуцируемых клетками цельной крови в ответ на инкубацию с аллергеном *A. fumigatus*. Нами, как и другими исследователями, не установлена способность аллергенов *A. fumigatus* стимулировать клетки крови к продукции ИЛ-4 [7]. Предполагают, что это связано с тем, что ИЛ-4 в большей степени участвует в инициации иммунного ответа по Th2 типу, в то время как ИЛ-13 и ИЛ-5 поддерживают дальнейшую поляризацию иммунного ответа [1]. В нашем исследовании поляризация специфического иммунного ответа оценивалась по способности клеток к продукции ИФН- γ и ИЛ-10. Вычисляли индекс соотношения (ИС) индуцированной выработки ИФН- γ /ИЛ-10. В контрольной группе грибковый аллерген активно стимулировал

лимфоциты к продукции ИФН- γ и в меньшей степени к выработке ИЛ-10. ИС ИФН- γ /ИЛ-10 был равен 5,6. Полученные нами данные совпадают с результатами других авторов, которые установили, что у здоровых людей чаще выявляют *Aspergillus*-специфичные клоны Т-лимфоцитов, вырабатывающие ИФН- γ и редко секретирующие ИЛ-4, ИЛ-17 и ИЛ-10 [8]. Не установлено достоверных отличий между спонтанной и индуцированной грибковым аллергеном продукцией ИФН- γ и ИЛ-10 у больных БА. Полученные данные могут свидетельствовать о выраженной активации клонов Т-лимфоцитов, специфичных к другим аэроаллергенам, но не к микромицетам. Это подтверждается отсутствием у больных БА sIgE к *A. fumigatus*. У больных АБЛА антиген-специфическая стимуляция выявила высокую продукцию клетками периферической крови ИЛ-10 (72,2 (44,8÷108,2) vs 17,0 (8,0÷45,0) пг/мл; $p=0,015$) и тенденцию к снижению выработки ИФН- γ (27,0 (16,4÷59,0) vs 55,0 (40,0÷55,0) пг/мл, $p=0,06$) по сравнению с показателями условно здоровых людей, что отразилось в снижении ИС – 2,0.

Данные цитокинового профиля больных АБЛА свидетельствуют об усилении активности специфических к *A. fumigatus* регуляторных Т-лимфоцитов, что характерно для включения механизмов ограничения воспалительного процесса. Однако, высокие урони sIgE к *A. fumigatus* указывают, что противовоспалительный цитокин ИЛ-10 преимущественно подавляет продукцию ИФН- γ и это способствует преобладанию Th2-типа иммунного ответа у больных АБЛА. Полученные данные согласуются с мнением, что именно сенсibilизация к *Aspergillus* spp. играет важную роль в иммунопатологических механизмах, лежащих в основе патогенеза АБЛА.

Заключение. Выявлены сходные изменения иммунологических параметров у больных АБЛА и БА: снижение абсолютного и относительно количества НК-клеток, продукции ИФН- α и ИФН- γ , повышение числа НКТ-клеток. Особенностью иммунного реагирования больных АБЛА явилась повышенная продукция ИЛ-10 на фоне угнетения выработки ИФН- γ в ответ на стимуляцию клеток крови аллергеном *A. fumigatus*. Таким образом, соотношение уровней цитокинов может

служить прогностическими биомаркерами течения заболевания и быть использованным при мониторинге терапии АБЛА.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Agarwal R. Severe asthma with fungal sensitization // *J. Fungi*. – 2016. – Vol.2. – P.13-18.
2. Moss R.B. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and *Aspergillus* infection in cystic fibrosis // *Curr Opin Pulm Med*. – 2010. – Vol.16. – P.598-603.
3. Климко Н.Н., Козлова Я.И., Хостелиди С.Н. и др. Распространенность тяжелых и хронических микотических заболеваний в Российской Федерации по модели LIFE program // *Проблемы медицинской микологии*. – 2014. – № 1. – С.3-9.
4. Margalit A., Kavanagh K. The innate immune response to *Aspergillus fumigatus* at the alveolar surface // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2015. – Vol. 39. – P.670-687.
5. Agarwal R.A., Chakrabarti A., Shah D. et al. For the ABPA complicating asthma ISHAM working group 2013. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria // *Clinical & Experimental Allergy*. – 2013. – Vol. 43. – P. 850-873.
6. Williams C. M., Hubeau S., Mcara H. Cytokine Pathways in Allergic Disease // *Toxicologic Pathology*. – 2012. – Vol.40. – P.205-215.
7. Becker K.L., Gresnigt M S., Smeekens S.P. et al. Pattern recognition pathways leading to a Th2 cytokine bias in allergic bronchopulmonary aspergillosis patients // *Clinical & Experimental Allergy*. – 2014. – Vol.45. – P.423-437.
8. Jolink H., Meijssen I.C., Hagedoorn R.S. et al. Characterization of the Tcell mediated immune response against the *Aspergillus fumigatus* proteins Crf1 and catalase 1 in healthy individuals // *J Infect Dis*. – 2013. – Vol. 208. – P. 847-856.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПОЛЛИНОЗА ПЕРОРАЛЬНЫМИ АЛЛЕРГЕНАМИ “ОСЕННЯЯ СМЕСЬ ТРАВ” (“СЕВАФАРМА”, ЧЕХИЯ) В САМАРЕ

Хабибулина Л.Р.¹, Власова Н.В.², Кавеленова Л.М.², Мазоха К.С.¹, Асеева Е.В.¹, Козлова О.С.¹

¹ Медицинский университет “Реавиз”, г. Самара

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», г. Самара

THE RESULTS OF THERAPY POLLINOSIS WITH PERORAL ALLERGENS “AUTUMN GRASS MIXTURE” (“SEVAFARMA”, CZECH REPUBLIC) IN SAMARA

Khabibulina L.R.¹, Vlasova N.V.², Kavelenova L.M.², Mazokha K.S.¹, Aseeva E.V.¹, Kozlova O.S.¹

¹ The medical university «Reaviz», Samara

² Samara Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Samara National Research University named after Academician S.P. Korolyov», Samara

Поллиноз – аллергическое заболевание, вызываемое пылью растений и чаще всего проявляющееся клиническими симптомами аллергического ринита, конъюнктивита, бронхиальной астмы. Основными принципами терапии поллинозов являются элиминационные мероприятия, фармакотерапия в периоде обострения и аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ) причинно-значимыми аллергенами [1]. Из всех перечисленных методов только АСИТ изменяет реакцию организма на введение аллергена. В настоящее время АСИТ является единственным патогенетическим методом лечения с высоким уровнем доказательности его эффективности и переносимости, а также отвечающий высоким требованиям клинической практики. Применение иммунотерапии даже в сочетании с базовой фармакотерапией, приводит в дальнейшем к уменьшению затрат на лечение и повышению качества жизни пациентов [2].

Цель исследования - оценка эффективности сублингвальной АСИТ аллергенами “Осенняя смесь трав” (“Севафарма”, Чехия) у пациентов с сенсибилизацией к пыльце полыни на территории г.о. Самара.

Материалы и методы. Динамическое наблюдение проводили с 2012 по 2016 гг. Под наблюдением находилась группа из 133 пациентов в возрасте от 3 до 65 лет с диагнозом аллергический

ринит, из них детей - 59 человек, средний возраст 10 лет, взрослых - 74 человека, средний возраст 34 года. У всех пациентов, включенных в исследование, пыльцевая аллергия проявлялась сезонным аллергическим ринитом (АР), у 26% больных отмечались симптомы бронхиальной астмы (БА).

Перед началом лечения у всех больных с помощью кожных аллергологических проб доказана сенсибилизация к пыльце полыни и других сорных трав. Кожные пробы проводились с применением диагностических аллергенов для ПРИК-тестирования ФГУП НПО МИКРОГЕН, Ставрополь. АСИТ проводили пероральными аллергенами (“Севафарма”, Чехия), предсезонным методом. Средняя курсовая доза вводимого аллергена составила 80172 PNU. В состав лечебной смеси “Осенняя смесь трав” входят следующие экстракты - полынь горькая (*Artemisia absinthium* L.), полынь обыкновенная (*Artemisia vulgaris* L.), золотарник канадский (*Solidago Canadensis* L.).

Эффективность АСИТ оценивалась по суммарной шкале тяжести симптомов и потребности в фармакотерапии, рассчитанной в баллах (0-3). Оценку проводили по наличию (случайно, часто, постоянно) или отсутствию симптомов заболевания. Результат рассматривался как отличный, когда у больного отсутствовали клинические проявления заболевания, и не было потребности в лекарственных препаратах; хоро-

ший - при возникновении легких клинических признаков болезни, не требовавших частого применения фармакотерапии; удовлетворительный – когда интенсивность симптомов заболевания снижалась, но требовалось частое назначение лекарственных препаратов - более 2-х раз в неделю. При отсутствии эффекта интенсивность симптомов заболевания и потребность в лекарственных препаратах не изменялись.

Результаты. После первого курса АСИТ отличные и хорошие результаты получены у 34,6% пациентов, удовлетворительные - у 54,1% детей и взрослых. В целом по группе отмечено уменьшение шкалы симптомов по сравнению с началом лечения с $13 \pm 4,49$ до $8 \pm 4,17$ баллов ($p=0,0001$), потребности в применении лекарственных средств с $3 \pm 1,76$ до $2 \pm 1,62$ баллов ($p=0,0001$), соответственно. У 11,3% пациентов первый курс АСИТ не привел к положительной динамике симптомов, состояние осталось без значимого эффекта.

После 2 курса АСИТ отличные и хорошие результаты получены у 43,1% пациентов, удовлетворительные – у 47,4% больных. Интенсивность симптомов в сезон пыления по сравнению с первым курсом иммунотерапии уменьшилась до $7 \pm 3,77$ баллов ($p=0,0001$), потребность в лекарственных препаратах не изменилась и составила $2 \pm 1,5$ балла ($p=0,0700$), соответственно. Терапия была не эффективной в 9,5% случаев.

После третьего года проведения АСИТ доля пациентов с отличными и хорошими результатами выросла до 51,4%, у 40,5% отмечены удовлетворительные результаты лечения. Однако, снижение интенсивности и частоты симптомов по сравнению со вторым курсом было незначительным - до $7 \pm 3,44$ баллов ($p=0,6269$), необходимость в применении фармакотерапии составила $2 \pm 1,45$ балла ($p=0,8171$). У 8,1% пациентов, которые получали терапию в течение третьего курса, проведение АСИТ не привело к изменению клинической картины и потребности в лекарственных препаратах.

При сравнении полученных данных с результатами ранее проведенных исследований клинической эффективности АСИТ аллергеном “Осенняя смесь трав” показано, что эффективность АСИТ в Самаре в 2 раза ниже, чем в Пензе – отличные и хорошие результаты по окончании

I курса лечения получены у 34,6% и 84% пациентов, соответственно ($p=0,0001$), после 2 курса АСИТ у 43,2% и 88%, больных, соответственно ($p=0,0001$). Обращает на себя внимание наличие в Самаре высокой доли пациентов с отсутствием эффекта от проводимой иммунотерапии - 11,3%, чего не было зарегистрировано в г. Пензе [3]. Вероятно, это связано с различными аэропаллинологическими характеристиками данных регионов и доминированием в атмосфере г. Пензы в летне-осенний период пыльцы полыни, в то время как в Самаре лидирующее положение в рейтинге источников формирования “пыльцевого дождя” занимают пыльцевые зерна амброзии. Пыльцевые зерна полыни находятся лишь на 13 месте в данном рейтинге [4,5,6].

Выводы. АСИТ аллергеном “Осенняя смесь трав” (“Севафарма”, Чехия) позволяет достигнуть хороших и отличных результатов лечения. Эффективность терапии зависит от наличия в лечебной смеси аллергена, доминирующего в аэропаллинологических характеристиках региона.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision / J. L. Brozek [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2010 Sep. – Vol. 126. – No 3. – P. 466–476.
2. Павлова К.С., Курбачева О.М. Клинико-экономический анализ терапии больных поллинозом. Проблемы стандартизации в здравоохранении, 2005, №4, с. 47-55.
3. Манжос М.В., Феденко Е.С., Мягкова М.А. и др. Клинико-иммунологическая оценка эффективности различных схем сублингвальной аллерген-специфической иммунотерапии при поллинозе. Российский аллергологический журнал, 2008, №3, с. 27-31.
4. Манжос М.В., Рыжкин Д.В., Желтикова Т.М. Особенности течения поллиноза и аэропаллинологическая характеристика в г. Пензе. Аллергология, 2004, №2, с. 29 – 33.
5. Власова Н.В., Кавеленова Л.М., Манжос М.В., Блащенко К.В. К первичным результатам палино-экологического мониторинга атмосферного воздуха г. Самары. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т. 15. №3-6. С. 1745-1748.
6. Брагина О.М., Власов Н.В., Кавеленова Л.М. и др. О рейтинговой оценке участия древесных растений в формировании пула аэрозольных загрязнителей в воздухе урбосреды. Известия Самарского научного центра РАН, 2016, том 18, №2(2), с. 309-312.

ЭТИОЛОГИЧЕСКИЙ СПЕКТР ПЫЛЬЦЕВОЙ АЛЛЕРГИИ В РЕСПУБЛИКЕ ДАГЕСТАН

Халимова З.А., Агаева Э.Н.

ООО «Целитель», г. Махачкала, Республика Дагестан (РД).

ETIOLOGICAL SPECTRUM OF POLLEN ALLERGY IN DAGESTAN REPUBLIC

Khalimova Z.A., Agaeva A.E.N.

ООО «Celitel», Makhachkala city, Dagestan Republic (DR)

Аллергические заболевания занимают лидирующую позицию в структуре заболеваемости во всем мире и характеризуются неуклонным ростом распространенности и нарастанием тяжести течения (1,5). При этом пыльцевая аллергия – массовое сезонное заболевание, вызываемое пылью различных растений, – занимает от 6 до 39% в структуре аллергической патологии. На территории Российской Федерации частота встречаемости поллиноза колеблется в пределах 10-20%, а в некоторых регионах до 80% от всех аллергических заболеваний (3,4). Дебют поллиноза чаще всего выявляется в первой половине жизни и, начинается с легких проявлений ринита и/или конъюнктивита, имеет тенденцию к утяжелению аллергических проявлений. Около 70% больных с течением времени отмечают усиление выраженности симптомов заболевания и повышение потребности в медикаментах (2,8). У 40% увеличение продолжительности сезона обострения или к круглогодичному течению заболевания, у 25-30 % присоединении кашля, или удушья, у 50 – 90 % больных аллергический ринит (АР) сочетается с аллергическим конъюнктивитом (АК) (2,5,6,7).

Распространенность поллиноза во многом определяется различными климатогеографическими факторами, которые влияют на время, продолжительность и интенсивность цветения аллергенных растений, а также на содержание пыльцы в атмосферном воздухе (3,4). РД расположена в восточной части Кавказа, вдоль побережья Каспийского моря. 2/3 территории РД расположены на высоте от 2000 до 4500 м. Дагестан отличается разнообразием климатических поясов: субтропические леса, пустыни, полупустыни, высокогорные тундры и ледники. Лес-

ные массивы из дуба, граба, бука, а также березы и сосны расположены на высоте от 500-600м до 1500-1600 м. На плато горного Дагестана и на северных склонах хребтов простираются горные степи, лугостепи, переходящие в субальпийские и альпийские луга.

Цель: сравнительное изучение клинических проявлений и этиологического спектра аллергенов у больных поллинозом среди городских и сельских жителей РД.

Материал и методы: проведено обследование по обращаемости в ООО «Целитель» г. Махачкалы, больных с диагнозом поллиноз (631 человек) с 2012 по 2016 гг. Из них – 52 % мужчин, в возрасте (16-62 года), женщин- 48 % (от 18 – 56 лет), соответственно. % сельских жителей составило – 16,2 %, городских – 83,8 %. Аллергологическое обследование включало сбор аллергологического анамнеза, постановки кожных проб с пыльцевыми аллергенами, клиническую диагностику осуществляли в соответствии с международными рекомендациями.

Использован метод прик-тест со стандартными наборами пыльцевых аллергенов производства ФГУП «Аллерген» г. Ставрополь. Статистический анализ проведен при помощи пакета IBO SPSS statistics. Для оценки связей между различными показателями и заболеваемостью поллинозом использовался метод сопряженности.

Результаты: среди обследованных пациентов у 16% выявлены признаки, характерные для сезонного аллергического ринита (САР) и 80 % - сочетание АР и АК, 4 %- сочетание АР, АК и бронхиальной астмы (БА). Данные близки к результатам эпидемиологических исследований в различных регионах России (5). По РД, по обращаемости пациентов с поллинозом, выявлены

3 периода пыления растений и, соответственно обострения заболевания. 1 период - с конца марта и до конца апреля, 2-й период - с середины мая и до конца июня, и 3-й период - с июля и до середины ноября, соответственно которому составлен календарь цветения растений в РД.

Кожное тестирование проводилось с 25 пылевыми аллергенами, представленными аллергенами деревьев, злаковых растений и луговых трав. По результатам кожных скарификационных проб у больных выявлено преобладание сенсибилизации у 59 % больных к пыльце злаков: ежа (68,1%), овсяница (42,2%), костер (38,8%), мятлик (31%), рожь (44,2%), кукуруза (38,2 %), подсолнечник (17,3%). У 40% больных выявлена сенсибилизация к аллергенам луговых трав: полыни (52,8%), амброзии (49,2 %), циклохены (38,8%) ,конопли (3,7%). 4 % больных выявили сенсибилизацию к аллергену орешника (2,8%) и березы (1,2%). Все данные представлены в таблице №1.

Наряду с оценкой общей частоты сенсибилизации к пылевым аллергенам нами было проведено сравнение показателей заболеваемости среди городского населения (ГН) (88%) и населения сельской местности (СН) (12%). При сравнительном анализе клинических проявлений и этиологического спектра аллергенов среди городского и сельского населения следует учитывать, что в РД преобладают субальпийские и альпийские луга, где растительность представлена преимущественно злаками (ежа сборная, костер, овсяница, тимopheевка). Из обследованных 563 респондентов, имеющих подтвержденный диагноз поллиноза преобладают представители ГН (76,2%).

При этом полисенсибилизация к аллергенам злаковых и луговых трав отмечено у 27 % больных. Преобладание сенсибилизация к пыльце трав объясняется широким распространением злаковых трав на территории РД, их видовым многообразием и общностью пылевых антигенов среди различных видов (1). Протяженная степная зона на территории РД и определяет высокую сенсибилизацию к сорным растениям (40%), которая представлена полынью, амброзией, лебедой, циклохеной, лебедой и др.

Анализ клинических проявлений поллиноза у ГН и СН показал, что ведущим является сочетание АР+АК (48,9 %) и (40,2%) соответственно. Изолированный АР имел место у 21,2 % у ГН и 20,6% у СН. Сочетание АК+АР+БА выявлено у 12 % больных ГН и 11,8 % больных СН. Сравнитель-

ный анализ клинических проявлений поллиноза не выявил существенных различий между городскими и сельскими жителями. 70,6 % от числа обследованных страдали поллинозом от 1 до 10 лет, причем наиболее часто (52,1 %) с клиническими проявлениями поллиноза обращаются пациенты в возрасте от 12 до 33 лет (56 %).

Выводы: впервые получены данные об аллергеном спектре у больных поллинозом в РД. Среди причинно-значимых аллергенов в РД наиболее частот выступает пыльца злаковых трав: ежа, райграс, овсяница, костер, рожь, лисохвост, тимopheевка, кукуруза и др. Сезон обострения с 10 мая по 20 июня.

Луговые травы: полынь, амброзия, циклохена, лебеда, конопля и др. определяют осеннюю сенсибилизацию, которая продолжается с июля - до середины ноября. Как среди городских, так и среди сельских жителей, преобладающим клиническим проявлением поллиноза является сочетание АР и АК. Существенных различий как по клиническим проявлениям поллиноза, так и по спектру виновных аллергенов при сравнении этих 2-х категорий больных не выявлено, кроме того % ГН в 3 раза выше СН.

ЛИТЕРАТУРА:

Богова А.В., Ильина Н.И., Лусс Л.В. Тенденции в изучении эпидемиологии аллергических заболеваний в России за последние 10 лет. Российский аллергологический журнал. 2008, № 6, 314 с.

Вахнина О.А., Фассахов Р.С., Зайнуллина К.С. Этиологический спектр пылевых аллергенов у больных поллинозом в республике Коми. Практическая медицина. 2012, №6, 69-72 с.

Ильина Н.И. Аллергология в различных регионах России по результатам клинко-эпидемиологических исследований. Диссертация д-ра мед. Наук. М., 1996, 225 с.

Павлова К.С., Курбачева О.М. Современные стратегии АСИТ больных поллинозом с гиперчувствительностью к пыльце луговых трав. Российский аллергологический журнал. 2015, №4, 1-9 с.

Хаитов Р.М., Богова А.В., Ильина Н.И. Эпидемиология аллергических заболеваний России. Иммунология, 1998, № 3, 4-9 с.

Desali O.O., Aalunni A.A., Izeh K.R., Olubogo P.O. et al. Prevalence of self reported allergic rhinitis and its relationship with asthma among adult Nigerians. J. Investing Allergol. Clin. Immunol. 2009, Vol. 19, № 6, 474-480 p.

Fanny W.S.KO., Mary J.M., CM Chn., Loletta Kyso. Prevalence of allergic rhinitis and its associated morbidity in adults with asthma a multicentre study. Hong Kong Med. J. 2010, Vol. 16, 304-361 p.

Weinmayr G., Forastiere F., Weilgud S.K. et al. International variation in prevalence of rhinitis and its relationship with sensitization to perennial and seasonal allergens. Eur. Respir. J. 2008, Vol 32, 1250-1261 p.

ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ АПОПТОЗА У БОЛЬНЫХ С ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ 1,2 ТИПА И ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ ВЫСОКОГО ОНКОГЕННОГО РИСКА

Хараева З.Ф., Сижазева О.А.

ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им.Х.М.Бербекова», г.Нальчик

THE FEATURES OF APOPTIC ACTIVITY OF PATIENTS WITH HERPES INFECTIONS (1, 2 TYPES) AND PAPILLOMAVIRUS INFECTION WITH HIGH ONCOGENIC RISK

Kharaeva Z.F., Sizhazheva O.A.

Kabardino-Balkarian State University Berbekov's named, Nalchik

В современной медицине особую значимость имеет факт обнаружения роли интегративных вирусов, вызывающих хронические инфекции (герпетическая и папилломавирусная инфекции) в онкогенезе. Наиболее существенная роль в его развитии отводится вирусу папилломы человека (HPV, ВПЧ) 16 и 18 серотипов, являющихся вероятной причиной возникновения рака шейки матки в 41% и 16% случаев соответственно, к высокоонкогенным серотипам относятся также ВПЧ 18, 31, 35, 58 серотипы [1,2]. Вирусы способны оказывать иммуносупрессивное действие, направленность которого может быть связана как с клеточным иммунитетом, так и с нарушением синтеза цитокинов и снижением апоптической активности зараженных клеток [3,4]. Особенно актуальной является проблема развития процесса вирогения в случае таких хронических вирусных инфекций как вирусные гепатиты В, С, папилломавирусные, герпетические инфекции, когда, несмотря на отсутствие активной репликации вируса, клетки макроорганизма «заражены» геном вируса [2]. Перспективной задачей современной иммунологии является поиск путей модуляции механизма работы клеток в направлении регуляции апоптоза [1]. Однако, первоначальной задачей является определение особенностей цитокинов и их лигандов, задействованных в регуляции процессов апоптоза.

Целью исследования было изучение особен-

ностей иммуноцитокинного профиля крови пациентов с герпетической и папилломавирусной инфекцией.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 70 пациентов с хронической рецидивирующей генитальной герпес-вирусной инфекцией (ВПГ-1,2). Критериями выбора пациентов для обследования являлись: 1) наличие различной частоты рецидивов генитального герпеса – от 2 до 12 и более раз в год; 2) продолжительность генитальной герпес-вирусной инфекции более одного года; 3) обследование в фазе обострения процесса или в периоде продромы, не более 48 часов от момента появления высыпаний; 4) отсутствие приема иммуномодулирующей терапии в течение последних 3 месяцев. Диагноз ВПГ-1,2 верифицирован на основании клинической картины и данных лабораторного обследования, согласно рекомендациям 5-го международного форума (ИНМФ-1997) по диагностике генитального герпеса. По тяжести клинического течения ВПГ-1,2 инфекции легкая форма (1-2 рецидива в год) диагностирована у 10 пациентов (22,5 %) исследуемой группы, средняя (3-5 рецидива в год) - у 40 (70,83 %), тяжелая (6-12 и более рецидивов в год) - у 20 (6,67 %).

Помимо пациентов с герпетической инфекцией под наблюдением находились больные с папилломавирусной инфекцией (ВПЧ высокого онкогенного риска, 16, 18 типы) (94 человека, из них

16 мужчин, 78 женщин в возрасте от 19 до 44 лет). У пациентов ВПЧ-инфекция подтверждалась ПЦР-анализом. Цитологические изменения при кольпоскопии у женщин с ВПЧ высокого онкогенного риска (койлоцитарная атипия, наличие в мазках двухъядерных и многоядерных клеток, амфилия цитоплазмы и пр.) были обнаружены у 48 пациенток. Анализ ранее проводимой терапии обследованных пациентов показал, что 48,3% пациентов комплексную терапию не получали.

Оценку содержания сывороточного растворимого Fas-рецептора (sFas) проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартной тест-системы human sAPO-1/Fas ELISA BMS245 (Bender MedSystems). Определение уровня TRAIL в сыворотке крови также проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартной тест-системы human TRAIL ELISA (Biosource). Исследование уровня фактора некроза опухоли α (ФНО α) в сыворотке крови пациентов проводили с помощью тест-системы «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург, Россия). Все пробы исследовались в динамике (в течение 30 дней): с момента поступления в стационар (или рецидива инфекции) и спустя месяц после проводимой комплексной терапии (с подключением ациклических нуклеозидов и иммуномодуляторов - препараты интерферонов, индукторы интерферонов).

Статистическую обработку и расчет корреляционного коэффициента проводили с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. Для оценки активности апоптоза были исследованы ФНО-зависимые лиганды TRAIL, sFas, ФНО- α у пациентов с хроническими герпетическими инфекциями (ВПГ-1,2), папилломавирусной инфекцией высокого онкогенного риска.

У пациентов с ВПГ 1,2- инфекцией отмечалось повышение уровня sFas в момент рецидива при легкой степени на 42%, средней степени тяжести на 35%, тяжелой степени на 26%. При ВПЧ-16,18 типа sFas в момент рецидива снижен на 22% по сравнению с донорской группой. Через 30 суток с момента лечения изменений не отмечалось. Сниженное количество sFas приводит к уменьшению возможности клетки запустить апоптоз и, таким образом, увеличению способности к персистенции интегративных вирусов. Возможно, одним

из механизмов антиапоптотической активности является описанная в литературе способность папилломавирусов взаимодействовать с геном p53 и подавлять транскрипционную активность белков, входящих в состав Fas.

Сывороточные концентрации TRAIL в изученных группах пациентов с герпетической и папилломавирусной инфекцией оказались достоверно ниже показателей доноров ($p < 0,001$). Обращают на себя внимание выявленная тенденция к снижению TRAIL в сыворотке крови в случаях с более тяжелым течением инфекционного процесса. Резко сниженные показатели у пациентов с ВПЧ высокого онкогенного риска приводят к заключению о том, что отсутствие TRAIL-рецепторного апоптоза может быть одной из причин онкогенеза.

Уровень ФНО- α в момент рецидива герпетической инфекции значительно повышался, сохраняясь высоким через 30 суток с момента лечения ($p < 0,001$). Значения ФНО- α коррелировали со степенью тяжести заболевания при ВПГ-1,2 типа ($k=0,85$). При ВПЧ высокого онкогенного риска ФНО- α повысился на $90,0 \pm 3,5\%$, достоверного снижения ФНО- α на фоне комплексной противовирусной терапии не зарегистрировано.

Таким образом, среди всех изученных групп пациентов наиболее снижена возможность организма элиминировать интегративный вирус у пациентов с ВПЧ высокого онкогенного риска (16,18 типа), что выявлено по снижению уровню растворимого лиганда к sFas-рецептору и TRAIL. ФНО- α зависимые пути противовирусной защиты активированы во всех исследуемых группах больных с хроническими вирусными инфекциями, при этом уровень ФНО- α коррелирует с тяжестью течения инфекционного процесса, что позволяет использовать его в качестве диагностического критерия при скрытых инфекциях.

ЛИТЕРАТУРА:

- 1 Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Иммунологические проблемы апоптоза/ М.-2002.-327с.
- 2 Новиков В.В., Барышников А.Ю., Караулов А.В. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы// Иммунология.- 2007.-4, С. 249-253.
- 3 Hardwick J.M. Virus-induced apoptosis // Adv. Pharmacol. -2007, v.41, P. 295-336.
- 4 Nasir T., Arora H.S, Kaiser H.E. Apoptosis and pathogenesis of viral hepatitis C-an update in vivo// Curr Gene Ther. -2002.-Vol.14.-P.297-300.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ МЕМБРАННЫХ МАРКЁРОВ В-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ СЕРОПОЗИТИВНОМ ВАРИАНТЕ ТЕЧЕНИЯ СУСТАВНОЙ И ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ФОРМЕ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Харитонов М.В.¹, Сизякина А.П.¹, Соболева Т.Н.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону,

² Министерство здравоохранения Ростовской области Государственное бюджетное учреждение Ростовской области «Областная клиническая больница №2», отделение ревматологии, г. Ростов-на-Дону.

ESPECIALLY THE EXPRESSION OF MEMBRANE MARKERS OF B-LYMPHOCYTES IN SEROPOSITIVE OPTION, THE CURRENT ARTICULAR AND VISCERAL FORM OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Kharitonova M. V.¹, Sizyakina L. P.¹, Soboleva T. N.²

¹ Federal State budget institution of higher education «Rostov State Medical University» of the Russian Federation Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russia;

² The Ministry of health of the Rostov region's State budgetary institution of Rostov region «Regional clinical hospital №2», Department of rheumatology, Rostov-on-don.

Ревматоидный артрит (РА) – хроническое прогрессирующее заболевание, связанное с персистированием аутоиммунного воспаления в синовиальной оболочке и прогрессирующим поражением суставов в виде деструкции хрящевой ткани. [1].

В основе РА лежат сложные нарушения иммунного ответа, вследствие которых развивается самоподдерживающееся хроническое воспаление. Развитие и поддержание воспалительной реакции происходит в результате нарушения скоординированности процессов активации и супрессии иммунокомпетентных клеток. Одним из ключевых моментов в развитии иммунопатогенеза РА отводится роли В-лимфоцитам. Данные клетки характеризуются дефектом процесса толерантности, регулируют активность Т-лимфоцитов, продуцируют цитокины, антитела, в частности аутоантитела, которые, активируя систему комплемента и лимфоциты, индуцируют воспаление и деструкцию тканей организма. [1,3,4].

Целью работы является изучение особенностей иммунофенотипа В-лимфоцитов на разных этапах иммуногенеза, при серопозитивном варианте течения суставной и висцеральной формы

РА.

Материалы и методы. Обследовано 28 пациентов с серопозитивным вариантом суставной и висцеральной формой РА, в стадии обострения, вторая степень активности, медленнопрогрессирующее течение. Средний возраст обследуемых 53±5 года. Диагноз устанавливался на основании диагностических критериев Американской ревматологической ассоциации 1987 года и классификации Ассоциации ревматологов России 2007 года. Пациенты были разделены на две группы по вариантам течения. Первую группу составили 17 больных, с суставной формой течения РА.

Вторую группу - 11 больных с висцеральной формой, находившихся на стационарном лечении в кардиологическом отделении клиники ФГБУ ВО «РосГМУ». Контрольную группу составили 10 практически здоровых доноров в возрасте 40-50 лет.

Фенотипический анализ В-лимфоцитов включал в себя определение экспрессии мембранных антигенов: CD19+CD5+CD45+ (В-1лимфоциты), CD19+CD5-CD45+ (зрелые В-2), CD19+CD45RA+CD27-CD45+ (наивные В-2), CD19+CD45RA-CD27+CD45+ (В-клетки памяти),

CD19+CD23+CD45, CD19+CD25+CD45+ (маркеры ранней активации), CD19+CD40+CD45+, CD19+CD86+CD45+ (ко-стимулирующие молекулы), CD19+An+CD45, CD19+CD95+CD45+ (готовность В-лимфоцитов к апоптозу), а также CD3+CD4+CD40L+CD45+ (лиганд для взаимодействия Т-лимфоцитов с В-клетками), в реакции непрямой иммунофлуоресценции, с учетом результатов на проточном лазерном цитофлуориметре марки «FC 500». Уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G оценивали в реакции радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, (Manchini et al., 1965г.) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле 6000 (ПЭГ) (Гриневиц Ю.А. с соавт., 1981). Математическую обработку полученных данных проводили на ПК Microsoft Windows XP professional, используя программу «Statistica 7.0». Достоверность различий в группах оценивали с помощью непараметрических критериев Манна-Уитни и Вилкоксона. Достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При анализе содержания В-лимфоцитов в группе пациентов с серопозитивным вариантом суставной формы РА по сравнению с группой контроля, выявлено статистически достоверное увеличение популяции В1-лимфоцитов с фенотипом CD19+CD5+CD3-CD45+ ($0,47 \pm 0,08\%$ и $0,12 \pm 0,03\%$), тогда как содержание В2-клеток с иммунофенотипом CD19+CD5-CD3-CD45+ у данных пациентов не отличалось от репрезентативных значений.

При изучении степени зрелости В-клеток, выявлено увеличение количества наивных В2 - клеток с фенотипом CD19+CD45RA+CD27-CD45+ ($7,7 \pm 0,7\%$ и $5,6 \pm 0,46\%$), тогда как клетки памяти CD19+CD45RA-CD27+ CD45+% не отличались от донорских значений.

Процесс активации В2 - лимфоцитов определяется экспрессией мембранных структур, обеспечивающих проведение сигнальных путей для медиаторов, обладающих активирующим воздействием. Анализ активационных маркеров выявил увеличение экспрессии на В2-клетках маркеров ранней CD19+CD23+CD45 ($1,64 \pm 0,2\%$ и $0,91 \pm 0,14\%$), CD19+CD25+CD45+ ($0,5 \pm 0,1\%$ и $0,05 \pm 0,01\%$) активации и молекул адгезии CD19+CD86+CD45+ ($0,70 \pm 0,2\%$ и $0,1 \pm 0,01\%$).

При анализе Т-В-клеточной кооперации осуществляющейся через костимулирующий сигнал и представленный системой CD40L и CD40 при суставной форме серопозитивного РА выявлено увеличение экспрессии костимулирующей молекулы CD19+CD40+CD45+ ($9,3 \pm 0,74\%$ и $7,02$

$\pm 0,42\%$) на В2 лимфоцитах и CD40L лиганда на Т-хелперах CD3+CD4+CD45+ ($0,80 \pm 0,17\%$ и $0,3 \pm 0,05\%$).

При оценке процесса элиминации активированных клеток выявлено увеличение экспрессии рецептора CD19+CD95-CD45+ готовности к апоптозу ($0,80 \pm 0,13\%$ и $0,33 \pm 0,03\%$ соответственно) и количеством апоптотизирующих В-клеток CD19+An+CD45+ ($0,9 \pm 0,10\%$ и $0,50 \pm 0,03\%$) в реакции с анексином -V.

Суммарная интеграция работы В-1и В-2 клеток привела к повышению синтеза сывороточных иммуноглобулинов классов IgA, IgM (IgA $2,3 \pm 0,10$ г\л и $1,13 \pm 0,01$ г\л, IgM- ($1,3 \pm 0,06$ г\л и $1,07 \pm 0,02$ г\л соответственно).

При висцеральной форме серопозитивного варианта течения РА установлено увеличение относительного количества минорной субпопуляции с фенотипом

В1- лимфоцитов CD19+CD5+CD3-CD45+ ($0,6 \pm 0,01\%$ и $0,12 \pm 0,03$ соответственно).

При изучении процессов дифференцировки и созревания В2 - клеток выявлено статистически достоверное увеличение относительного количества зрелых CD19+CD5-CD3-CD45+ ($16,4 \pm 1,2\%$ и $7,9 \pm 0,5\%$ соответственно) и наивных В2 клеток CD19+CD45RA+CD27-CD45+ ($11,8 \pm 0,9\%$ и $5,7 \pm 0,5\%$) по сравнению с группой контроля. Исследование поверхностных маркеров В2 - лимфоцитов ответственных за восприятие и проведение активационных сигналов было выявлено увеличение экспрессии маркеров ранней активации CD19+CD23+CD45+ ($2,9 \pm 0,08\%$ и $0,91 \pm 0,14\%$), CD19+CD25+CD45+ ($1,6 \pm 0,4\%$ и $0,05 \pm 0,01\%$ соответственно). При этом отмечается усилением экспрессии костимулирующей CD19+CD40+ ($19 \pm 1,3\%$ и $7,0 \pm 0,42\%$) молекулы на В-клетках и CD40L ($0,9 \pm 0,2\%$ и $0,3 \pm 0,05\%$ соответственно) лиганда на субпопуляции Т-лимфоцитов с фенотипом CD3+CD4+CD45+.

Процесс удаления активированных клеток при висцеральной форме РА характеризовался усилением экспрессии на В-2 лимфоцитах молекул апоптоза CD19+CD95+CD45+ ($1,1 \pm 0,2\%$ и $0,3 \pm 0,03\%$ соответственно).

В гуморальном звене иммунной системы наблюдается статистически достоверное повышение содержания сывороточных иммуноглобулинов классов IgA ($2,3 \pm 0,1$ г\л и $1,13 \pm 0,01$ г\л) и IgM- ($1,3 \pm 0,08$ г\л и $1,07 \pm 0,02$ г\л), а также количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) $107,5 \pm 11,1$ у.е. (70 ± 10 у.е.), что свидетельствует об активации плазматических клеток.

Таким образом при сравнительном анализе относительного количества и иммунофенотипа

В1 и В2 - лимфоцитов, в группах с различными формами РА установлено, что относительное количество В1-клеток имеет тенденцию к увеличению при висцеральной форме РА. Данные клетки потенциально аутореактивные, обладающие ограниченным репертуаром и низким сродством своих иммуноглобулиновых рецепторов к антигенам, что позволяет им перекрестно реагировать со многими сходными детерминантами. [3,5].

При анализе зрелых и наивных В-2 лимфоцитов выявлено статистически достоверное увеличение их при висцеральной форме РА, что свидетельствует об усилении процессов созревания В-клеток, готовности полноценно распознавать антиген с последующей дифференцировкой их в плазматические клетки и синтез иммуноглобулинов. [2]. Процесс активации В-2 клеток характеризуется усилением экспрессии ранних активационных маркеров, костимулирующей молекулы

и соответствующего лиганда при висцеральной форме серопозитивного РА, что соответствует тяжести заболевания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ревматология. Национальное руководство. Под редакцией Е.Л. Насонова, В.А. Насоновой. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010; 720с.
2. Цинкернагель Р. Основы иммунологии. М.: Мир, 2008; 135с.
3. Насонов Е.Л., ред. Анти-В-клеточная терапия в ревматологии: фокус на ритуксимаб. Монография. М.: ИМА-ПРЕСС; 2012. 344 с.
4. Сизякина Л.П. Критерии прогноза эффективности терапии инфликсимабом пациентов с серопозитивным вариантом суставной формы ревматоидного артрита /Сизякина Л.П., Калашникова Т.А. // Иммунология, аллергология, инфектология. -2011. -№2,- С 20-25.
5. Сидорова Е.А. Королевство В-лимфоцитов/Сидорова Е.А.//Медицинская иммунология.-2004.-Т 6, №3-5.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

Барычева¹ Л.Ю., Хайт² Г.Я., Какулия³ М.Г., Берновская² А.А., Какулия³ Д.М., Хачирова¹ Л.С.

¹ ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Ставрополь.

² АНМО «Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр», г. Ставрополь.

³ ГБУЗ «Ставропольская краевая клиническая больница», Ставрополь.

PATHOGENETIC ROLE PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE DEVELOPMENT OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Barycheva¹ L.Yu., Hajt² G.Ja., Kakulija³ M.G., Bernovskaja² A.A., Kakulija³ D.M., Khachirova L.S.

¹ FGBU VO «Stavropol state medical university» MH RF, Stavropol.

² ANMO «Stavropol Regional Clinical Diagnostic Center», Stavropol.

³ GBUZ «Stavropol Regional Clinical Hospital», Stavropol.

На протяжении последних десятилетий изучение иммунорегуляции воспалительных и дистрофических процессов при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ) остается важной медико-биологической проблемой [1,4,8].

В серии масштабных исследований показано значение ряда цитокинов и факторов роста в развитии глаукомы, установлена их роль в механизмах как нейропротекции, так и нейродегенерации [1,3,4,5,6,7,8].

При анализе цитокинового профиля установ-

лено развитие иммунного ответа по смешанному типу с преобладанием Th1, доказано, что нарушение соотношения Th1/Th2 – клеток способствует развитию глаукомной нейропатии [2,6,8].

Цель исследования: определить патогенетическое значение баланса про- и противовоспалительных цитокинов в развитии первичной открытоугольной глаукомы.

Материалы и методы. В работе представлены данные офтальмологического и иммунологического обследования 70 пациентов (108 глаз) с

ПОУГ I и II стадии и с подозрением на глаукому на одном или обоих глазах. В группу I включены пациенты с подозрением на глаукому – 25 человек (42 глаза), из них 8 человек с подозрением на глаукому одного глаза, 17 человек – на глаукому двух глаз. В группу II вошли больные с начальной стадией ПОУГ – 25 человек (39 глаз), в группу III – пациенты с развитой стадией глаукомы – 20 человек (27 глаз). В контрольную группу включены 22 офтальмологически здоровых человека (44 глаза), сопоставимых по возрасту и полу. Средний возраст в I группе составил $59,86 \pm 2,19$ лет, во II группе – $63,16 \pm 1,72$, в III группе – $66,45 \pm 2,78$ в группе сравнения – $60,05 \pm 2,28$ лет.

Диагноз верифицировали на основании стандартного офтальмологического обследования. Количественное определение цитокинов человека в слезной жидкости (СЖ) пациентов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих тест-систем «Вектор-Бест».

Для статистического анализа данных использовали пакет программ «Primer of Biostat 4,0», Attestat 10.5.1.». Для оценки межгрупповых различий применяли однофакторный дисперсионный анализ, критерии Крускала-Уоллиса, Ньюмена-Кейлса, Данна. Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Корреляционный анализ осуществляли с вычислением коэффициентов линейной корреляции Спирмэна. Анализ качественных признаков выполняли с помощью критерия χ^2 .

Результаты исследования. Интерферон- γ в слезной жидкости определялся у 73,8% пациентов с подозрением на глаукому, у 64,1% – с глаукомой начальной стадии, у 74,1% – с развитой стадией глаукомы. Наиболее высокие показатели (20-50 пг/мл) выявлялись у пациентов групп I и II, что составило 12,9% и 24% соответственно, однако межгрупповых различий зарегистрировано не было.

При определении среднего содержания ИФ- γ в слезной жидкости отмечено достоверное повышение его продукции у пациентов всех групп, с увеличением показателей по отношению к контрольной группе в группе I в 3,2 раза, в группе II – в 3,8 раза, в группе III – в 2,7 раза. Наиболее высокие показатели регистрировались у пациентов с начальными проявлениями глаукомы ($p < 0,05$).

Интерлейкин-1 β в слезной жидкости определялся у 64,3% пациентов с подозрением на глаукому, у 64,1% пациентов с начальной стадией ПОУГ, у 74,1% с развитой стадией ПОУГ. Наиболее высокие значения в пределах 100-200 пг/мл достоверно чаще регистрировались у пациентов с развитой стадией глаукомы (30%) по сравнению с группой I (7,4%, $p < 0,05$) и группой II (16%, $p < 0,05$).

При определении среднего содержания ИЛ-1 β в слезной жидкости установлено повышение показателей у пациентов всех групп по отношению к контрольной группе. Максимальное увеличение уровня ИЛ-1 β в слезной жидкости отмечалось у больных в группах II и III. При этом у пациентов с ПОУГ начальной стадии показатели ИЛ-1 β в СЖ превышали значения в контрольной группе в 4 раза ($p < 0,05$), у пациентов с развитой стадией глаукомы – в 5 раз ($p < 0,05$), с подозрением на глаукому – в 2,6 раза ($p < 0,05$). Характерным было наличие межгрупповых различий в зависимости от степени выраженности патологического процесса. Самые высокие показатели ИЛ-1 β в слезной жидкости отмечались у пациентов группы III ($p < 0,05$).

ФНО- α в слезной жидкости определялся у 66,7% обследуемых с подозрением на глаукому, у 61,5% пациентов с начальной стадией ПОУГ, у 74,1% – с развитой стадией ПОУГ. Максимальные значения (100-200 пг/мл) определялись у 3,6% пациентов в группе I, у 2% – в группе II. В группе III высокие показатели регистрировались у 55% пациентов с достоверными отличиями от групп I и II ($p < 0,05$).

Средний уровень ФНО- α в слезной жидкости повышался у пациентов всех групп. Максимальные показатели ФНО- α в слезной жидкости отмечались в группе III с достоверными отличиями от пациентов групп I и II, $p < 0,05$, минимальные – у пациентов с подозрением на глаукому, $p < 0,05$.

Интерлейкин 17 в слезной жидкости в группе I определялся у 67% больных, в группе II – у 66,7%, в группе III – у 74,1%. При оценке среднего содержания ИЛ-17 отмечена тенденция к его повышению в слезной жидкости у пациентов в группах I и II. Однако статистически значимые отличия от контрольной группы регистрировались только у пациентов с развитой стадией глаукомы, $p < 0,05$.

При исследовании противовоспалительных цитокинов у пациентов с подозрением на глаукому ИЛ-4 в слезной жидкости выявлялся в 88,1% случаев, с начальной стадией ПОУГ – в 79,5% случаев, с развитой стадией ПОУГ – в 85,2%, в контрольной группе – в 13,6% ($p < 0,05$). Анализ среднего содержания ИЛ-4 в слезной жидкости не выявил достоверного увеличения показателей в группах с подозрением на глаукому и начальной стадией глаукомы. Наиболее высокие значения ИЛ-4 в слезной жидкости регистрировались у пациентов с развитой стадией глаукомы с достоверными отличиями от групп I и II ($p < 0,05$).

Интерлейкин-10 в группе I выявлялся у 61,9% пациентов, в группе II – у 58,9%, в группе III – у 70,4%. При оценке среднего содержания ИЛ-10 в слезной жидкости достоверных изменений в группе I зарегистрировано не было. В группах II и III показатели ИЛ-10 увеличивались по сравнению с контрольной группой в 1,6 и 1,5 раза ($p < 0,05$) соответственно.

При анализе клинических изменений в зависимости от иммунологических показателей отмечено, что уменьшение толщины слоя нервных волокон сетчатки и площади нейро-ретиального пояса (НРП) коррелировало с повышением в слезной жидкости содержания ИЛ-1 β , ИФ- γ , ФНО- α , объема НРП – с увеличением уровня ИФ- γ .

Заключение. Таким образом, изменение баланса про- и противовоспалительных цитокинов позволяет сделать вывод о Th1 – поляризации иммунного ответа у пациентов с подозрением на глаукому, начальной и развитой стадиями глаукомы, что согласуется с данными других исследователей [2,6,8]. Увеличение ИЛ-4 и ИЛ-10 в динамике заболевания свидетельствует о переключении Th1 иммунного ответа на Th2 ответ на более поздних этапах развития глаукомного процесса. Синтез ИЛ-4 запаздывает и регистрируется только на развитой стадии глаукомы. Сопряженность дисбаланса цитокинов с развитием первичной открытоугольной глаукомы подтверждается установленной в исследовании корреляционной взаимосвязью показателей оптической когерентной томографии с уровнем провоспалительных цитокинов. Уменьшение толщины слоя нервных волокон сетчатки и площади НРП коррелирует

с повышением в слезной жидкости содержания ИЛ-1 β , ИФ- γ , ФНО- α , объема НРП – с увеличением уровня ИФ- γ . Взаимосвязь цитокиновых нарушений с характерными морфофункциональными изменениями в структурах диска зрительного нерва и волокон сетчатки при ПОУГ позволяет рассматривать их как одно из звеньев патогенеза и свидетельствует об участии иммунных реакций в процессах нейродегенерации.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Слепова О.С., Арапиев М.У., Ловпаче Д.Н. и др. Особенности местного и системного цитокинового статуса у здоровых разного возраста и пациентов с начальной стадией первичной открытоугольной глаукомы. Национальный журнал глаукома, 2016, Т15, №1, С. 3-12.
2. Чередниченко Л.П., Барычева Л.Ю., Берновская А.А. Определение провоспалительных цитокинов в ранней диагностике первичной открытоугольной глаукомы. Российский офтальмологический журнал, 2013, Т.6, №2, С. 82-85.
3. Borkenstein A., Faschinger C., Maier R. et al. Measurement of tumor necrosis factor- α , interleukin-6, Fas ligand, interleukin-1 α , and interleukin-1 β in the aqueous humor of patients with open angle glaucoma using multiplex bead analysis. Mol. Vis., 2013, №19, P. 2306-2311.
4. Cueva Vargas J.L., Belforte N., Di Polo A. The glial cell modulator ibudilast attenuates neuroinflammation and enhances retinal ganglion cell viability in glaucoma through protein kinase A signaling. Neurobiology of Disease, 2016, V.93, P. 156-171.
5. Cueva Vargas J.L., Osswald I., Unsain N. et al. Soluble tumor necrosis factor α promotes retinal ganglion cell death in glaucoma via calcium-permeable AMPA receptor activation. J. Neurosci., 2015, №35, P. 12088-12102.
6. Tezel G. Immune regulation toward immunomodulation for neuroprotection in glaucoma. Curr. Opin. Pharmacol., 2013, №13, P. 23-31.
7. Wilson G.N., Inman D.M., Dengler Crish C.M. et al. Early pro-inflammatory cytokine elevations in the DBA/2J mouse model of glaucoma. Neuroinflammation, 2015, №12, – P. 176
8. Wong M.S., Huang P., Li W. et al. Helper1/T-Helper2 Cytokine Imbalance in the Iris of Patients with Glaucoma. PLoS One. 2015; 10(3): e0122184. Published online 2015 Mar 26. doi: 10.1371/journal.pone.0122184

МАСКИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ АЛЛЕРГИИ. РАЗБОР КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

Хлудова Л.Г. Мясникова Т.Н., Романова Т.С. Латышева Т.В.

ФГБУ «ГНЦ Институт Иммунологии ФМБА России», Москва

MASKS OF DRUG ALLERGY. ANALYSIS OF A CASE REPORT

Khudova L., Myasnikova T., Romanova T., Latysheva T.

National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow

Лекарственная аллергия (ЛА) остается актуальной проблемой современной аллергологии. Развития нежелательной реакции на введение препарата боится врач любого профиля, случаи внезапной смерти после введения лекарственных средств (ЛС) широко освещаются в СМИ, часто под маской «аллергии». Давление на врачей может приводить к избыточной диагностике ЛА, что приводит к негативным последствиям. Гипердиагностика заставляет отклоняться от оптимальных протоколов, а иногда и полностью отказываться от лечения, зачастую приводит к снижению комплаентности и подрывает доверие к традиционной медицине не только у пациента, но и у окружающих его людей. Кроме того, «аллергия на лекарства» может скрывать под собой иную патологию, требующую лечения.

В дифференциальной диагностике ЛА стоит выделить две категории: объективные, поддающиеся регистрации симптомы и субъективные жалобы пациента. Проявления ЛА неспецифичны, поэтому причиной появления типичных симптомов (от кожного зуда и гиперемии до реакций с падением давления или обширными поражениями кожных покровов) в хронологической связи с приемом препаратов могут быть и иные состояния. Причиной немедленных реакций могут быть нарушения пролиферации тучных клеток [1], аллергические заболевания другой этиологии, естественное течение спонтанной крапивницы, типичные побочные эффекты препаратов [2]. Замедленные реакции, в том числе тяжелые, например токсический эпидермальный некролиз, могут иметь вирусную или иную этиологию [3].

Субъективные жалобы пациента и не поддающиеся объективизации симптомы, возникающие после приема препарата, можно разделить на следующие категории: неспецифические симптомы, ошибочно связанные пациентом с приемом ЛС или носящие характер побочного эффекта,

вазо-вагальные реакции на введение препарата, психогенные и истероидные реакции, аггравация и симуляция.

Особенно широко вышеописанные субъективные реакции представлены среди обращений по поводу реакций на местные анестетики (МА), частота которых составляет 15,5% реакций от общего числа реакций непереносимости ЛС [4]. Однако иммунологически опосредованные реакции на МА, то есть ЛА, встречаются редко и составляют не более 1% [5]. При этом замедленные реакции ЛА на МА встречаются чаще немедленных [6]. Таким образом, большая часть обращений с типичными жалобами на «дурноту», тахикардию, головокружение, кратковременную потерю сознания после введения МА, не имеет отношения к проблеме ЛА, а обусловлено психогенными или вазо-вагальными реакциями. Несмотря на это, для полного понимания причин развития подобных реакций, зачастую, необходимо проведение провокационного тестирования в условиях стационара. Для того, чтобы наша позиция была понятна, приводим следующий клинический случай.

Пациентка И, 1988 года рождения, поступила с жалобами на непереносимость местных анестетиков, для проведения провокационного тестирования.

Из анамнеза известно, что до 2012 года местная анестезия лидокаином проводилась без нежелательных реакций. В 2012 году планировалось лечение у стоматолога. Через 2 минуты после введения Убистезина форте (артикаин 40 мг + эпинефрин 10 мкг/мл) возникло сердцебиение, гиперемия лица и шеи, ощущение кома в горле, затруднение дыхания. Применялся нашатырный спирт без эффекта. Внутривенно введен дексаметазон. Через 10-15 минут состояние нормализовалось, однако в течение месяца после манипуляции беспокоили приступы сердцебиения

и головокружения. Пациентка консультирована кардиологом, неврологом – патологии не выявлено.

После этого у пациентки неоднократно развивались подобные реакции: в 2013 году на введение Убистезина форте, в 2014 году после того, как пациентка произвела инъекцию раствора глюкозы и аскорбиновой кислоты (работала медицинской сестрой в процедурном кабинете), затем при введении тампона с тетракаином у оториноларинголога (на сроке беременности 20 недель). Каждый раз реакции купировались парентеральным введением дексаметазона.

После этого МА не вводились, лечение зубов у стоматолога без местной анестезии. Медицинской документации о перенесенных реакциях не предоставлено.

Также выявлено, что, после употребления красного вина, кофе отмечались подобные, несколько менее тяжелые, реакции, которые купировались самостоятельно.

При амбулаторном обследовании данных за патологию щитовидной железы не получено.

При аллергологическом обследовании выявлена латентная сенсibilизация к аллергенам сложноцветных.

Проведены провокационные дозируемые тесты (ПДТ) со следующими ЛС: placebo, Прокаин 5 мг/мл, Артикаин 40 мг/мл + Эпинефрин 10 мкг/мл (Убистезин форте), Мепивакаин 30 мг/мл с введением препаратов в полной терапевтической дозе - отрицательные

Обращало на себя внимание, что уже после введения плацебо пациентка отмечала зуд кожи, ощущение заложенности в грудной клетке, сердцебиение, которые прошли самостоятельно.

В последний день госпитализации проводился ПДТ с лидокаином. Через 5 минут после в/м введения 1,0 мл 2% р-ра. Лидокаина жалобы на боли в грудной клетке, удушье, генерализованный тремор, психоэмоциональное возбуждение. Объективно: кожные покровы чистые, в области инъекции лидокаина без особенностей. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет. Тоны сердца ясные, ритм правильный, тахикардия до 100 в минуту, АД 160/80 мм рт.ст. Пациентка утверждает, что у нее «аллергическая реакция, которая купируется только дексаметазоном». Вызван дежурный реаниматолог, на месте выполнена ЭКГ (синусовая тахикардия), установлен периферический катетер, начато медленное капельное введение NaCl 0,9%. На этом фоне АД снизилось до 120/70 мм. рт. ст., купировался тремор. В связи с жалобами на дурноту пациентка остается на кушетке в процедурном кабинете.

Через 30 минут после введения препарата вновь жалобы на удушье, генерализованный тремор, чувство страха. При осмотре состояние без динамики, контакт с пациенткой несколько затруднен, на вопросы отвечает с задержкой, неохотно. Больная вновь напоминает о необходимости введения дексаметазона. Вводится 1,0 мл NaCl 0,9% под видом седативного препарата. Через 5 минут после укола «потеря сознания» - пациентка закрывает глаза, не реагирует на обращенную к ней речь, похлопывание по щекам. Дыхание глубокое замедленное, пульс достаточного наполнения, с тенденцией к тахикардии, АД стабильное. После вдыхания паров нашатырного спирта пациентка открывает глаза, на вопросы не отвечает, но при этом повторно напоминает о необходимости введения дексаметазона. Под видом дексаметазона в/в струйно вводится NaCl 0,9% 2,0 мл, через 5 минут после этого реакция полностью купируется, пациентка идет обедать.

В течение двух часов после реакции сдана сывороточная триптаза – норма. Участие тучных клеток в реакции исключено.

Диагноз при выписке: Латентная сенсibilизация к пыльце сорных трав. Вегето-сосудистая дистония с кризовым течением (паническая атака).

Показано дообследование для выявления этиологии вегетативных кризов у психиатра, невропатолога, эндокринолога. Противопоказаний к введению местных анестетиков со стороны аллергопатологии нет.

Данный пример демонстрирует, что проведение провокационного тестирования возможно только в условиях стационара, что позволяет врачу оценить генез реакции, объективизировать жалобы пациента и избежать ошибочной постановки диагноза ЛА.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Хлудова Л.Г. Мясникова Т.Н., Романова Т.С. Латышева Т.В. Случай системного мастоцитоза в практике врача аллерголога-иммунолога РАЖ 2015;4: 35-38
2. Под редакцией академика РАН и РАМН Р.М. Хаитова. Лекарственная аллергия. Методические рекомендации для врачей. Москва, 2012
3. Paulmann M, Mockenhaupt M. Severe drug-induced skin reactions: clinical features, diagnosis, etiology, and therapy. J Dtsch Dermatol Ges 2015;13:625–645
4. Мясникова Т.Н. Распространенность, особенности клинического течения, диагностика лекарственной непереносимости. Москва, 2004.
5. Finucane, B. T. Allergies to local anesthetic the real truth. Can. J. Anesth. 2006;50: 869–874
6. Boren, E., Teuber, S.S., Naguwa, S.M., Gershwin, M.E. A critical review of local anesthetic sensitivity. Clin Rev Allergy Immunol. 2007;32:119–127.

TLR-ОПОСРЕДОВАННАЯ ВЫРАБОТКА ЦИТОКИНОВ МОНОНУКЛЕАРНЫМИ КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Хорева М.В.¹, Латышева Т.В.², Смирнова А.Д.¹, Грачева Л.А.³, Бологов А.А.³, Захаров М.В.³

¹ ФГБОУ ВО РНИМУ им Н.И.Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА, Москва, Россия;

³ ФГБУ «РАКБ» Минздрава России, Москва, Россия

TLR-MEDIATED CYTOKINE PRODUCTION BY PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS IN ASTHMATIC PATIENTS

Khoreva M.V.¹, Latisheva T.V.², Smirnova A.D.¹, Gracheva L.V.³, Bologov A.A.³, Zakharov M.V.³

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

² National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

³ Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia

Тoll-подобные рецепторы (TLRs) являются рецепторами врожденного иммунитета и играют ключевую роль в защите организма от патогенов, распознавая консервативные структуры микроорганизмов, так называемые PAMP (патоген-ассоциированные молекулярные паттерны). При распознавании лигандов TLRs происходит запуск каскада сигнальных молекул, в результате которого экспрессируются гены про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов, костимуляторных молекул. На протяжении последних лет активно изучается роль TLRs в патогенезе различных заболеваний, в том числе бронхиальной астмы (БА) [1]. Одним из механизмов развития бронхиальной астмы является дисбаланс Т-хелперов 1-го типа (Th1) и Т-хелперов 2-го типа (Th2), про- и противовоспалительных цитокинов. Известно, что TLRs могут участвовать в регуляции дифференцировки Th, действие лигандов TLRs в раннем возрасте индуцирует созревание Th1, снижая Th2-зависимый ответ. Показано, что некоторые аллергены могут содержать в своем составе такие широко распространенные лиганды TLRs, как ЛПС или β -глюканы, кроме того, не-

которые аллергены (например, аллергены клещей домашней пыли) способны непосредственно индуцировать TLR-зависимый сигнальный путь [2]. Таким образом, действие аллергенов может приводить к усиленной выработке цитокинов, развитию хронического воспаления, и усугублять течение бронхиальной астмы. Целью данного исследования является определение опосредованной лигандами TLRs выработки про- и противовоспалительных цитокинов МНК периферической крови больных БА.

Материалы и методы. Группу обследуемых составили 36 больных бронхиальной астмой в возрасте 18-45 лет. Пациенты были разделены на группы: I группа – пациенты с atopической бронхиальной астмой (n=23), среди них у 12 больных – легкая степень, у 11 – средняя степень тяжести заболевания; II группа – 13 пациентов со смешанной формой бронхиальной астмы средней степени тяжести. Все обследуемые наблюдались в отделении иммунопатологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России. Диагноз устанавливался в соответствии с критериями GINA (2016). Критериями включения в исследование

являлся установленный диагноз бронхиальной астмы, отказ от приема системных глюкокортикостероидов минимум за 4 недели до забора крови для проведения исследования, отсутствие хронических заболеваний в анамнезе. Контрольную группу составили 20 здоровых доноров в возрасте от 18 до 47 лет.

Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли из гепаринизированной периферической крови (25 ед/1 мл крови) здоровых доноров и больных БА в одноступенчатом градиенте плотности фикоколл-урографина (1,077 г/см³). Полученные клетки культивировали в среде PRMI-1640 (HyClone) с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки (Sigma), 100 мкг/мл гентамицина и 2 mM-глутамин (Sigma) в течение 24 часов в CO₂-инкубаторе. Рабочая концентрация клеток составила 1×10^6 в мл. В качестве лигандов TLR использовали ЛПС (*E. Coli* 0111:B4, Sigma) в дозе 0,1 мкг/мл, ПГ (*Staphylococcus aureus*, InvivoGen) в дозе 2,5 мкг/мл, действующие через TLR4 и TLR2 соответственно. Контролем служили МНК, культивированные только в среде RPMI 1640. Полученные супернатанты хранили в течение 2-3 месяцев при -70°C.

Концентрацию ФНО α , ИЛ-18, ИЛ-10 и ИЛ-33 в супернатантах МНК определяли с помощью иммуноферментного анализа, использовали коммерческие наборы фирмы «e-Biosciences». При обработке результатов пользовались программным обеспечением STATISTICA 6.0. Данные выражали в виде медианы (Me) и 25-75 перцентилей. Для оценки статистической значимости использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Уровень достоверности считали значимым при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Для определения TLR-опосредованной выработки цитокинов МНК больных БА и здоровых доноров стимулировали агонистами TLR2 и TLR4, ПГ и ЛПС, соответственно. На первом этапе оценивали TLR2- и TLR4-опосредованную выработку ФНО α у больных БА. ФНО α является одним из наиболее важных провоспалительных цитокинов. Известно, что ФНО α действует на гладкие мышцы дыхательных путей, увеличивая сократительный ответ, и может принимать участие в развитии астмы. В ряде работ было показано, что в плазме больных БА повышено содержание ФНО α [3,4].

Выявили, что спонтанная продукция ФНО α МНК периферической крови в группе больных atopической БА составила 615,21 (390,71-916,29) пг/мл, в группе больных смешанной БА - 677,5 (408,57-859) пг/мл, что статистически достоверно выше, чем у здоровых доноров (103,51 (59-312) пг/мл). Наибольшее увеличение концентрации ФНО α во всех группах наблюдалось при стимуляции ПГ. В результате проведенных исследований установили, что при стимуляции ПГ концентрация ФНО α достоверно выше у больных atopической БА средней степени тяжести - 2628,42 (2116-3068,6) пг/мл, чем у больных с легким течением заболевания - 1846,14 (1182-2053) пг/мл ($p < 0,05$). Во II группе индуцированная ПГ продукция ФНО α также достоверно выше, чем у здоровых доноров (2654,14 (1982-3628,14) пг/мл и 1081,43 (967,14-1198) пг/мл, соответственно). При использовании ЛПС также наблюдается достоверное увеличение концентрации ФНО α в группах больных atopической БА средней степени тяжести и смешанной БА по сравнению со здоровыми донорами: 2106,1 (1541,43-2845,7) пг/мл, 1989 (1293,6-2294,7) пг/мл и 956 (782,03-1407) пг/мл, соответственно. Повышенная выработка ФНО α под действием лигандов TLR может способствовать развитию стойкого воспалительного процесса у больных БА.

На следующем этапе оценивали стимулированную лигандами TLR2 и TLR4 выработку ИЛ-18 МНК больных БА и здоровых доноров. Спонтанная продукция ИЛ-18 МНК больных atopической и смешанной формами БА была достоверно выше, чем в группе здоровых доноров (292 (277-302) пг/мл, 279,5 (264,5-292) пг/мл и 124,5 (112-132) пг/мл, соответственно), при этом не выявили различий между группами больных.

Стимуляция ЛПС и ПГ МНК периферической крови здоровых доноров и больных БА не приводила к существенным изменениям выработки ИЛ-18, при этом индуцированная продукция ИЛ-18 у больных БА была достоверно выше, чем в группе здоровых доноров. ЛПС-индуцированная продукция ИЛ-18 у здоровых доноров составила 142 (137-152) пг/мл, у больных БА легкой степени тяжести - 304,5 (249,5-334,5) пг/мл, средней степени тяжести - 302 (277-302) пг/мл, у больных смешанной БА - 319,5 (294,5-334,5) пг/мл. ПГ-индуцированная выработка ИЛ-18 МНК здоровых доноров составила 149,5 (132-172) пг/

мл, больных БА легкой степени тяжести - 324,5 (299,5-364,5) пг/мл, средней степени тяжести - 332 (292-352) пг/мл, больных БА смешанного типа - 417 (369,5-432) пг/мл. На экспериментальных мышинных моделях показано, что ИЛ-18 может усиливать выработку цитокинов Th2, индуцируя синтез IgE и таким образом участвовать в развитии аллергического воспаления [5].

В исследованиях последних лет показано, что ИЛ-33 играет важную роль в развитии аллергических заболеваний. ИЛ-33 - мультифункциональный цитокин, он активирует как гемопоэтические клетки (НК-, НКТ-клетки, Т-лимфоциты и др.), так и клетки негемопоэтического происхождения. Впервые ИЛ-33 был обнаружен в эпителии бронхов и дыхательных путей, фибробластах и гладкомышечных клетках, что указывало на роль этого цитокина в регуляции защиты слизистых оболочек [6]. У больных бронхиальной астмой была обнаружена высокая экспрессия ИЛ-33 в легочной ткани [7]. Мы не выявили повышения спонтанной продукции ИЛ-33 МНК периферической крови больных БА. Стимуляция лигандами TLR2 и TLR4 также не приводила к достоверному увеличению выработки ИЛ-33 МНК больных БА по сравнению со здоровыми донорами. Возможно, повышение концентрации ИЛ-33 у больных с аллергопатологией обусловлено продукцией этого цитокина клетками эпителия дыхательных путей.

Оценивали спонтанную и индуцированную продукцию ИЛ-10 МНК больных БА и здоровых доноров. ИЛ-10 является противовоспалительным цитокином, может регулировать баланс цитокинов Th1/Th2 типа и направлять дифференцировку Th в сторону Th2 типа, усиливая аллергическое воспаление [8]. Выявили, что спонтанная выработка ИЛ-10 МНК достоверно повышена у больных атопической БА средней степени тяжести по сравнению со здоровыми донорами - 129,3 (61,58-201,48) пг/мл и 45,20 (33,16-84,5) пг/мл. Под действием ЛПС у больных атопической БА легкого течения концентрация ИЛ-10 составила 310,38 (195,18-353,8) пг/мл, среднего течения - 320,48 (300,9-491,3) пг/мл, а у здоровых доноров 78,03 (42,32-146,6) пг/мл. Таким образом, мы установили, что в группе больных атопической БА как легкого, так и среднего течения концентрация ИЛ-10 под действием ЛПС статисти-

чески достоверно повысилась по сравнению со здоровыми донорами. У больных II группы не выявили достоверного увеличения индуцированной ЛПС выработки ИЛ-10 МНК. Действие ПГ приводило к увеличению продукции ИЛ-10 МНК периферической крови больных БА по сравнению с группой здоровых доноров, однако выявленные изменения не были статистически достоверными.

Таким образом, у больных атопической и смешанной формами БА выявили TLR2 и TLR4-опосредованное повышение продукции ФНО α , ИЛ-18 и ИЛ-10. Повышение TLR-опосредованной выработки цитокинов у больных БА свидетельствует об увеличении функциональной активности TLR2 и TLR4 и вовлечении этих рецепторов в иммунопатогенез бронхиальной астмы, что в дальнейшем может определять восприимчивость больных БА к инфекционным агентам. Изменение функциональной активности TLRs может объяснять предрасположенность больных БА к развитию осложнений, а TLRs - служить новой мишенью для терапевтического воздействия.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bauer S. et al. Immunobiology of toll-like receptors in allergic disease. *Immunobiology* (2007) 212(6):521-533.
2. Bezemer GF, et al: Dual role of toll-like receptors in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev* (2012) 64(2):337-358.
3. Kalinina EP, et al: The mechanisms of the regulation of immune response in patients with comorbidity of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Can Respir J* (2016) 2016(4503267).
4. Huang AX, et al: Plasma inflammatory cytokine il-4, il-8, il-10, and tnf- α levels correlate with pulmonary function in patients with asthma-chronic obstructive pulmonary disease (copd) overlap syndrome. *Med Sci Monit* (2016) 22(2800-2808).
5. Xu MH, et al.: Association of interleukin-18 and asthma. *Inflammation* (2017) 40(1):324-327.
6. Wood IS, et al: Il-33, a recently identified interleukin-1 gene family member, is expressed in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* (2009) 384(1):105-109.
7. Byers DE, et al: Long-term il-33-producing epithelial progenitor cells in chronic obstructive lung disease. *J Clin Invest* (2013) 123(9):3967-3982.
8. Kobayashi N, et al: Il-10 enhances b-cell ige synthesis by promoting differentiation into plasma cells, a process that is inhibited by cd27/cd70 interaction. *Clin Exp Immunol* (2002) 129(3):446-452.

ИЗМЕНЕНИЕ БАЛАНСА СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ХЕЛПЕРОВ ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ ГЛАУКОМНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ

Хохлова А.С., Догадова Л.П., Филина Н.В., Овчинникова О.В., Купчина Е.А., Иванис В.А
ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, г. Владивосток.

THE BALANCE OF T—HELPERS SUBPOPULATIONS IN THE PROGRESSION OF GLAUCOMATOUS OPTIC NEUROPATHY

Khokhlova A., Dogadova L., Filina N., Ovchinnikova O., Kupchina E., Ivanis V.
Far eastern State Medical University of the Ministry of Health of Russia

Результаты многоцентровых эпидемиологических исследований, проведенных в последнее десятилетие в разных странах, свидетельствуют о значительном росте заболеваемости первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ). По расчетным данным к 2030 году число больных глаукомой может увеличиться в 2 раза, и, оставит около 140 млн. человек [1]. С возрастом число больных увеличивается от 0,1-1,5% в 40-45 лет до 10-14% в 75 лет и выше [8]. Глаукомная оптическая нейропатия (ГОН) – основное проявление ПОУГ, мультифакториальный синдром, ведущий к необратимой потере зрения. Иммунная теория развития ПОУГ занимает, на сегодняшний день, одно из ведущих мест, наряду с сосудистой, механической и метаболической теорией. Но, подавляющее большинство работ носит характер одномоментной выборки, оценивается несколько гуморальных медиаторов и не прослеживаются взаимосвязи клеточных и гуморальных факторов [2,5]. Малоизученной при ПОУГ остается система Т-хелперов (Th), которая играет важную роль в понимании патогенеза заболевания. Т-лимфоциты-хелперы 1-го типа продуцируют гамма-интерферон, ИЛ-2 и ФНО-альфа, активируют макрофаги, НК-клетки, созревание цитотоксических Т-лимфоцитов-киллеров, обеспечивая преимущественное развитие клеточного иммунного ответа. Т-лимфоциты 2-го типа

продуцируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10 и ИЛ-13, которые отвечают за развитие гуморального ответа, в том числе, за продукцию IgE. Гамма-интерферон подавляет функционирование Th 2-го типа. Со своей стороны, Th 2-го типа могут продуцировать ИЛ-10, который является супрессивным интерлейкином и подавляет функцию Th 1-го типа. Доказано, что функция Th1 преобладает при развитии множественного (рассеянного) склероза, инсулинозависимого сахарного диабета, аутоиммунного тиреоидита, болезни Крона, а функция Th2 преобладает при трансплантационной толерантности, идиопатическом легочном фиброзе, прогрессирующем системном склерозе, при аллергической патологии [8]. Субпопуляция Th17 продуцирует активно ИЛ-17, 21,22, что играет роль в поддержании хронического аутоиммунного ответа. Преобладание этой субпопуляции происходит при бронхиальной астме, системной красной волчанке, псориазе [7,8]. Целью нашей работы было выявить взаимное влияние субпопуляций Т-хелперов при прогрессировании ГОН, для дальнейшей разработки таргетной терапии в различных стадиях. Обследованы 133 человека с ПОУГ I-III стадий, из них в возрасте до 59 лет – 32 (24%) человека, старше 60 лет – 101 (76%) человек. Количество пациентов с I стадией составило 39 (29,3%) человек, со II стадией 56 (42,1%) человек и с III стадией – 38 (28,6%) человек. Стадии и обслед-

дования выполнялись согласно «Национального руководства по глаукоме» [1]. В слезной жидкости исследовалась концентрация ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-2, РРИЛ-2, ИЛ-17, IFN-гамма, ИЛ-10, ИЛ-4, TGF-бета1, TGF-бета2, ФНО-альфа, ФНО-бета, методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа, с использованием специфических тест-систем «R&D Diagnostics Inc.» (USA) согласно прилагаемых инструкций. Учет результатов проводили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Расчет количественных параметров проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл или нг/мл.

Анализ провоспалительных цитокинов в слезной жидкости у пациентов с разными стадиями ПОУГ выявил, что содержание ИЛ-1бета наиболее высокое при III стадии ПОУГ (13,20 (3,22; 37,19) пг/мл, $p_{1-3}<0,001$), наименьший уровень зафиксирован у пациентов с I стадией ПОУГ ($p<0,05$). Исследование локальных показателей ИЛ-6 у пациентов с ПОУГ III стадией определило его достоверное повышение по сравнению с I, II стадией и группой контроля ($p<0,05$). При оценке содержания ИЛ-2 выявлено его достоверное увеличение только у пациентов со II стадией ПОУГ (16,19 (8,46; 30,50) пг/мл, $p_{2-3}<0,001$) у пациентов с I и III стадией уровень данного цитокина не отличался от контрольных значений. Одинаковая динамика выявлена по уровню ИЛ-17 и ИЛ-22, их концентрация резко повышалась при I стадии и снижалась при II и III стадиях ПОУГ. При оценке уровня противовоспалительных цитокинов у пациентов с ПОУГ в зависимости от стадии выявлено, что содержание ИЛ-10 достоверно выше у пациентов с I стадией, наименьший уровень зафиксирован у пациентов со II стадией (3,90 (6,3; 14,31) пг/мл, $p_{2-3}>0,05$). При анализе показателей ИЛ-4 у пациентов с ПОУГ III стадии выявлено его достоверное повышение по сравнению с I и II стадиями и группой контроля ($p<0,05$). При оценке показателей ТФРбета1 установлено его достоверное понижение во всех исследуемых группах, причем самое низкое значение выявлено у пациентов с III стадией ПОУГ. Выявлен высокий уровень ТФРбета2 у пациентов с ПОУГ, особенно при III стадии ($p<0,001$).

Таким образом, у пациентов с ПОУГ на I стадии зарегистрирована гиперпродукция ИЛ-17, ИЛ-22

и ИЛ-10, умеренное увеличение ИЛ-1 β , ТФРбета₂ на фоне дефицита ИФНгамма и снижения ТФРбета₁. У этой категории пациентов превалирует гиперактивация Т-хелперов 17 типа. При II стадии ПОУГ отмечено увеличение локального уровня Th 1 маркерного цитокина – ИФН-гамма, повышение содержания ИЛ-1бета, ИЛ-2 и его растворимого рецептора. При II стадии ПОУГ, выявлен Th 1 тип ответа с угнетением противовоспалительной активности клеток врожденного иммунитета. В III стадии ПОУГ зафиксировано нарастание как ранних, так поздних провоспалительных цитокинов – ИЛ-1бета и ИЛ-6, снижение ИЛ-17, ИЛ-22 и ИФНгамма. Выявлено относительное снижение (до референсных величин) локальной концентрации ИЛ-2 и его растворимого рецептора, что может свидетельствовать об истощении их продукции или повышенном образовании соответствующих комплексов.

Локальный профиль цитокинов при ПОУГ отличается выраженным провоспалительным профилем с переключением типов иммунного ответа с Th 17 и Th 2 у пациентов с I стадией ПОУГ на Th 1 при II стадии ПОУГ и Th 2 у пациентов с III стадией ПОУГ. Эти данные позволяют предполагать различные иммунные реакции при развитии ПОУГ, активацию в раннюю стадию аутоиммунных процессов, затем, в развитой стадии – клеточного иммунитета, и, в завершении процесса, гуморального иммунитета при 3 стадии. Полученные результаты могут служить основой диагностики прогрессирования ГОН и таргетной иммунной терапии при различных стадиях ПОУГ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Егоров Е.А. Национальное руководство по глаукоме (путеводитель): руководство для поликлинических врачей / Е.А. Егоров, Ю.С. Астахов, А.Г. Щуко. – М.: «Дом печати». 2015. – 824 с.
2. Куликова И.Г., Слепова О.С., Денисова Е.В. и др.: Цитокины во влаге передней камеры глаза и их роль в развитии системного иммунного ответа на антигены тканей глаза//Медицинская иммунология.—2015.—№2.—С.179-182.
3. Маркелова Е.В., Кириенко А.В., Чикаловец И.В., Догадова Л.П.: Характеристика системы цитокинов и ее роль в патогенезе первичных глауком//Медицинская наука.—2014.—№2. –С.24-28
4. Маркова Е.В., Баранов В.И., Юдина С.М.: Информативность исследования слезной жидкости у пациентов с псевдоэкссудативной глаукомой//Глаукома.—2013.—№2.—С.37-41.
5. Borkenstein A., Faschinger C., Maier R. et al. Measurement of tumor necrosis factor—alpha,

interleukin-6, Fas ligand, interleukin-1 α , and interleukin-1 β in the aqueous humor of patients with open angle glaucoma using multiplex bead analysis//Mol Vis.—2013.—№19.—P.2306-2311.

6. Chidlow G., Wood J., Ebnetter A., Casson R. Interleukin-6 is an efficacious marker of axonal transport disruption during experimental glaucoma and stimulates neuritogenesis in cultured retinal ganglion cells//Neurobiology of Disease.—2012.—№48.—P.568-581.

7. Kuchtey J., Kunkel J., Burgess G. et al. Elevated Transforming Growth Factor b1 in Plasma of Primary Open—Angle Glaucoma Patients// Invest Ophthalmol Vis Sci.—2014.—№55(8).—P.5291-5297.

8. Medeiros F., Zangwill L., Bowd C. et al. The structure and function relationship in glaucoma: implications for detection of progression and measurement of rates of change//Invest Ophthalmol Vis Sci.—2012.—№53(11).—P.6939-6946.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ИЗМЕНЕНИЙ ИММУНИТЕТА ПРИ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

Цигулева О.А., Барсукова Н.И., Обухова Л.Е.

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул

SOME ASPECTS OF CHANGES OF IMMUNITY AT GENITAL ENDOMETRIOSIS

Tsiguleva O.A., Barsukova N.I., Obukhova L.E.

Altai State Medical University, Barnaul

Генитальный (внутренний) эндометриоз – аденомиоз тела матки существенно отличается от наружного эндометриоза. Можно сказать, что это два различных заболевания по патогенезу, эпидемиологии и клинической картине. Аденомиоз встречается у 25% женщин репродуктивного возраста [1]. В структуре причин женского бесплодия аденомиоз занимает второе место после трубного фактора. Аденомиоз характеризуется срывом физиологического взаимодействия между эндометрием и соединительнотканными структурами миометрия, что, в конце концов, приводит к деструкции стромы [2]. В последние годы появилось много сообщений о роли неинфекционных патогенов в развитии деструктивных процессов, в том числе при аденомиозе [1, 2]. Поскольку тенденция к прогрессированию при аденомиозе чрезвычайно выражена, о чем сообщают и другие авторы [3], мы ставили целью изучение иммунных механизмов, способствующих прогрессированию данного заболевания. Одним из секретируемых нейтрофилами в ходе иммунного ответа протеолитических ферментов

является лейкоцитарная эластаза [4]. Лейкоцитарная эластаза (ЛЭ), попадая во внеклеточное пространство (полость матки) расщепляет эластиновые и коллагеновые волокна, выступает в качестве мощного деструктивного фактора. Также нас интересовала роль провоспалительных цитокинов: IL-6, IL-8, TNF- α , INF- γ , поддерживающих уровень воспаления. Известно, что IL-6 регулирует процесс созревания В-клеток и продукцию иммуноглобулинов, участвует в активации Т-лимфоцитов. Также IL-6 регулирует иммунный ответ, являясь регулятором синтеза острофазных белков. Обычно уровень IL-6 коррелирует с показателями С-реактивного белка (СРБ), поскольку IL-6 и СРБ являются производными печени. Индуктором синтеза IL-6 является TNF- α [5]. IL-8 индуцируется макрофагами, его уровень коррелирует с их количеством. Выброс IL-8 растет при воспалении, в том числе неинфекционного характера [5, 6]. INF- γ увеличивает сосудистую проницаемость, экспрессию HLA-антигенов, продукцию простагландинов. Вследствие этого резко увеличивается биологическая активность

веществ, участвующих в развитии и нарастании патологических процессов. ФНО- α оказывает мощное цитотоксическое действие, стимулируя системную реакцию и тканевое повреждение [5, 6]. INF- γ – интерферон, запускающий цепь событий, в ответ на внедрение вирусов. Но не только вирусы гибнут. В ряде случаев запускается гибель собственных клеток организма. Под воздействием большого количества протеинкиназы, вырабатываемой под влиянием INF- γ , активируется синтез рибонуклеаз, расщепляющих РНК-клеток, ведущих к апоптозу. INF- γ , возможно, способствует при аденомиозе разрушению здоровых клеток.

При изменении иммунного ответа идет увеличение активности $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора и СРБ, синтезирующихся в печени. Протеиназный ингибитор ($\alpha 1$ - ПИ) выбран для изучения, как антипротеолитический барьер на пути воспаления, падение уровня которого является неблагоприятным фактором, указывающим на прогрессирование аденомиоза [7]. СРБ в норме в сыворотке крови отсутствует. Главной причиной появления в крови СРБ являются воспалительные реакции. СРБ вступает в преципитацию с антигенами тканей при их некрозе или распаде. Современный метод турбидиметрии гарантирует обнаружение СРБ даже при минимальной степени воспаления. В наше исследование включено 49 пациенток с аденомиозом, в возрасте от 30 до 45 лет. Всем проведено клинко-лабораторное обследование, а также УЗИ органов малого таза, гистероскопия, а при необходимости – гистероэктомия. После гистероэктомии проводилось гистологическое изучение тканей. Контрольную группу составили 30 пациенток той же возрастной группы, которым проведено такое же клинко-лабораторное обследование и гистероскопия, но в связи с другими диагнозами. Клинически оценивали в основной группе болевой синдром и дисменорею по шкале [2] в баллах: 1-3 балла – слабая боль и легкая анемия (Hb-90-110 г/л) – 1 подгруппа (15 пациенток). Выраженная боль и анемия средней степени (Hb – 70-90 г/л) – 4-6 баллов – 2 подгруппа (18 пациенток). Очень сильная боль и тяжелая анемия (< 70 г/л) – 7-9 баллов – 3 подгруппа (16 пациенток). Эндометриоидные кисты также играют роль в прогрессировании

аденомиоза [8]. Гиперпластические процессы в эндометрии выявлены в 1 подгруппе у 3 пациенток, во 2 подгруппе – у 7, в 3 подгруппе – у 13. Такая статистика соответствует более высокому уровню провоспалительных цитокинов у женщин, с наличием эндометриальных узлов. ЛЭ и $\alpha 1$ – ПИ определяли спектрофотометрическим энзиматическим методом в сыворотке крови (ООО «Биофарм-тест»). Уровень цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ЗАО «Вектор-Бест»). ЛЭ в 1 подгруппе составило $258,2 \pm 5,7$ нмоль/(мин • мл). Во 2 подгруппе – $300,7 \pm 1,7$ нмоль/(мин • мл). В 3 подгруппе – $339,5 \pm 9,5$ нмоль/(мин • мл). Контроль – $170,5 \pm 2,7$ нмоль/(мин • мл); $p < 0,001$. $\alpha 1$ – ПИ в 1 подгруппе – $46,2 \pm 0,2$ ИЕ/мл, во 2 подгруппе – $48,2 \pm 1,8$ ИЕ/мл, в 3 подгруппе – $26,0 \pm 0,5$ ИЕ/мл. Контроль $\alpha 1$ – ПИ – $30,5 \pm 0,2$ ИЕ/мл; $p < 0,05$. Увеличение уровня $\alpha 1$ – ПИ направлено на ограничение деструктивных процессов и свидетельствует о сохранности антипротеолитического потенциала. При исследовании очагов аденомиоза выявлены следующие 4 типа изменений эпителия: пролиферация, гиперплазия без атипии, гиперплазия с начинающейся атипией и атрофия. Доказано, что аденомиоз матки морфологически отличается от наружного эндометриоза по экспрессии молекулярных маркеров, высокой активности Е-кадгерина, выраженной экспрессии металлопротеиназ, определяемых иммуногистохимическим методом. Выявлено 2 типа гистологических очагов аденомиоза: активные, с преобладанием стромы и изменением железистого эпителия и неактивные, характеризующиеся атрофией и склерозированной стромой. По видимому, автономный рост очагов аденомиоза, осуществляется через механизм усиленного выброса эстрогенов, по типу аутокринной регуляции [9]. При исследовании иммунных сдвигов методом имунотурбидиметрии СРБ – маркер воспалительного процесса составил в 1 подгруппе пациенток с аденомиозом $3,0 \pm 0,7$ мг/л, во 2 подгруппе – $4,5 \pm 0,5$ мг/л, в 3 подгруппе – $7,1 \pm 1,2$ мг/л. В контроле СРБ составил $1,2 \pm 0,8$ мг/л; $p < 0,001$. СРБ – самый быстрый индикатор повреждения тканей при воспалении. СРБ, как известно, стимулирует иммунные реакции: фагоцитоз, взаимодействие Т- и В-клеток, активирует систему комплемен-

та. Увеличение СРБ на всех стадиях аденомиоза свидетельствует об участии иммунной системы в прогрессировании данного заболевания. Помимо роста СРБ обнаружен высокий уровень цитокинов: IL-6, IL-8, TNF- α , INF- γ . Такой рост провоспалительных цитокинов определялся у женщин с эндометриозом, наряду с подъемом ЛЭ и падением α 1-ПИ. Уровень IL-6 в 1 подгруппе составил $6,4 \pm 0,2$ пкг/мл. Во 2 подгруппе – $7,5 \pm 0,1$ пкг/мл. В 3 подгруппе – $8,7 \pm 0,7$ пкг/мл. Контроль IL-6 – $2,5 \pm 0,1$ пкг/мл; $p < 0,001$. Следовательно, уровень цитокина IL-6 нарастает параллельно степени тяжести клинического процесса. IL-8 в 1 подгруппе составил $5,0 \pm 0,2$ пкг/мл; во 2 подгруппе – $5,5 \pm 0,1$ пкг/мл; в 3 подгруппе – $6,9 \pm 0,1$ пкг/мл. Контроль IL-8 – $4,2 \pm 0,2$ пкг/мл; $p < 0,05$. Таким образом, оба интерлейкина IL-6 и IL-8 задействованы в воспалительном процессе и поддерживают его высокий уровень. Значения TNF- α и INF- γ также превышали допустимую норму. TNF- α в 1 подгруппе составил $8,5 \pm 0,1$ пг/мл, во 2 – $9,5 \pm 0,2$ пг/мл, в 3 – $10,0 \pm 0,9$ пг/мл. Контроль TNF- α – $0,7 \pm 0,02$ пг/мл; $p < 0,001$. Таким образом, TNF- α возрастал параллельно увеличению тканевого повреждения при аденомиозе. INF- γ – интерферон, имеющий достаточно широкую норму: 128 – 256 ЕД/мл, участвует в иммунитете в нескольких направлениях, о которых мы писали ранее. В 1 подгруппе INF- γ находился в пределах нормы – $250 \pm 0,6$ ЕД/мл, во 2 подгруппе – $284,4 \pm 1,4$ ЕД/мл, в 3 подгруппе достигал $311 \pm 1,9$ ЕД/мл. Контроль INF- γ – $140 \pm 12,3$ ЕД/мл; $p < 0,001$.

Проведенным исследованием удалось доказать, что уровень лейкоцитарной эластазы прямо пропорционален клинической тяжести аденомиоза. Подъем IL-6 и IL-8 способствуют распространению эндометриальных узлов при аденомиозе. Уровень TNF- α и INF- γ резко нарастают в зависимости от степени тяжести процесса. Антипролиферативный потенциал (α 1 - ПИ) не в состоянии блокировать воспалительный процесс, при достижении активности в 4 балла и более он становится неэффективным. Назначение гепатопротекторов может быть полезно при лечении аденомиоза на ранних стадиях развития, но это станет дальнейшим этапом нашей работы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы. Изд-е 2-е. – М.: Медицина, 2006. – 416 с.
2. Адамян Л.В., Гаврилов Т.Ю., Степанян А.А., Яровая Г.А. Система протеолиза в генезе аденомиоза // Акушерство и гинекология. – 2005. №5. – С. 22-25.
3. Баскаков В.П., Цевелев Ю.В., Кира Е.В. Эндометриодная болезнь – СПб., 2002. – С. 136-141.
4. Яровая Г.А., Доценко В.Л., Нешкова Е.А. Патогенетическая роль лейкоцитарной эластазы. Новый спектрофотометрический метод ее определения в плазме крови человека // Информационный бюллетень. – М., 1995. – № 1. – С. 16-18.
5. Иммунология / под ред. академика Р.М. Хаитова – М.: Медицина, 2000. – 425 стр.
6. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Дигностическая ценность исследования уровня цитокинов в клинической практике // «Цитокины и воспаление» - СПб., 2003, - Том 2, № 3 – С. 11-21.
7. Berkkanoglu M., Arici A. Immunology and endometriosis // AGRI. – 2003. – Vol. 50. – P. 48-59.
8. Lehnardt S. Innate immunity and Neuroinflammation in the CNS: The Role of Microglia in Toll-Like Receptor-Mediated Neuronal Injury // Glia. – 2010. – Vol. 58, №3. – P. 253-263.
9. Nakatani K., Takeshita S., Tsujimoto H. et al. Inhibitory effect of serrine protease inhibitors on neutrophil-mediated endometrial cell injury // J. Leukoc. Biol. – 2001. – Vol. 69, №2. – P. 241-247.

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У МУЖЧИН С ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНЫМ УРЕТРИТОМ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

Чепурнова Н.С.¹, Маркелова Е.В.¹, Тулупова М.С.², Хамошина М.Б.², Жданова О.Л.³, Иванова И.Е.¹

¹ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владивосток

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации, 690005, Россия, г. Владивосток

³ Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН

CYTOKINE PROFILE IN MEN WITH VIRAL AND BACTERIAL URETHRITIS BEFORE AND AFTER TREATMENT

Chepurnova N.S.¹, Markelova E.V.¹, Tulupova M.S.², Khamoshina M.B.², Zhdanova O.L.³, Ivanova I.E.¹

¹ «Vladivostok State Medical University» of the Russian Federation Ministry of Health, Vladivostok

² «Peoples' Friendship University of Russian Federation», Ministry of Education and Science of the Russian Federation, 690005, Russia, Vladivostok

³ Institute of Automation and Control Processes FEB RAS Primorski krai, Russian Federation.

Анализ структуры ИППП показал, что генитальный герпес наиболее часто сочетается с хламидийной инфекцией, это объясняется общими эпидемиологическими закономерностями, свойственным этим возбудителям ИППП [1]. Многочисленные исследования инфекций мочеполовой сферы посвящены, как правило, вариантам моноинфекций, или в литературе представлены иммунологические особенности и варианты лечения лишь нескольких сочетаний уrogenитальных инфекций [2,3]. В то время как микст-уретритам, особенно хламидийно-герпетической этиологии, посвящено крайне мало работ, которые в полной мере не отражают картину иммунных нарушений и возможности их коррекции у данной категории пациентов. Целью исследования явилось определение уровней ФНО α , ИЛ-2, его растворимого рецептора (ИЛ-s2R) и ИФН γ в сыворотке венозной крови и эякуляте мужчин с уретритом вирусно-бактериальной этиологии до и после лечения.

Материалы и методы. Проведено обследование на инфекции, передающиеся половым путем

(ИППП) 100 мужчин, согласно общепринятым стандартам. У 36 мужчин был выявлен хронический вирусно-бактериальный уретрит (генитальный герпес, хламидиоз), которые и составили основную группу (ОГ) пациентов, средний возраст ОГ – 33,0 $\pm$ 4,2 лет. ОГ была распределена на 3 подгруппы в зависимости от терапии: I группа мужчин (n=12) получала Валациклоvir и Доксициклин (В+Д), II группа мужчин (n=12) получала Валациклоvir, Доксициклин и Ингарон (В+Д+И), III группа мужчин (n=12) – Валациклоvir, Доксициклин и Ронколейкин (В+Д+Р). Валациклоvir назначали перорально в дозе 500 мг 2 раза в день 10 дней, затем 500 мг 1 раз в день 20 дней; Доксициклин – перорально 100 мг 2 раза в день 10 дней; Ингарон – подкожно по 500 тыс. МЕ 1,0 мл 2 раза в неделю, 5 инъекций; Ронколейкин – подкожно 500 тыс. МЕ 1,0 через день, 6 инъекций. Группу сравнения (контрольная группа) составили 30 практически здоровых мужчин-добровольцев, средний возраст - 26,5 $\pm$ 1,1 лет. Определение содержания ФНО α , ИЛ-2, ИЛ-s2R и ИФН γ 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), количество выражали в пикограммах/мл (пг/мл). Исследование эякулята проводили согласно протоколу ВОЗ (5-е изд., 2010). Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATGRAPHICS» методом вариационной статистики с использованием критерия Манна-Уитни (p_u). Уровень статистической значимости, при котором отклонялись нулевые гипотезы, составлял менее $p < 0,05$.

Результаты исследования. Анализ содержания исследуемых цитокинов в сыворотке венозной крови в основной группе пациентов с уретритом вирусно-бактериальной этиологии до лечения показал достоверные изменения уровней ФНО α , ИЛ-2 и ИЛ-2sR. Так, зафиксировано повышение значений ФНО α ($21,02 \pm 4,74$ пг/мл, против $2,62 \pm 0,32$ пг/мл в контроле, $p_u < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Также нами было установлено повышение как уровня ИЛ-2 ($42,84 \pm 5,15$ пг/мл против $11,53 \pm 2,05$ пг/мл в контроле, $p_u < 0,001$), так и его растворимого рецептора ИЛ-s2R ($57,34 \pm 6,78$ пг/мл против $14,08 \pm 1,59$ пг/мл в контроле, $p_u < 0,001$). ИФН γ статистически значимо не изменялся. При исследовании цитокинов в эякуляте мужчин основной группы выявлено, что ФНО α достоверно превышал контрольные значения ($10,37 \pm 3,83$ пг/мл против $2,6 \pm 0,73$ пг/мл, $p_u < 0,001$). Различий значений ИЛ-2 не выявлено, в то время как уровень растворимого рецептора к ИЛ-2 превышал показатели контроля ($p_u < 0,001$). ИФН γ не выходил за пределы референсных величин. После проведенного лечения установлены существенные изменения цитокинового профиля у пациентов основной группы в зависимости от варианта терапии как в сыворотке венозной крови, так и в эякуляте. В сыворотке венозной крови определено снижение уровня ФНО α во всех трех подгруппах, однако наиболее близкие значения к контрольным показателям зафиксированы в подгруппах II ($9,17 \pm 0,76$ пг/мл, $p_u < 0,05$) и III ($8,16 \pm 0,47$ пг/мл, $p_u < 0,05$). Уровень ИЛ-2 также снижался после лечения во всех подгруппах, но в I подгруппе превышал показатели

контроля ($p_u < 0,01$). При этом выявлены достоверные отличия II и III подгрупп ($p_u < 0,05$). После терапии сывороточная концентрация растворимого рецептора к ИЛ-2 также снижалась, однако в подгруппах I и III превышали значения контроля ($p_u < 0,05$). Уровень ИФН γ достоверно не изменялся. В эякуляте после лечения установлено незначительное снижение уровня ФНО α в подгруппе мужчин, получавших стандартную схему ($7,61 \pm 0,38$ пг/мл против $2,62 \pm 0,32$ пг/мл в контроле, $p_u < 0,01$), во II и III подгруппах снижение было более выраженным ($p_u < 0,05$). Изменений концентраций ИЛ-2 выявлено не было. Значения ИЛ-2sR не выходили за пределы контрольных значений во всех подгруппах, однако статистически значимо различались между собой: наиболее высокие показатели зарегистрированы в подгруппе мужчин, получавших рекомбинантный интерлейкин-2 ($0,36 \pm 0,03$ пг/мл, $p_u < 0,05$). Изменений уровня ИФН γ выявлено не было.

Выводы. У пациентов с хроническим вирусно-бактериальным уретритом обосновано применение не только противовирусной и антибактериальной терапии, но и иммуномодулирующих препаратов. Выбор терапии должен быть обусловлен вариантом иммунологических нарушений как на системном, так и на локальном уровнях.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Персистирующие вирусные инфекции: этиология и иммунопатогенез : монография / [Е.В. Маркелова, Л.Ф. Скляр, Е.В. Просекова и др.]; под ред. Е.В. Маркеловой. – Владивосток : Медицина ДВ, 2016. – 160 с.
2. Raphaelidis, L. Screening for Asymptomatic Genital Herpes: Is Serologic Testing Worth It? / L. Raphaelidis // Journal for Nurse Practitioners. – 2014. – V. 10, № 3. – P.194–199.
3. Steben, M. Genital herpes / M. Steben, S.M. Garland / J. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology. – 2014. – V. 28, № 7. – P. 1063–1073.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Чурюкина Э.В., Сизякина Л.П.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», г.Ростов-на-Дону

PATHOGENETIC ASPECTS OF THE FORMATION OF DIFFERENT VARIANTS OF BRONCHIAL ASTHMA

Churyukina E. V., Sizyakina L. P.

State Medical University, Rostov-on-Don

Бронхиальная астма (БА) – чрезвычайно гетерогенное заболевание, что проявляется в многообразии этиологических, триггерных факторов, различных клинико-патогенетических вариантах течения заболевания, вариабельности ответа на проводимую терапию, разных исходах и прогнозах. Такое понимание астмы диктует необходимость персонифицированного подхода к лечению; привело к кластеризации симптомов заболевания и характера воспаления с выделением фенотипов БА. В настоящее время продолжается поиск генетических, биологических, иммунологических маркеров разных фенотипов заболевания, которые могут стать основой для разработки индивидуальной терапии БА. Особый интерес представляет фенотип БА с ожирением, ввиду растущей распространенности [1], доказанного влияния ожирения на гиперреактивность бронхов, функцию внешнего дыхания (ФВД), частоту обострений БА [2], общность некоторых патогенетических провоспалительных механизмов [3].

Цель исследования - выявить механизмы формирования различных вариантов течения БА.

Материалы и методы. В исследовании на основании письменного информированного согласия приняли участие 86 пациентов с БА разной степени тяжести и контроля. Из них 24 мужчин и 62 женщины в возрасте от 26 до 68 лет ($52,2 \pm 1,8$ года). Диагноз БА верифицировали согласно критериям международного консенсуса по вопросам диагностики и лечения БА (GINA, 2015). Ожирение диагностировали с использованием индекса Кетле ($\text{ИК} = \text{масса тела, кг} / \text{рост, м}^2$), коэффициента

централизации жировотложения (КЦЖ), равному отношению окружности талии (ОТ) к обхвату бедер (ОБ). Согласно рекомендациям ВОЗ, абдоминальное ожирение диагностируется у мужчин при $\text{ОТ/ОБ} > 0,9$, у женщин – более 0,8. Первую группу составили больные БА с нормальной массой тела ($\text{ИМТ} = 20,0 - 25,9$; $\text{КЦЖ} = 0,81 \pm 0,1$; $n = 40$), вторую группу – больные БА с ожирением I-III степени ($\text{ИМТ} = 28,0 - 40,9$; $\text{КЦЖ} = 0,92 \pm 0,1$; $n = 46$). У больных с ожирением показатель КЦЖ свидетельствовал об абдоминальном типе ожирения. Группа контроля – 22 здоровых добровольца без патологии органов дыхания, с нормальной массой тела ($\text{ИМТ} = 20,0 - 25,9$; $\text{КЦЖ} = 0,82 \pm 0,1$). Группы были сопоставимы по половым и возрастным признакам. Исследование ФВД проводилось с определением объема форсированного выдоха в 1 сек. (ОФВ1), жизненной емкости легких (ЖЕЛ), форсированных экспираторных потоков (МОС_{25-75}) на аппарате «SPIROSFT-3000» (Funuda Densh Co., Ltd. Japan). Фенотипирование лимфоцитов – с использованием моноклональных антител к поверхностным антигенам CD3^+ , CD4^+ , CD8^+ , CD16^+ , CD19^+ на цитометре «Coulter XL»; содержание иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови определяли по Манчини, интенсивность кислородзависимого метаболизма в — НСТ-тесте. Содержание цитокинов в сыворотке периферической крови ($\text{FNO}\alpha$, IL-6, IL-8), общего IgE, С-реактивного белка (СРБ) – методом иммуноферментного анализа (ИФА). Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ Statistica 7.0. Корреляционные связи определяли с помощью метода

Пирсона.

Результаты. В группе больных с ожирением выявлено увеличение доли с тяжелым течением (12 чел, 26,1%) и недостаточным контролем заболевания (частичный - 28 чел. (60,8%), неконтролируемые - 7 чел (15,3%) в сравнении с группой БА с нормальной массой тела (3 чел, 7,5% - с частичным контролем 18 чел. (45,0%), с неконтролируемым течением - 1 чел. (2,5%). При этом, у пациентов с ожирением изменение ФВД было более выражено по сравнению с больными 1 группы: снижение ОФВ1 ($66,4 \pm 8,8\%$) у больных 2 группы по сравнению с контролем ($84,2 \pm 4,0\%$) составило 28% ($p < 0,05$), у больных 1 группы - на 15% ($73,6 \pm 8,4\%$, $p < 0,05$). Значение показателя МОС75, отражающего проходимость мелких бронхов [4], было снижено во 2 группе на 37% ($p < 0,05$), в 1 группе на 9% ($p < 0,05$) относительно контроля: $56,2 \pm 5,8\%$; $69,4 \pm 5,3\%$; $81,6 \pm 2,1\%$ - соответственно. Анализ лабораторных показателей установил повышение концентрации билирубина ($24,3 \pm 5,3$ мкмоль/л), АлТ ($47,2 \pm 6,4$ У/л), амилазы ($121,4 \pm 7,5$ Ед/л) в сыворотке крови у 19 больных (41,3%) БА с ожирением. Обращало внимание наличие сопутствующей патологии (артериальная гипертензия, сахарный диабет, стеатоз печени, панкреатит), ассоциированной с метаболическим синдромом в группе больных с ожирением (44 чел, 95,6%) в сравнении с 1 группой (9 чел, 22,5%). Содержание СРБ - острофазного белка, синтезируемого печенью в ответ на повреждение тканей или воспаление, было повышено у больных БА с ожирением ($7,54 \pm 1,26$ мг/л) против $2,28 \pm 0,84$ мг/л у здоровых и $4,40 \pm 1,08$ мг/л больных 1 группы. СРБ положительно коррелировал ($r = 0,662$ и $0,668$) с уровнем ФНО α (1 группа $5,02 \pm 1,64$ пг/мл; 2 группа $10,88 \pm 1,26$ пг/мл, контроль $3,57 \pm 0,43$ пг/мл) и ИЛ-6, являющегося главным стимулятором синтеза СРБ (1 группа $2,98 \pm 1,12$ пг/мл; 2 группа $7,56 \pm 1,64$ пг/мл, контроль $0,89 \pm 0,21$ пг/мл), которые были повышены в 3,1 и 8,4 раза. Содержание ИЛ-8 во 2 группе имело тенденцию к повышению ($9,23 \pm 1,52$ пг/мл), у больных 1 группы ($6,98 \pm 1,67$ пг/мл) — изменения были статистически незначимы относительно контроля ($7,05 \pm 1,56$ пг/мл).

Оценка иммунного статуса пациентов с БА выявила изменения показателей клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунной системы. У больных 1 группы отмечалось снижение популяции зрелых Т-лимфоцитов ($CD3^+$ $62,2 \pm 3,2\%$), Т-хелперов ($CD4^+$ $31,2 \pm 3,2\%$) и повышение популяции В-лимфоцитов ($CD19^+$ $14,3 \pm 1,3\%$) по сравнению с контролем ($CD3^+$ $69,2 \pm 2,9\%$; $CD4^+$ $41,2 \pm 1,4\%$; $CD19^+$ $9,2 \pm 1,6\%$), с наи-

меньшим значением среди обследованных пациентов иммунорегуляторного индекса ($CD4/CD8$). Во 2 группе установлено увеличение уровня популяции зрелых лимфоцитов, ($CD3^+$ $83,3 \pm 2,0\%$); достоверное повышение содержания лимфоцитов, обладающих хелперно-индукторной активностью ($CD4^+$ $43,6 \pm 2,7\%$); прослеживалась тенденция увеличения лимфоцитов, экспрессирующих на мембране $CD8^+$ -антиген ($22,6 \pm 1,8\%$) в сравнении с 1 группой ($CD8^+$ $21,8 \pm 1,2\%$, контроль $CD8^+$ $20,7 \pm 1,3\%$). Увеличение Т-хелперов может способствовать синтезу провоспалительных цитокинов [2,3]. Корреляционный анализ выявил прямую зависимость уровня $CD3^+$ ($r = 0,56$; $p < 0,01$) и $CD4^+$ ($r = 0,46$; $p < 0,01$) от ОТ, ОБ и КЦЖ. Выявленное увеличение популяции Т-лимфоцитов у больных БА с ожирением совпадает с данными полученными другими исследователями [5,6], показавшими увеличение и регуляцию Т-лимфоцитами эффекторными клетками, их количеством и степенью участия в аллергическом воспалительном процессе, с данными о том, что избыточная абдоминальная жировая ткань способствует антигенной стимуляции Т-клеточных рецепторов и приводит к увеличению продукции провоспалительных медиаторов, принимающих участие, в том числе, и в аллергическом воспалении [5,6].

Уровень лимфоцитов, экспрессирующих на мембране $CD19^+$ -антиген в обеих группах больных БА существенно превышал контрольный, при этом у больных 2 группы его значения были выше, чем в первой, что наряду с повышением уровней сывороточного IgA ($2,14 \pm 0,35$ г/л), общего IgE ($196,80 \pm 111,47$ МЕ/мл) по сравнению с больными 1 группы (IgA $1,88 \pm 0,12$ г/л; IgE $211,79 \pm 197,63$ МЕ/мл), говорит о степени активности аллергического воспаления дыхательных путей у больных БА, усугубляющееся на фоне ожирения. Выявлена корреляционная сильная прямая связь между $CD19^+$ и КЦЖ ($r = 0,84$; $p < 0,01$), свидетельствующая о способности централизации жирового отложения активировать гуморальное звено иммунной системы. Таким образом, фенотип БА с ожирением характеризуется повышением клеточного звена иммунной системы, как Т-лимфоцитов, супрессированных у больных БА с нормальной массой тела, так и В-клеток, также активированных у пациентов с БА без ожирения.

Анализ параметров фагоцитарного звена у больных показал значительное увеличение метаболической активности нейтрофилов в обеих группах БА ($107,3 \pm 0,51$ у.е. - в первой и $115,2 \pm 1,42$ у.е. во второй) по сравнению с контролем ($99,4 \pm 1,60$ у.е.), при этом уровень резерва НСТ снижался ($176,6 \pm 1,44$ у.е. - 1 группа; $154,6 \pm 1,52$ у.е.

- 2 группа), что дает возможность констатировать увеличение параметров окислительного метаболизма нейтрофилов и снижение резервных возможностей фагоцитирующих клеток при БА с ожирением.

Заключение. Полученные результаты показали, что у больных БА с ожирением, имеет место специфические изменения иммунного статуса, характеризующиеся стимуляцией Т- и В-клеточного звена и значительным увеличением параметров окислительного метаболизма нейтрофилов, снижением резервных возможностей кислород-зависимого фагоцитоза, что в сочетании с выявленными повышениями концентрации провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО α) и СРБ у данных пациентов - ассоциируется с системным воспалением. Наличие ожирения у больных БА, нарушая физиологию и функцию внешнего дыхания, усугубляет обструкцию легких. Ожирение и коморбидность, его сопровождающая – утяжеля-

ет течение астмы, является фактором, ухудшающим ее контроль.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2014 г.) / Пер. с англ. под ред. А.С.Белевского. - М.: Российское респираторное общество, 2015. - 148 с.
2. Минеев В.Н., Лалаева Т.М. Бронхиальная астма, ожирение и адипокины // Врач. 2011. № 4. С. 53-56.
3. Приступа Л.Н., Фадеева А.А. Механизмы взаимосвязи бронхиальной астмы и ожирения // Пульмонология. 2012. № 3. С. 97-103.
4. Чурюкина Э.В., Сизякина Л.П. Оптимизация алгоритма исследования функции внешнего дыхания у пациентов с бронхиальной астмой // Российский аллергологический журнал. 2016. № 1(Т.1). С. 106-108.
5. Царев В.П., Антонович Ж.В. Роль нарушений обмена липидов в патогенезе бронхиальной астмы // Медицинский журнал. 2007. № 3. С. 24-26.
6. Shore S.A. Obesity and asthma: implications for treatment // Curr/ Opin. Pulm. Med. 2007. Vol. 13, № 1. P.56-62.

ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НА УЖАЛЕНИЯ ПЕРЕПОНЧАТОКРЫТЫМИ НАСЕКОМЫМИ

Шабанов Д.В.¹, Федоскова Т.Г.¹, Рыбникова Е.А.², Мартынов А.И.¹, Федосеева В.Н.¹, Мухтеремова Г.А.¹, Миславский О.В.¹

¹ ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва.

² Детская городская клиническая больница №9 им. Г.Н. Сперанского, Москва.

FEATURES OF DIAGNOSTICS AT HYPERSENSITIVITY ON STINGS INSECT

Shabanov D.V.¹, Fedoskova T.G.¹, Rybnikova E.A.², Martinov A.I.¹, Fedoseeva V.N.¹, Mukhteremova G.A.¹, Mislavskiy O.V.¹

¹ National scientific center - Institute of Immunology, Moscow, Russia.

² Speransky Childrens Clinical Hospital №9, Moscow, Russia.

Инсектная аллергия – важный раздел аллергологии, объединяющий реакции гиперчувствительности, возникающие при укусах насекомых, при соприкосновении с ними, вдыхании частиц тел насекомых и/или продуктов их жизнедеятельности. Особую актуальность и клиническую значимость представляют реакции на яд перепончатокрылых насекомых, что связано с тяжестью и стремительностью развития угрожающих жизни симптомов, разви-

вающихся после укуса.

В нашей стране распространенность аллергии на укусы насекомых составляет 0,4 – 8% [1]. В Европе выраженные местные реакции на укусы насекомых составляют от 2,4 до 26,4% населения Европы в целом. Распространенность же системных реакций на укусы перепончатокрылых насекомых в европейских странах составляет от 0,3 до 8,9%, в США - от 0,5 до 3,3% в общей популяции [2]. По данным наших исследо-

ваний частота системных реакций достигает 5,3% случаев реакций на укусы [3]. Смертельные случаи от укусов насекомыми зафиксированы с частотой 0,03-0,48% на один млн. жителей ежегодно [4].

Важным аспектом при инсектной аллергии является понятие гиперчувствительности (ГЧ), которое объединяет все виды проявлений гиперреактивности организма, в том числе опосредованной синтезом специфических IgE. Гиперчувствительность – объективно воспроизводимые проявления и симптомы, развивающиеся при воздействии определенных факторов окружающей среды в дозах, не вызывающих этих проявлений у нормальных индивидуумов. В отличие от IgE-опосредованных аллергических реакций, в результате прямого действия токсинов яда насекомых на мембрану клеток-мишеней, может формироваться гиперреактивность организма к воздействию фактору по типу не-IgE опосредованной ГЧ, с либерацией гистамина и других медиаторов воспаления и, как следствие, проявлением гиперреактивности в виде клинических признаков ответной реакции организма [5]. Не-IgE опосредованные реакции характеризуются отсутствием высоких уровней специфических IgE и вовлечением в процесс ГЧ клеток-мишеней либерацией медиаторов и последующей реализацией их действия на органах [6].

Диагностика аллергии к жалящим насекомым (ЖН) чрезвычайно важна, так как в зависимости от климатических особенностей региона проживания 56,6–94,5% лиц взрослого населения хотя бы однократно подвергались укусу ЖН (пчелой, осой, шершнем и др.) [7]. Трудность диагностики инсектной аллергии, и в частности, аллергии к яду пчел обусловлена тем, что в настоящее время нет ни отечественных, ни зарубежных лечебно-диагностических аллергенов из яда перепончатокрылых насекомых, представленных и зарегистрированных в Реестре в Министерства здравоохранения России. Таким образом, в настоящее время актуальность проблемы инсектной аллергии можно считать очевидной [8].

В соответствии с отечественными и зарубежными клиническими рекомендациями диагноз аллергия на укус перепончатокрылыми насекомыми выставляется на основании анамнеза и аллергологического обследования. Обследование включает проведение кожного тестирования, определение специфических IgE и определения уровня базальной сывороточной триптазы у пациентов с тяжелыми системными реакциями. Диагностические процедуры должны проводиться у всех пациентов с перенесенной системной

аллергической реакцией на укусы перепончатокрылыми насекомыми для выявления сенсibilизации. Дополнительные “in vitro” тесты проводятся в случае выявления негативных или сомнительных результатов обследования [4, 9].

Таким образом, при возникновении у пациента реакции ГЧ на укусы пчелами, практическому врачу необходимо провести дифференциальную диагностику между IgE-, не-IgE опосредованной и неаллергической ГЧ с целью определения стратегии лечения – либо проведения аллерген-специфической иммунотерапии при IgE-обусловленной аллергии, либо проведения терапии, направленной на стабилизацию мембраны клеток-мишеней, снижение интоксикации и либерации медиаторов воспаления. Проведение дифференциальной диагностики требует применения системы методов диагностики состояний гиперреактивности при укусе пчелой.

Как указывалось выше, в России нет разрешенных диагностических аллергенов для проведения кожных тестов. Следовательно, у отечественных клиницистов основным способом диагностики является изучение анамнеза и комплекс лабораторных тестов. И, несмотря на многообразие видов лабораторных исследований, ни в отечественных, ни в зарубежных рекомендациях, до настоящего времени, не было представлено алгоритма последовательности необходимых лабораторных исследований. Длительное время диагностика гиперчувствительности на ЖН, была направлена на выявление специфических IgE, с использованием метода иммуноферментного анализа (ИФА). Определение специфических IgE в сыворотках крови больных в клинических лабораториях проводят в большинстве случаев с использованием водно-солевых экстрактов аллергенов. Метод весьма распространен, доступен, однако имеет свои недостатки. Проведение исследования основано на использовании смеси очищенных аллергенов и экстрактов аллергенов. Использование экстрактов может приводить к увеличению как ложноположительных результатов из-за присутствия компонентов с перекрестной реактивностью, так и ложноотрицательных из-за отсутствия или деградации основных аллергенных белков в экстракте. По данным литературы чувствительность этих тестов составляет от 60% до 95%, а их специфичность от 30% до 95% [10].

Современные методы диагностики аллергических заболеваний с применением отдельных очищенных или полученных рекомбинантным путем аллергенных молекул принято называть молекулярной аллергодиагностикой. Коммерче-

ская система для подобного анализа ImmunoCAP ISAC («Phadia AB», Швеция) появилась в 2007 году [11]. ISAC – технология чипов с иммобилизованными аллергенами на твердой фазе. Для диагностики аллергии к ЖН в панель включены четыре компонента аллергенов rApi m1, rApi m4, rPol d5, rVes v5, а также компонент перекрестно-реагирующих углеводных детерминант Бромелайн – pMUXF3. Однако представленных компонентов не достаточно для проведения полного диагностического поиска при обследовании пациентов с аллергией к ЖН, так как только в яде пчелы исследовано двенадцать различных аллергенов, а коммерческие формы аллергенов разработаны только для двух основных аллергенов – Api m1 и Api m4. Значительным ограничением данного метода является его высокая стоимость и ограниченная распространенность, преимущественно в крупных исследовательских центрах [12]. Доступной альтернативой можно считать иммунохроматографический ALFA-тест (Allergy Lateral Flow Assay) компании Dr.Fooke Laboratorien GmbH. Быстрый и надежный тест для выявления специфических IgE к ядам и аллергенам насекомых. Чувствительность и специфичность ALFA-теста в сравнительном исследовании с методами ALLERG-O-LIQ и ImmunoCAP составляет 93-100% [13].

Недостатком существующих методов диагностики ГЧ к яду пчел на основе IgE-специфических реакций является отсутствие возможности выявить другой тип реактивности на яд пчелы, не-IgE опосредованные реакции ГЧ, требующих иных подходов к терапии. Для этого целесообразно проведение оценки стабильности мембраны клеток-мишеней к воздействию фактору, а именно определение уровня медиаторов аллергии и экспрессии CD63+, CD203с при контакте базофила крови с аллергенами насекомых.

Оценку дегрануляции базофилов можно проводить по уровню высвобождения лейкотриенов [14]. Заслуживает внимания тест-система по оценке высвобождения лейкотриенов из сенсibilизированных базофилов — тест антигенной стимуляции базофилов «CAST®ELISA» (Bulman Laboratories, Швейцария), технология которого основана на определении сульфидолейкотриенов, секретируемых премированными IL-3 базофилами под действием аллергена. Благодаря синтезу сульфидолейкотриенов «de novo» анализ «CAST®ELISA» обладает высочайшей специфичностью по сравнению с классическим тестом высвобождения медиаторов аллергии.

Для оценки степени активации базофилов на специфический аллерген наиболее перспек-

тивным методом является метод «Flow-CAST®» (Bulman Laboratories, Швейцария), по выявлению экспрессии маркеров активации CD63+ и CD203с на мембране базофилов, регистрируемый с помощью проточного цитометра [7].

При IgE специфической дегрануляции базофилов происходит встраивание мембраны гранул в поверхностную мембрану клетки, что отражается в появлении молекул CD63+, а также повышается экспрессия поверхностных активационных молекул CD203с. Анализ содержания CD203с позволяет охарактеризовать интактные и активированные базофилы при IgE независимом ответе у сенсibilизированных пациентов. Таким образом, данным методом может оцениваться наличие не-IgE опосредованных реакций, т. е. активации базофилов и неспецифической либерации медиаторов посредством триггерных механизмов, не связанных со специфическими IgE.

В течение нескольких лет в ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России сотрудниками лаборатории «Молекулярных механизмов аллергии» ведется изучение данного вопроса. На данный момент обследовано 930 пациентов с различными аллергическими заболеваниями, по результатам анамнеза и анкетирования отобрано и дообследовано 55 больных с ГЧ на укусы насекомых.

В результате выявлено повышение общего IgE менее чем в половине случаев, а специфических IgE к яду жалящих насекомых в 58% случаев с учетом использования методов молекулярной алергодиагностики. Исследование базофильной активации по CD63+ и CD203с подтвердили IgE-опосредованный характер реакции в 71% случаев, и у 16 пациентов (29%) выявлена не-IgE-опосредованная ГЧ.

На основании данных собственных исследований, а также с учетом отечественных и зарубежных литературных данных нами был разработан алгоритм для клинко-лабораторной оценки гиперчувствительности на яд ЖН с использованием маркеров активации CD63, CD203, количественного определения медиаторов аллергических реакций и IgE-специфического ответа в системе «in vitro». Подана заявка на регистрацию патента «Способ дифференциальной диагностики гиперчувствительности к яду пчелы (*Apis mellifera*)». Регистрационный номер 2016111927/15(018742).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Швец С.М. Аллергические реакции на яд жалящих насекомых. Российский алергологический журнал, 2004, № 3, с. 9-18.
2. Bilò B.M., Bonifazi F. Epidemiology of insect-venom anaphylaxis. Curr. Opin. Allergy. Clin. Immunol.,

2008, v. 8, p. 330–337.

3. Шабанов Д.В., Мартынов А.И., Федоскова Т.Г. и др. Оценка частоты выявления случаев гиперчувствительности к яду перепончатокрылых у больных с сенсibilизацией к клещам домашней пыли. Российский иммунологический журнал, 2015, т. 9 (18), №3 (1), с. 245–247.

4. Bilo B.M., Rueff F., Mosbech H. et al. EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. Allergy, 2005, v. 60, p. 1339–1349.

5. Федосеева В.Н., Рахманин Ю.А. Экологические аспекты гиперреактивности организма к факторам окружающей среды. Монография. М., МАКС Пресс, 2012, с. 190.

6. Адо А.Д. Общая аллергология. 2-е издание, переработанное и дополненное. М., Медицина, 1978, с. 464.

7. Федоскова Т.Г., Федосеева В.Н., Шабанов Д.В. и др. Система методов специфической клинико-лабораторной диагностики гиперчувствительности на основе клеток мишеней аллергических реакций. Сборник конференции: новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии. Под ред. Е.Л. Глориозова. Гурзуф, 2015, с. 407–408.

8. Шабанов Д.В., Мартынов А.И., Федоскова Т.Г. и др. Современные аспекты гиперчувствительности к жалящим насекомым. Успехи современной биологии, 2015, т. 135, №6, с. 610–619.

9. Przybilla B., Rueff F. Insect stings: clinical features and management. Dtsch. Arztebl. Int., 2012, v. 109(13), p. 48–238.

10. Siles R.I., Hsien F.Y. Allergy blood testing: A practical guide for clinicians. Cleveland Clinic Journal of Medicine, 2011, v. 78(9), p. 585–592.

11. Мокроносова М.А., Коровкина Е.С. Компонентная диагностика – новая эра в клинической аллергологии. Терапевтический архив, 2013, №10, с. 4–8.

12. Федоскова Т.Г., Шабанов Д.В., Мартынов А.И. и др. Инсектная аллергия. Диагностика гиперчувствительности к жалящим насекомым. Аллергология и иммунология, 2015, т. 16, №4, с. 340–343.

13. Pfender N., Lucassen R., Offermann N. et al. Evaluation of a Novel Rapid Test System for the Detection of Specific IgE to Hymenoptera Venoms. Journal of Allergy, 2012, Article ID 862023, p. 1–7, doi: 10.1155/2012/862023.

14. Гуцин И.С., Читаева В.Г. Аллергия к насекомым. Клиника, диагностика и лечение, М., 2003, с. 129–133.

КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗНАЧИМОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ T-511C, T-31C, C+3953T, G-1473C ГЕНА IL-1B В КАЧЕСТВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ НА ФОНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Шамонина Т.Н., Радаева О.А., Новикова Л.В.

ФГБОУ ВПО «НИ МГУ им. Н.П. Огарева», медицинский институт, кафедра иммунологии, микробиологии, вирусологии, Саранск

CLINICAL ANALYSIS OF THE SIGNIFICANCE OF DETECTION OF ALLELIC VARIANTS OF POLYMORPHIC LOCI OF THE T-511C, T-31C, C+3953T, G-1473C OF THE GENE IL-1B AS THE GENETIC RISK FACTORS OF DIABETES WITH HYPERTENSION ON THE BACKGROUND OF METABOLIC SYNDROME

Shamonina T.N., Radaeva O.A., Novicova L.V.

The Immunology, microbiology and virusology chair at Mordovian State N.P. Ogariov University, Saransk

Во всем мире, артериальная гипертензия остается одной из наиболее значимых проблем, что обусловлено как широким распространением данного заболевания, так и высокой смертностью от осложнений артериальной гипертензии (АГ) [1]. Одним из определяющих

факторов риска развития осложнений у больных артериальной гипертензией является наличие сахарного диабета (СД). АГ и СД – две патогенетически взаимосвязанные патологии, которые обладают мощным взаимоусиливающим повреждающим действием [2]. Многие больные СД

еще до установления диагноза имеют несколько факторов риска, включая, артериальную гипертензию и избыточную массу тела. Так у каждого второго с СД 2 типа выявляют дислипидемию, а избыточную массу тела имеют почти все больные этой категории [3]. Ожирение предрасполагает к развитию АГ, которая, в свою очередь, способна вызвать снижение чувствительности периферических тканей к инсулину и в последующем, ожирение. Вероятность развития АГ у лиц с избыточной массой тела на 50% выше, чем у лиц с нормальной массой. Значительно чаще АГ сочетается с центральным типом ожирения, которому сопутствуют такие симптомы, как инсулинорезистентность (ИР), нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), дислипидемия, что и послужило основанием для выделения их в отдельный синдром. Более того наличие метаболического синдрома (МС) в настоящее время рассматривают как основную причину глобального кардиометаболического риска, объединяющего риск сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и риск развития СД [2]. Цель исследования – провести анализ распределения генотипов полиморфных вариантов T-511C, T-31C, C+3953T, G-1473C гена IL-1 β у пациентов с АГ на фоне МС и изучить их роль в формировании СД у данных больных. Материалы и методы. Было обследовано 180 больных артериальной гипертензией, все имели признаки МС. Количество женщин составило - 45,8 %, мужчин - 54,2 %. Возраст пациентов - 57,2 $\pm$ 2,69 лет. Группу контроля составили 60 человек, сопоставимых по возрасту и полу. Материалом для генетического исследования служили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической венозной крови методом Laura-Lee Boodram (2004). Изучение полиморфных вариантов локусов T-511C, T-31C, C+3953T, G-1473C гена IL-1 β проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) на амплификаторе «Veriti» (компания «Applied Biosystems», США) с использованием диагностических наборов «SNP-Экспресс» с последующей электрофоретической детекцией (ООО НПФ «ЛИТЕХ», Россия). Для статистической обработки использовали пакет программ Statistica 6.0. Расчет генного равновесия выполняли по закону Харди-Вайнберга. Достоверность различий в распределении частот аллелей

и генотипов между группами выявляли путем сравнения выборки с использованием критерия χ^2 с поправкой Иейтса. Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$. Результаты и обсуждение. Из 180 пациентов, включенных в наблюдение, у 63 чел. (35%) были выявлены нарушения в углеводном обмене. Из которых у 32% был диагностирован СД 2 типа, у 6 чел. (3%) - выявлено нарушение толерантности к глюкозе. Больные с СД по сравнению с пациентами без диабета относились к более старшей возрастной группе (57,1 $\pm$ 13,5 и 55,9 $\pm$ 8,6, соответственно). Чаще были женского пола (18,3%), на долю мужчин приходилось - 13,3%. Показатель ИМТ в группе больных с СД также был достоверно выше (35,2 $\pm$ 1,8 кг/м², $p < 0,05$), чем в группе больных без признаков СД (31,0 $\pm$ 11,9 кг/м²). Уровень сахара в группе больных с СД в среднем составил - 7,5 $\pm$ 1,8 ммоль/л и колебался от 3,9 до 16,4 ммоль/л, что превышает верхнюю границу нормы и достоверно превышает значения в группе больных с АГ без СД (4,9 $\pm$ 0,10, $p < 0,001$). Данные результаты убедительно демонстрируют, что показатели ассоциированы с индивидуальным риском развития и тяжестью клинических проявлений, а также с характером течения СД и АГ на фоне МС. Это подтверждается данными литературы о неблагоприятном влиянии МС на инициацию, становление и прогрессирование развития СД у пациентов с АГ [4]. Для выявления ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов с уровнем глюкозы и общего холестерина (ХС) в крови у больных артериальной гипертензией при метаболическом синдроме нами проведен анализ полиморфизмов T-511C, T-31C, C-3953T, G-1473C гена IL-1 β . Исследование состояния углеводного обмена не показало отличий в отношении уровня глюкозы у больных с разными генотипами полиморфных локусов T-511C, T-31C гена IL-1 β ($p > 0,05$, $p > 0,05$, соответственно). При этом, в полиморфных локусах C+3953T, G-1473C выявлены достоверные различия соотношения уровня глюкозы с разными генотипами. Так, среди пациентов с АГ на фоне МС в полиморфном локусе C+3953T гена IL-1 β имевших генотип C/T, по сравнению с пациентами, имевших генотипы C/C и T/T (6,98 $\pm$ 2,68 ммоль/л против 5,22 $\pm$ 2,08 ммоль/л и 4,98 $\pm$ 0,65 ммоль/л) уровень глюкозы был выше

(соответственно, $p < 0,05$). В группе больных с АГ на фоне МС полиморфного локуса G-1473C гена IL-1 β , также наблюдалось соотношение увеличения уровня глюкозы преимущественно с комбинацией генотипа G/G ($p < 0,05$, $p < 0,05$, соответственно). Возможные механизмы влияния гена IL-1 β в полиморфных локусах C+3953T, G-1473C генотипов C/T и G/G на уровень глюкозы, связаны с длительным течением АГ, приводящему к хроническому снижению периферического кровотока, вследствие повышенного общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС). Что, возможно, будет способствовать снижению утилизации глюкозы тканями и повлечет за собой компенсаторную ГИ, а затем ИР и увеличит риск возникновения и развития СД у больных с АГ и МС. Также установлены различия в распределении генотипов с уровнем холестерина у больных с АГ на фоне МС в полиморфном локусе T-31C и T-511C гена IL-1 β . У пациентов с генотипом C/T уровень общего ХС превалировал ($6,27 \pm 2,42$ ммоль/л и $6,20 \pm 1,90$ ммоль/л) по сравнению с носителями генотипов C/C ($5,45 \pm 1,65$ ммоль/л и $5,43 \pm 2,01$ ммоль/л) и T/T ($5,57 \pm 6,33$ ммоль/л и $5,27 \pm 1,89$ ммоль/л), ($p < 0,05$, $p < 0,05$, соответственно), что позволяет выделить этот генотип как дополнительный фактор риска развития МС и, возможно, в последующем, СД у пациентов с АГ. Полученные результаты совпадают с тенденциями, выявленными в ряде исследований, доказывающих, что полиморфизм генов, кодирующих ключевые цитокины и их рецепторы, может быть связан не с развитием непосредственно заболевания, а факторами с ним ассоциированными, такими, как, например, ожирение [5]. Сравнительный анализ распределения частот генотипов в группах больных с уровнем холестерина, не показал статистически достоверных отличий в распределении частот генотипов полиморфизма G-1473C, C+3953T гена IL-1 β ($p > 0,05$, $p > 0,05$, соответственно). Заключение. Таким образом, в ходе исследования нами было выявлено распределение аллельных вариантов генов цитокинов у больных АГ и МС согласно уровню глюкозы и общего холестерина. Обнаружено доминирование генотипов C/T и G/G в полиморфных локусах C+3953T, G-1473C гена IL-1 β с повышенным уровнем глюкозы, что позволяет установить зна-

чимось данных маркеров в риске развития СД у пациентов с АГ на фоне МС. Также выявлена взаимосвязь генотипа C/T в локусах T-31C, T-511C у лиц с повышенным содержанием холестерина, исходя из этого, можно предположить, что данный генотип способствует развитию МС у лиц с АГ и увеличивает риск прогрессивного течения СД у данной категории пациентов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бойцов С.А. Артериальная гипертензия среди лиц 25–64 лет: распространенность, осведомленность, лечение и контроль. По материалам исследования ЭССЕ / С.А. Бойцов, Ю.А. Баланова // Кардиоваск. терапия и профилактика. - 2014. - № 1. - С. 14.
2. Моргунова Т.Б. Лечение сахарного диабета 2 типа: устойчивость сахароснижающего действия препаратов / Т.Б. Моргунова, В.В., Фадеев // Ожирение и метаболизм. - 2016. - Т. 13. - №3. - С. 32 - 36.
3. Рунихин А.Ю., Рагозин А.К., Рунихина Н.К. Лечение артериальной гипертензии у пациентов с метаболическим синдромом // РМЖ. - 2016. - №9. - С. 579 - 584.
4. Шестакова М.В. Российское многоцентровое скрининговое исследование по выявлению недиагностированного сахарного диабета 2 типа у пациентов с сердечно-сосудистой патологией / М.В. Шестакова, И.Е. Чазова // Сахарный диабет. - 2016. - Т. 19. - №1. - С. 24 - 29.
5. American diabetes association. Standards of medical care in diabetes - 2015 // Diabetes Care. 2015. Vol. 38, Suppl. 1. P. 1 - 93.

ЕСТЕСТВЕННЫЕ АНТИТЕЛА – НОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ, ДЕТЕКТИРУЕМЫЕ С ПОМОЩЬЮ МИКРОЧИПА

Шилова Н.В.^{1,2}, Хасбиуллина Н.Р.^{1,2}, Полякова С.М.², Ракитко А.С.^{2,3}, Нокель А.Ю.², Бовин Н.В.¹.

¹ ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

² ООО «Семiotик», Москва.

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, механико-математический факультет, Москва.

NATURAL ANTIBODIES ARE NEW BIOMARKERS DETECTED BY MICROCHIP

Shilova N.V.^{1,2}, Khasbiullina N.R.^{1,2}, Polyakova S.M.², Rakitko A.S.^{2,3}, Nokel A.Yu.², Bovin N.V.¹.

¹ M.M. Shemyakin and Y.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Russian Federation, Moscow.

² Semiotik LLC, Moscow.

³ M.V. Lomonosov Moscow State University, Department of Mechanics and Mathematics, Moscow.

Известно, что кровь млекопитающих, в том числе и человека, содержит естественные антитела, т.е. антитела, появление которых не связано с предварительной иммунизацией и их уровень практически не меняется в течение жизни. Они играют важную роль в надзоре за постоянно появляющимися трансформированными клетками, а также являются первой линией обороны против бактерий и вирусов наряду с дендритными клетками, натуральными киллерами и макрофагами. Большой интерес представляют естественные антигликановые антитела (АГАТ). С помощью микрочипа, лигандами которого служат гликаны, был исследован репертуар АГАТ у здоровых доноров [1,2]. Оказалось, что более половины гликанов чипа связывают сывороточные антитела. Большинство из выявленных АГАТ не описаны. Репертуар антител разных людей был похож, т.е. это действительно естественные антитела. Наблюдались и различия, которые отражали индивидуальный иммунный статус человека, что открывает перспективу поиска совершенно новых биомаркеров патологических состояний организма. Гликановый микрочип (ООО «Семiotик», Россия) позволяет фиксировать подобные изменения в уровнях антител с высокой точностью, при этом сотни активностей могут быть протестированы в одном эксперименте, что

очень удобно с технической точки зрения.

Методы. При разработке метода диагностики таких сложных с иммунологической точки зрения заболеваний как, например, рак (особенно, когда речь идет о ранней диагностике) использование только одного показателя недостаточно, необходимо использовать комбинацию маркеров – сигнатуру, т.е. комбинацию диагностически значимых антиуглеводных антител. Нами была разработана методология поиска сигнатуры по данным микрочипа, а также математический аппарат, названный «Иммунорулер» [3], который позволяет на основании выбранной сигнатуры дискриминировать «случаи» и «контроли», определять степень риска возникновения заболевания, а также прогнозировать его исход.

АГАТ в диагностике рака. В литературе описано множество заболеваний, при которых возникает аберрантное, т.е. неправильное, патологическое гликозилирование, влекущее за собой изменения в профиле АГАТ. Это, в первую очередь, онкология. Хорошо известными являются следующие опухоль-ассоциированные антигены углеводной природы: Томсена-Фриденрайха (TF), Tn и сиалил-Tn, GD2, GD3 и др. Достоверно установлено, что уровень антител к TF и Tn значительно меняется при онкотрансформации [4,5]. Наши исследования последних лет свидетельствуют, что

число подобных антител велико, возможно, многие десятки. Истинная специфичность части из этих антител до сих пор непонятна. Но, несмотря на это, антитела данного класса можно использовать как маркеры заболеваний. Для проведения точной онкодиагностики необходим подход, опирающийся на набор маркеров, то есть диагностическая сигнатура, и большой выбор (см. выше) позволяет это делать. С помощью гликанового микрочипа были найдены сигнатуры для таких видов рака, как мезотелиома [3], рак молочной железы [6] и рак яичника [7], колоректальный рак [8]; при этом чувствительность и специфичность такого мультифакторного подхода заметно превышает показатели стандартных тестов [7,8]. Кроме того, была показана успешная возможность использования микрочипа для предсказания эффективности терапии рака молочной железы сочетанной терапией химиотерапевтиком и герцептином (данные не опубликованы).

Перспективы использования микрочипа. Аберрантное гликозилирование и следующие за ним изменения в уровнях сывороточных АГАТ, характерны не только для рака, но и для целого ряда аутоиммунных заболеваний [9-11], при нарушениях функций женской репродуктивной системы [12,13] и других системных заболеваний. Поэтому поиск сигнатур не только позволит создать более точные диагностикумы, но и сделать возможным диагностику заболеваний, которые сложно идентифицировать, как, например, преэклампсия.

С помощью микрочипа можно искать терапевтические сигнатуры, в результате чего появится совершенно новый класс лекарств – терапевтические АГАТ, обладающие множеством преимуществ, в первую очередь тем, что они являются нормальными для человека. Например, естественные антитела человека к дисахариду LeC – специфическому антигену клеток рака молочной железы — уже планируется использовать в терапевтических целях [14].

Знание профиля АГАТ необходимо для выявления не нейтрализующих АГАТ, вызывающих антителозависимое усиление инфекции, с целью их специфического удаления [15], при поиске антител, усиливающих иммунитет против опухолевых клеток [16]. Не меньший интерес представляет использование АГАТ в предсказании эффективности/безопасности алло- и ксенотрансплантации, переливания крови, вакцинации.

Таким образом, АГАТ являются отражением состояния нашего здоровья и представляют собой широчайший резервуар потенциальных

маркеров для диагностики и прогностики самых различных заболеваний. Анализ профиля АГАТ, полученного с помощью гликанового микрочипа, позволит предсказывать эффективность назначаемых препаратов, следить за ходом лечения и влиять на его эффективность, а также создавать принципиально новые лекарства.

Работа поддержана грантом РНФ № 14-14-00579.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Huflejt ME, Vuskovic M, Vasiliu D, Xu H, Obukhova P, Shilova N, Tuzikov A, Galanina O, Arun B, Lu K, Bovin N. Anti-carbohydrate antibodies of normal sera: findings, surprises and challenges. *Molecular Immunology* 2009; 46, 3037-3049.
2. Bovin NV. Natural antibodies to glycans. *Biochemistry (Moscow)* 2013, 78, 786-797.
3. Vuskovic M, Xu H, Bovin N, Pass H, Huflejt M. Processing and analysis of serum antibody binding signals from Printed Glycan Arrays for diagnostic and prognostic applications. *Int J Bioinformatics Res Appl* 2011; 7: 402-426.
4. Smorodin JP, Kurtenkov OA, Miljukhina LM, Sergeyev BL, Hint EK, Bovin NV, Lipping AA, Chuzhmarov VJ. Thomsen-Friedenreich antigen-specific IgM antibodies: diagnostic significance for gastric and breast cancer. *Exp Oncol* 1997; 19: 338-342.
5. Smorodin E, Sergeyev B, Klaamas K, Chuzmarov V, Kurtenkov O. The Relation of the Level of Serum Anti-TF, -Tn and -Alpha-Gal IgG to Survival in Gastrointestinal Cancer Patients. *Int J Med Sci* 2013; 10:1674-1682.
6. Huflejt ME, Blixt O, Vuskovic M, Xu H, Shaw L, Reuben JM, Kuerer H, Cristofanilli M. Glycan array identifies specific signatures of anti-glycan autoantibodies in sera of breast cancer patients: diagnostic, prognostic and therapeutic opportunities. (2005) *Br. Cancer Res Treat* 2005; 94(Suppl. 1), S85.
7. Jacob F, Goldstein DR, Bovin NV, Pochechueva T, Spengler M, Caduff R, Fink D, Vuskovic MI, Huflejt ME, Heinzelmann-Schwarz V. Serum antiglycan antibody detection of nonmucinous ovarian cancers by using a printed glycan array. *Int. J. Cancer* 2012; 130, 138-146.
8. Butvilovskaya VI, Popletaeva SB, Chechetkin VR, Zubtsova ZI, Tsybul'skaya MV, Samokhina LO, Vinnitskii LI, Ragimov AA, Pozharitskaya EI, Grigor'eva GA, Meshalkina NY, Golysheva SV, Shilova NV, Bovin NV, Zasedatelev AS, Rubina AY. Multiplex determination of serological signatures in the sera of colorectal cancer patients using hydrogel biochips. *Cancer Med* 2016; 5(7), 1361-1372.
9. Maverakis E, Kim K, Shimoda M, Gershwin ME, Patel F, Wilken R, Raychaudhuri S, Ruhaak LR, Lebrilla CB. Glycans in the immune system and The Altered Glycan Theory of Autoimmunity: a critical review. *J Autoimmun* 2015; 57, 1-13.
10. Willison HJ. Glycoconjugates and neuroimmunological diseases. *Adv Neurobiol.* 2014;9:543-66.
11. D'Alessandro M, Mariani P, Lomanto D, Bachetoni A, Speranza V. Alterations in serum anti-alpha-galactosyl antibodies in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Clin Immunol* 2002; 103(1), 63-68.
12. Ziganshina MM, Pavlovich SV, Bovin NV,

Sukhikh GT. Hyaluronic Acid in Vascular and Immune Homeostasis during Normal Pregnancy and Preeclampsia. *Acta Naturae* 2016; 8(3), 59-71.

13. Sukhikh GT, Ziganshina MM, Nizyaeva NV, Kulikova GV, Volkova JS, Yarotskaya EL, Kan NE, Shchyogolev AI, Tyutyunnik VL. Differences of glycocalyx composition in the structural elements of placenta in preeclampsia. *Placenta* 2016; 43, 69-76.

14. Tupitsyn NN, Udalova YA, Galanina OE, Kadagidze ZG, Borovkova NB, Obukhova P, Shilova NV,

Bovin NV. Tumor-associated glycan LewisC in breast cancer. *Hematopoiesis immunology* 2009; 2, 45-54.

15. Bello-Gil D, Manez R. Exploiting natural anti-carbohydrate antibodies for therapeutic purposes. *Biochemistry (Mosc)* 2015; 80(7), 836-845.

16. Whalen GF, Sullivan M, Piperdi B, Wasseff W, Galili U. Cancer immunotherapy by intratumoral injection of α -gal glycolipids. *Anticancer Res* 2012; 32(9), 3861-3868.

КОМПЛЕКС КАТИОННОГО ПЕПТИДА И МОЛЕКУЛ МИРНК ПРОТИВ ИЛ-4 ЭФФЕКТИВНО СНИЖАЮТ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬ БРОНХОВ И АЛЛЕРГИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ НА МЫШИНОЙ МОДЕЛИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Шиловский И.П., Сундукова М.С., Гайсина А.Р., Зарецкая М.А., Камышников О.Ю. Хаитов М.Р.

ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

CELL PENETRATING PEPTIDE COMPLEXED WITH SIRNA TARGETED TO IL-4 DECREASE AIRWAY INFLAMMATION AND AIRWAY HYPER RESPONSIVENESS IN A MOUSE MODEL OF ALLERGIC ASTHMA

Shilovskiy I.P., Sundukova M.S, Gaisina A.R., Zaretskaya V.A., Kamyshnikov O.Y., Khaitov M.R.

National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow

Бронхиальная астма (БА) является одним из самых распространенных хронических воспалительных заболеваний дыхательных путей, от которого страдают как взрослые, так и дети. Данное заболевание распространено среди разных слоев населения, имеет высокий уровень смертности, а при отсутствии квалифицированной помощи приводит к ухудшению качества жизни населения и экономическим потерям для государства [1]. В виду продолжающегося роста заболеваемости БА остается актуальной задача поиска значимых биологических мишеней с целью разработки новых способов терапии.

Недавние успехи в области молекулярной иммунологии, генетики и биоинформатики позволили выявить гены, вовлеченные в патогенез БА. Исследования на нокаутных животных, а также с применением моноклональных антител, установили ключевую роль ИЛ-4 в патогенезе данного заболевания. В частности, ИЛ-4 способствует синтезу В-клетками специфических IgE-антител,

миграции эозинофилов в участок воспаления и гиперреактивности бронхов [2–5]. Данные исследования создали предпосылки для появления лекарственных препаратов нового типа, способных регулировать активность патогенетически-значимых генов.

К настоящему моменту известен ряд технологий для сиквенс-специфической регуляции генов (АСО, Рибозимы, ДНКзимы, EGS, ДНК-ловушки, U1-адапторы), однако использование феномена интерференции РНК является наиболее перспективным с точки зрения эффективности и экономической целесообразности [6]. Под интерференцией РНК понимают естественный механизм регуляции экспрессии генов в клетке с участием фермента Dicer и молекул малых интерферирующих РНК (миРНК). Однако одна из главных проблем на пути внедрения миРНК-содержащих препаратов в медицинскую практику является низкая эффективность их проникновения в клетки-мишени. Поэтому для доставки

молекул миРНК разрабатываются различные носители (полимеры, липосомы и наночастицы), однако наиболее перспективными с точки зрения безопасности являются катионные пептиды. Они способны электростатически взаимодействовать с миРНК, формируя нано-структурные комплексы, которые за счет эндоцитоза проникают в клетки, при этом ввиду био-совместимости, пептиды не проявляют токсических эффектов на организм человека.

В ходе предыдущих экспериментальных работ был создан комплекс, состоящий из катионного дендримерного пептида (LTP) и молекул миРНК, подавляющих ИЛ-4 (siIL4) [7–9]. Поэтому целью данного исследования было изучить эффекты созданного комплекса siIL-4/LTP на мышинной модели аллергической бронхиальной астмы.

Материалы и методы. В работе использована ранее созданная мышинная модель аллергической БА [10,11]. Для этого самки мышей BALB/c были разделены на 3 группы. Группы 1 и 2 иммунизировали внутрибрюшинным введением OVA (20 мкг/мышь), эмульгированного в Al(OH)₃ (2 мг/мышь) в 0, 14 и 28 дни эксперимента. Провокации путем интраназального (и/н) введения 1% OVA (50 мкл/мышь) проводились в 41–43 дни. Группа 1 получала аэрозольно 88 мкг/мышь siIL-4/LTP в дни 37–43. Группа 2 получала аналогичным курсом контрольный препарат миРНК против гена GFP в комплексе с тем же самым пептидом LTP (siGFP/LTP). Группа 3 никаким манипуляциям не подвергалась. Измерялись уровни сывороточных OVA-специфических IgE, IgG1, IgG2a антител методом ELISA в день 44. Гиперреактивность дыхательных путей (ГРБ) измерялась с помощью неинвазивной плетизмографии на 44 день. Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) собирали на 45 день и анализировали с помощью световой микроскопии. Левое легкое отбирали для гистологического анализа, правое – для анализа генной экспрессии методом ПЦР.

Результаты. Мыши, получавшие 7 ингаляций siIL-4/LTP, демонстрировали снижение экспрессии гена ИЛ-4 в клетках БАЛ на 30% в сравнении с животными, получавшими ингаляционно контрольный неспецифический препарат siGFP/LTP. Однако несмотря на снижение ИЛ-4 в легких уровни сывороточных OVA-специфических антител классов IgE, IgG2a и IgG1 были сходными у первых двух групп. По всей видимости комплекс siIL-4/LTP действует локально, не всасываясь в системный кровоток. У мышей, получавших ингаляционно siIL-4/LTP, происходило снижение гиперреактивности бронхов в среднем на 20% в сравнении с животными после ингаляции siGFP/

LTP. Анализ клеточного состава БАЛ показал, что ингаляционное введение siIL-4/LTP приводит к снижению инфильтрации эозинофилов на 38%, что указывает на нивелирование аллергического воспаления в легких. Гистологический анализ ткани легких подтвердил снижение уровня аллергического воспаления, а также выявил снижение уровня ремоделирования бронхов, что заключалось в подавлении гиперплазии бокаловидных клеток.

Заключение. Аэрозольное введение комплекса siIL-4/LTP, подавляющего экспрессию про-воспалительного цитокина - ИЛ-4, нивелирует признаки экспериментальной бронхиальной астмы, в частности, снижает уровень гиперреактивности бронхов и степень аллергического воспаления в легких. Все это свидетельствует о том, что применение молекул миРНК для регуляции экспрессии про-воспалительных генов является перспективным направлением в создании генно-терапевтических лекарственных средств нового поколения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Holgate S.T. The sentinel role of the airway epithelium in asthma pathogenesis. // *Immunol. Rev.* 2011. Vol. 242, № 1. P. 205–219.
2. Grünig G. et al. Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. // *Science.* 1998. Vol. 282, № 5397. P. 2261–2263.
3. Perkins C., Wills-Karp M., Finkelman F.D. IL-4 induces IL-13-independent allergic airway inflammation. // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006. Vol. 118, № 2. P. 410–419.
4. Maes T., Joos G.F., Brusselle G.G. Targeting interleukin-4 in asthma: lost in translation? // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2012. Vol. 47, № 3. P. 261–270.
5. Chatila T.A. Interleukin-4 receptor signaling pathways in asthma pathogenesis // *Trends in Molecular Medicine.* 2004. Vol. 10, № 10. P. 493–499.
6. Шиловский И.П. и др. Интерференция РНК - новый подход в терапии аллергической бронхиальной астмы // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2016. Vol. 79, № 4. P. 35–44.
7. Koloskova O.O. et al. Synthesis and evaluation of novel lipopeptide as a vehicle for efficient gene delivery and gene silencing // *Eur J Pharm Biopharm.* 2016. Vol. 102. P. 159–167.
8. Шиловский И.П. и др., Разработка модели РНК-опосредованной супрессии гена интерлейкина-4 in vitro // *Физиология и патология иммунной системы.* 2011. Vol. 15, № 6. P. 3–12.
9. Шиловский И.П. и др., Синтетические siRNA эффективно подавляют экспрессию провоспалительного цитокина интерлейкина-4 мыши in vitro // *Иммунология.* 2012. Vol. 2. P. 66–70.
10. Шиловский И.П. и др., Разработка безадрьювантной модели хронической бронхиальной астмы у мышей // *Российский иммунологический журнал.* 2014. Vol. 3, № 17. P. 638–641.
11. Shilovskiy I.P. et al. Adjuvant and adjuvant-free protocols produce similar phenotypes of allergic asthma in mice // *Curr. Trends Immunol.* 2015. Vol. 16. P. 79–91.

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ЦИТОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГЕМОМРАГИЧЕСКИМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ПОСЛЕ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Шкорик Е.В.¹, Силаев А.А.², Гельцер Б.И.³, Турмова Е.П.¹

¹ ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Владивосток.

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Иркутск.

³ ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» Министерства Образования и науки Российской Федерации, Владивосток.

CONDITION OF THE TSITOKINOV SYSTEM AT PATIENTS WITH HEMORRHAGIC COMPLICATIONS AFTER AORTOCORONARY SHUNTING

Shkorik E.V.¹, Silaev A.A.², Geltser B.I.³, Turmova E.P.¹

¹ FSFEI HE «The Pacific state medical university» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladivostok.

² FSFEI HE «The Irkutsk state medical university» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Irkutsk.

³ FSAEI HE «Far Eastern Federal University» of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Vladivostok.

Кровотечение после реваскуляризации миокарда методом аортокоронарного шунтирования (АКШ) является одним из самых серьезных осложнений сердечно-сосудистой хирургии и требует переливания крови и продуктов крови. Сильное кровотечение происходит в 10%-15% пациентов, перенесших хирургические процедуры [7]. А переливание крови и продуктов крови повышают риск развития послеоперационных осложнений [4] с увеличением заболеваемости и смертности [8; 9].

Пациенты, направленные на хирургическое лечение получают антиагреганты, что, по мнению одних авторов, значительно увеличивает риск пери- и послеоперационного кровотечения [6]. Другие авторы считают, что прием антиагрегантов пациентами не влияет на риск кровотечения [1, 2].

Высказано мнение, что сильное кровотечение связано с развитием именно провоспалительного состояния [5].

Цель исследования. Определить уровень и роль провоспалительных (ФНО-α, ИЛ-6) цитокинов у пациентов с геморрагическими осложнениями после АКШ.

Материал и методы исследования. В исследование включены 75 больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) до и после АКШ, из них 40 мужчин и 35 женщин в возрасте от 45 до 74 лет. Пациенты после АКШ были разделены на три основные группы: I группа – 25 больных с геморрагическими осложнениями после АКШ (кровопотеря более 9 мл/кг за 12 часов послеоперационного периода), II группа – 25 больных с лабораторными нарушениями в системе гемостаза и III группа – пациенты с ИБС со стабильным течением послеоперационного периода (без осложнений).

Группу контроля составили 30 здоровых доноров, сопоставимых по возрасту и полу.

Всем исследуемым пациентам была выполнена отмена антиагрегантной терапии за 5 дней до АКШ (но не более 5 дней). Изменения в системе

гемостаза изучали на основе комплекса инструментальных и лабораторных методов: число тромбоцитов, концентрация фибриногена, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПТВ), растворимый фибрин мономерный комплекс (РФМК), тромбиновое время (ТВ), уровень антитромбина III (АТ III). Дополнительно использовался метод определения агрегации тромбоцитов с индуктором аденозиндифосфатом (АДФ). АДФ тест позволяет идентифицировать группу пациентов с повышенным риском развития послеоперационного кровотечения [10].

Забор крови осуществлялся за сутки до операции, в 1-е, 3-и, 7-е и 12-е сутки после АКШ. Сыворотку крови получали после центрифугирования в течение 10 минут при 1500 об/мин, образцы разливали по 1,0 мл и хранили при -36°C . Определение уровня ФНО- α , ИЛ-6 в сыворотке крови проводилось методом твердофазного ИФА, с использованием специфических реактивов «R&D Diagnostics Inc.», USA. Данные представляли в виде медианы и двух квартилей (Me , Q_{25} , Q_{75}). Внутри и межгрупповые различия оценивали с помощью критерия Манна – Уитни и χ^2 критерия в рамках прикладной программы SPSS №16. Статистически достоверным считали различия между показателями при отклонении нулевой гипотезы и уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Содержание провоспалительных цитокинов было повышено у всех пациентов на протяжении всего мониторинга исследования в сравнении с здоровыми людьми, что обусловлено наличием атеросклеротического поражения артерий и связанным с ним воспалением, так как известно, что воспаление является патогенетической основой атеросклероза от начала – появления липидных пятен, до конечного этапа – разрушения атеросклеротической бляшки [3], наличием ИБС и реакцией на операционную травму.

В III группе уровень ФНО- α до АКШ был увеличен трехкратно (9,46 (4,86; 10,98) пг/мл против 2,8 (0,8; 10,9) пг/мл, $p < 0,05$), как и в других исследуемых группах, далее его значение продолжало повышаться и на 7-е сутки зарегистрирован пик концентрации ФНО- α (повышение в 7 раз) в данной группе больных (21,57 (11,1; 51,7) пг/мл

против 2,8 (0,8; 10,9) пг/мл, $p < 0,01$), на 12-е сутки его уровень оставался повышенным в 6 раз (16,02 (9,45; 29,7) пг/мл, $p < 0,01$) по сравнению с здоровыми людьми. ИЛ-6 был также повышен на протяжении всех исследуемых дней, максимальное его значение зарегистрировано в 1-е сутки после операции – десятикратное увеличение (22,54 (19,9; 33,9) нг/мл против 2,32 (0,5; 9,4) нг/мл, $p < 0,001$), далее уровень ИЛ-6 снижался и на 12-е сутки (15,75 (10,14; 65,4) нг/мл) статистически не отличался от предоперационного показателя (9,28 (7,05; 50,05) нг/мл).

Во II группе содержание ФНО- α было увеличено в 4-6 раз в сравнении с группой контроля на протяжении всего мониторинга ($p < 0,05-0,01$). Уровень ИЛ-6 был также повышен на протяжении всего мониторинга по сравнению с здоровыми людьми, но в 1-е сутки зарегистрирована его увеличение в 16 раз (38,78 (25,6; 63,36) нг/мл против 2,32 (0,5; 9,4) нг/мл, $p < 0,001$) и на 3-и сутки сохранялся повышенным в 9 раз (21,86 (21,37; 39,63) нг/мл против 2,32 (0,5; 9,4) нг/мл, $p < 0,01$), а далее снижался до трехкратно увеличенного значения (9,28 (8,57; 10,8) нг/мл и 10,04 (7,8; 16,02) нг/мл, $p < 0,05$).

В I группе концентрация ФНО- α в 1-е сутки после операции была максимально повышена (в 13 раз) по сравнению с референсной величиной (37,6 (13,4; 92,8) пг/мл против 2,8 (0,8; 10,9) пг/мл, $p < 0,001$) и был выше (в 2-3,5 раза, $p < 0,05$), чем в других исследуемых группах (18,4 (8,9; 33,1) пг/мл во II и 10,8 (7,3; 24,5) пг/мл в III группах), далее его концентрация сохранялась повышенной в 7 раз ($p < 0,01$) и на 12-е сутки после операции была выше, чем до АКШ (23,0 (17,5; 38,5) пг/мл против 9,5 (9,1; 32,13) пг/мл, $p < 0,05$). ИЛ-6 в I группе на протяжении всего мониторинга исследования был повышен в 5-9 раз с максимальным его значением в 1-е и 3-и сутки после АКШ (19,5 (13,46; 30,7) нг/мл и 21,86 (16,48; 38,3) нг/мл против 2,32 (0,5; 9,4) нг/мл) и на 12-е сутки соответствовал предоперационному содержанию (13,2 (10,4; 53,4) нг/мл до АКШ и 13,6 (11,7; 28,5) нг/мл на 12-е сутки).

Выводы:

1. У пациентов с геморрагическими осложнениями в п/о периоде (I группа) уровень ФНО- α был максимально высоким с 1-х по 12-е иссле-

двуемые сутки (увеличение до 13 раз), что свидетельствует о активном воспалительном ответе в связи с развившимся кровотечением в послеоперационном периоде ($\chi^2 = 4,24$, $p < 0,05$) и может являться показателем неблагоприятного прогноза в вышеуказанной группе больных. До операции концентрация ФНО- α в I группе не отличалась от ее содержания в других исследуемых группах.

2. Во II (лабораторные нарушения в системе гемостаза) и III (стабильное течение после операции) группах концентрация ФНО- α была повышена в 4-7 раз по сравнению с референсным показателем.

3. Уровень ИЛ-6 во всех исследуемых группах максимально повышался в 1-е и 3-и сутки после АКШ, далее его уровень снижался, достигнув на 12-е сутки после АКШ предоперационной концентрации. Полученные данные подтверждают мнения авторов, согласно которым, ИЛ-6 увеличивается сразу после операции АКШ и должен снижаться на 3 день после операции, что обусловлено реакцией на хирургическую травму.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алтарев С.С., Кривошапова К.Е., Малышенко Е.С., Плотников Г.П., Иванов С.В., Барбараш О.Л. Безопасность проведения операций коронарного шунтирования на фоне продолжающегося приема аспирина. Сердце: журнал для практикующих врачей. 2014; 13, №5 (79): С. 278-286.
2. Мухамедова У.М., Карпенко М.А., Солнцев В.Н. Свертывающая система крови и объем кровопотери при коронарном шунтировании у больных ишемической болезнью сердца и артериальной гипертензией с различной чувствительностью к аспирину. Артериальная гипертензия. 2011; 17, (5): С. 474-477.
3. Павлунина Т. О., Шувалова Ю. А., Каминная В. И. Ассоциация уровней интерлейкина-6 и холестерина липопротеинов высокой плотности с тяжестью атеросклеротического поражения коронарных артерий. Атеросклероз и дислипидемии. 2013; 4: 57-62.
4. Biancari F, Brascia D, Onorati F, Reichart D, et al. Prediction of severe bleeding after coronary surgery: the WILL-BLEED Risk Score. Thromb. Haemost. 2016. DOI: 10.1160/TH16-09-0721.
5. Campbell C.L., Steinhubl S.R., Hooper W.C., Jozic J., Smyth S.S., et al. Bleeding events are associated with an increase in markers of inflammation in acute coronary syndromes: an AUCITY trial substudy. J. Thromb. Thrombolysis. 2011; 31(2): 139-45. doi: 10.1007/s11239-010-0513-1.
6. Devereaux P.J., Mrkobrada M., Sessler D.I., et al. Aspirin in patients undergoing noncardiac surgery. N. Engl J. Med. 2014; 370 (16): 1494-503.
7. Dyke C., Aronson S., Dietrich W., Hofmann A., Karkouti K., Levi M., et al. Universal definition of perioperative bleeding in adult cardiac surgery. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2014; 147: 1458-63.
8. Horvath K.A., Acker M.A., Chang H., et al. Blood transfusion and infection after cardiac surgery. Ann Thorac. Surg. 2013; 95: 2194-201.
9. Loor G., Rajeswaran J., Li L., et al. The least of 3 evils: Exposure to red blood cell transfusion, anemia, or both? J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2013; 146: 1480-87.
10. Woźniak S., Woźniak K., Hryniewiecki T., Kruk M., Różański J., Kuśmierczyk M. The predictive value of multiple electrode platelet aggregometry for postoperative bleeding complications in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. Kardiochir Torakochirurgia Pol. 2016; 13(1): 3-9. doi: 10.5114/kitp.2016.58957.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛИКОПИДА В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ДЕТЕЙ, СТРАДАЮЩИХ ХРОНИЧЕСКИМ РИНОСИНУСИТОМ

Шоазизов Н.Н., Хасанов Н.А.

Ташкентский Педиатрический Медицинский Институт, Ташкент, Узбекистан

THE EFFICACY OF LICOPID IN COMPLEX TREATMENT OF CHILDREN SUFFERING FROM CHRONIC RHINOSINUSITIS

Shoazizov N.N., Khasanov N.A.

Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan

В последние годы наблюдается тенденция увеличения числа длительно и часто болеющих детей (ЧБД). Данная группа включает детей с эпизодическим повышением заболеваемости, в частности ОРЗ в течение года, так и детей страдающих повторными респираторными заболеваниями в течение длительного периода жизни. Рецидивирующие респираторные инфекции приводят к нарушению функционального состояния организма, могут обуславливать срыв адаптации основных функциональных систем детского организма и приводить к развитию хронической патологии [1,3,4]. Патогенетическую основу часто болеющих детей составляют механизмы, связанные с нарушениями эффективности функционирования различных этапов иммунного ответа, причем как специфических иммунных реакций, так и неспецифических. Основная роль в межклеточной кооперации принадлежит цитокинам, которые регулируют процессы активации, пролиферации и дифференцировки клеток в ходе иммуногенеза [2,5,6].

Применение современных клинко-иммунологических методов позволяет глубже изучить нарушения иммунной системы, способствующие развитию повторных инфекций носоглотки и респираторного тракта и разработать адекватные методы лечения данной категории больных.

Ликопид - синтетический препарат, главной мишенью его в организме человека являются

клетки моноцитарно-макрофагального звена иммунной системы. Под влиянием Ликопида усиливается фагоцитоз микроорганизмов: стимулируются цитотоксические свойства макрофагов по отношению к бактериальным и инфицированным вирусом клеткам [2,5,6].

Цель: определение клинко-иммунологической эффективности лечения с использованием иммуномодулятора, с учетом его влияния на показатели гуморальных и секреторных факторов иммунной системы часто болеющих детей.

Методы: Под нашим наблюдением находились 57 часто и длительно болеющих детей в возрасте 3-6 лет, которые были поделены на 2 группы: 28 детей, у которых к комплексной терапии был подключен ликопид, составили 1-ю группу, а 27 детей получали общепринятое лечение – 2-я группа. 20 практически здоровых детей служили контрольной группой. Группы идентичны по полу, возрасту, характеру сопутствующих заболеваний и программе лечения. Ликопид («Пептек», Россия) назначали внутрь, по 1 мг (1 таблетка) в один прием, утром, натощак, в течение 10 дней. Иммунологические исследования были выполнены в Институте Иммунологии АН РУз. Основные параметры клеточного иммунитета определяли по идентификации на поверхности клеток кластеров дифференцировки CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25 и CD95 с использованием моноклональных антител серии LT (ТОО «Сорбент»,

Москва, Россия). Концентрацию IgG, IgA, IgM определяли по методу Манчини, фагоцитарную активность – по способности нейтрофилов поглощать частицы латекса по методу Кудрявцевой Л.В.

Математическую обработку данных проводили методами вариационной статистики с помощью стандартных математических пакетов прикладных программ на персональном компьютере с определением средней, ее ошибки, критерия t Стьюдента.

Результаты: Проведенные исследования по изучению параметров иммунной системы показали, что у больных детей наблюдается достоверное снижение общего пула Т-лимфоцитов ($P<0,01$) у 68,4%, у 12,3% наблюдалась тенденция к снижению. Снижение хелперной активности наблюдалось у 87,8% больных детей ($P<0,01$) и у 12% – наблюдалась тенденция к снижению. При этом уровень CD8+-лимфоцитов у всех больных детей имел тенденцию к снижению. Индекс иммунорегуляции был смещен в сторону подавления хелперной активности. Уровень CD16+-клеток был достоверно повышенным у всех детей ($P<0,01$). Изучение уровня лимфоцитов с маркером активации показало, что содержание CD25+-лимфоцитов был сниженным у 49,1% ($P<0,05$) и уровень CD95+-клеток был повышенным у 63,1% ($P<0,05$). Изучение гуморального звена иммунитета выявило снижение уровня В-лимфоцитов у 71,9% больных детей и снижение концентрации IgG и IgA и фагоцитарной активности у всех обследованных больных детей ($P<0,05$). Таким образом, было выявлено изменение во многих параметрах иммунной системы у обследованных больных детей. После курса иммунокоррекции ликолипидом в комплексном лечении у детей 1-й группы было выявлено, что наблюдалась тенденция к повышению уровня CD3+-лимфоцитов и достоверное повышение содержания относительного и абсолютного значения CD4+-лимфоцитов ($P<0,05$). Анализ данных гуморального иммунитета показал достоверное повышение общего пула В-лимфоцитов и иммуноглобулинов G, A и sIgA ($P<0,05$). Анализ данных в группе детей, которые получали общепринятую терапию, достоверных изменений в изученных показателях иммунитета не было выявлено. Необходимо отметить, что переносимость препарата ликолипид была хорошей, никаких побочных эффектов не наблюдалось.

Таким образом, обобщая приведенные выше результаты исследования, следует отметить, что хорошая результативность иммунокорректирующего действия ликолида у часто болеющих детей, страдающих риносинуситом, имеет большое практическое значение для здравоохранения и обеспечивает:

- уменьшение частоты заболеваемости;
- снижение числа детей, относящихся к группе часто и длительно болеющих;
- снижение длительности заболеваний;
- облегчение тяжести течения заболевания;
- практическое отсутствие побочных эффектов.

Выводы: для снижения частоты и длительности обострений детям, относящихся к группе здоровья часто и длительно болеющих, представляется перспективным включение иммунокорректирующего препарата ликолипид в общепринятую терапию.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Караулов А. В., Мищенко Е. Б., Ликов В. Ф. Дифференцированные подходы к комплексному применению иммуномодуляторов и пробиотиков у больных с часто рецидивирующими вирусными инфекциями//Вестник Уральской медицинской академической науки, 2004, №1. — с. 19–25
2. Кирюхин А. В., Парфенова Н. А., Максимова Т. А. и др. Оптимизация лечения часто и длительно болеющих детей: иммунокоррекция ликолипидом. Качество жизни. Медицина. №1 (24), 2008. С. 53–54. 33.
3. Ключников С. О., Болдырев В. Б., Кантимирова Е. А. и др. Часто болеющие дети//Российский вестник перинатологии и педиатрии. Приложение, №2, 2007. — 30 с. 34.
4. Колесникова Н.В., Кулагина М. Г., Никулин Л.А. и др. Иммунокоррекция ликолипидом нарушений фагоцитарной и микробицидной функций нейтрофильных гранулоцитов у новорожденных с дыхательными расстройствами, находящихся на длительной искусственной вентиляции легких//Иммунология, №3, 2004. — с. 155–158. 37.
5. Коровина Н. А., Заплатников А. Л.. Часто болеющие дети и современные возможности иммунопрофилактики острых респираторных инфекций. Трудный пациент, №9, 2006. 40.
6. Маркова Т. П. Иммуностропные препараты в клинической практике. В кн. Практическое пособие по клинической иммунологии и аллергологии. Под ред. Р. М. Хаитова, М., 2003, 31–45.

