

щий с помощью sIgE, наряду с sIgA, защитную роль при *H.pylori*-ассоциированной инфекции слизистой желудочно-кишечного тракта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liu A.H. Revisiting the hygiene hypothesis for allergy and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 136 (4), 860-865.
2. Rad R., Brenner L., Bauer S., et al. CD25⁺/Foxp3⁺ T cells regulate gastric inflammation and *Helicobacter pylori* colonization *in vivo*. *Gastroenterology.* 2006;131(2):525-37.
3. Lee S.P., Lee S.Y., Kim J.H., et al. Correlation between *Helicobacter pylori* infection, IgE hypersensitivity, and allergic disease in Korean adults. *Helicobacter.* 2015; 20(1): 49-55.
4. Hussain K., Letley D.P., Greenaway A.B., Winter J.A. et al. *Helicobacter pylori*-mediated protection from allergy is associated with IL-10-secreting peripheral blood regulatory T cells. *Front. Immunol.* 2016; 7: 71-86.
5. Magen E., Schlesinger M., David M., Ben-Zion I., Vardy D. Selective IgE deficiency, immune dysregulation, and autoimmunity. *Allergy Asthma Proc* 2014; 35: e27-e33

ALLERGIC DISEASES AND *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION PART 2. sIgE MUCOSAL IMMUNE RESPONSE TO *H. PYLORI*

Gervazieva V.B., Mazurina S.A., Ilintseva N.V., Sveranovskaya V.V.

I. Mechnikov Research Institute of Vaccines & Sera, Moscow, Russia

The levels of sIgA, CagA, IL-17, sIgE-to *H.pylori* and to CagA have been analyzed by ELISA in the samples of coprofiltrates, taken from children with allergy and concomitant gastrointestinal diseases. Anti-*H.pylori* and anti-CagA sIgE have been elevated in groups of patients with allergic diseases in combination with chronic gastroduodenitis and among children with erosive and ulcerous lesions, being the most significant among the last group. Non-allergic patients with chronic gastroduodenitis were characterized by the highest concentration of IL-17 and sIgA, which was associated with the confirmed *H.pylori* infection. Our data demonstrates that sIgE to *H.pylori*, together with sIgA, represent a part of protective mechanisms during the *H.pylori*-associated gastrointestinal pathology.

Key words: allergy, chronic gastroduodenitis, sIgE к *H.pylori* и CagA

СОСТОЯНИЕ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ ЖЕЛЕЗО-МОЛИБДЕНОВЫХ ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТОВ

Гегте И. Ф.^{1,2}, Медведева С. Ю.^{1,2}, Остроушко А. А.¹

¹ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет»; ²ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», Екатеринбург, Россия

При введении железо-молибденовых полиоксометаллатов (ПОМ) крысам выявлено накопление белков теплового шока (БТШ) в тимусе и селезенке без изменения гистологической структуры органов, что свидетельствует как о стрессирующем действии ПОМ, так и о защитном действии БТШ. Увеличение апоптоза лимфоцитов и H1 фракции гистоновых белков могут быть показателями, предшествующими деструктивным изменениям в органах иммунопоэза.

Ключевые слова: тимус, селезенка, белки теплового шока, апоптоз

Разработка средств адресной доставки лекарственных препаратов на основе наночастиц, в том числе железо-молибденовых полиоксометаллатов (ПОМ), требует подробного исследования их влияния на органы иммунной системы. Одним из механизмов повреждающего

действия наноматериалов может быть изменение нативной структуры белков с последующим развитием воспалительной и аутоиммунной реакций, уменьшением количества гистоновых белков, усилением апоптоза и некроза [1,2]. Адаптация к различным воздействиям связана с синтезом защитных белков теплового шока или HSP (heat shock proteins), которые восстанавливают нативную структуру белков и проявляют антиапоптотическое действие [3]. Патологические процессы в органах иммунной системы могут находить отражение в составе и метаболизме лейкоцитов крови. Так, уменьшение количества гистоновых белков в лимфоцитах может быть связано с усиленным синтезом факторов воспаления [2], а ускорение апоптоза этих клеток может быть показателем патологических изменений в органах иммунной системы, где происходит созревание лимфоцитов.

Цель работы – исследовать экспрессию белков теплового шока в тимусе и селезенке, апоптоз и содержание гистоновых белков в лимфоцитах крови при введении железо-молибденовых ПОМ.

Материалы и методы. Железо-молибденовые ПОМ с общей формулой Mo_7Fe_{30} были получены по методике Müller A. et al., 1999 [4]. Крысы Wistar массой 210-225 г были разделены на группы: интактная (10 крыс) и 3 опытные группы с внутримышечным введением ПОМ по 10 крыс в каждой (1, 7 и 30 инъекций). Обращение с животными соответствовало Директиве Совета ЕС 2010/63/EU. Доза ПОМ в одной инъекции составляла 0,15 мг/100 г. Проводили морфологическое исследование тимуса и селезенки (микроскоп Leica DM 2500). Определяли гематологические показатели (анализатор Celly 70 Biocode Hycel); белки теплового шока в тимусе и селезенке (моноклональные антитела Merck Millipore и BD Biosciences USA, тест-система Novolink™ Polymer Detection System, Leica Biosystems, Germany); количество апоптотических и некротических клеток в лейкоцитах методом проточной цитофлуориметрии (набор ANNEXIN V-FITC/7-AAD, BECKMAN COULTER, США); количество гистоновых белков в лейкоцитах крови по методу Маркушевой Л.И. и соавт., 2000 [5]. Статистический анализ проводили с помощью программ Statistica 6.0 (Stat.Soft.Inc.), Microsoft Excel 2003 и непараметрического критерия Манна-Уитни. При проверке статистических гипотез использовался уровень значимости 5 % ($P < 0,05$).

Результаты. При исследовании гематологических показателей обнаружено уменьшение общего количества лейкоцитов (преимущественно за счет фракции лимфоцитов) на 50% относительно контроля после однократного и 7-кратного введения ПОМ с последующей нормализацией показателей к 30 суткам эксперимента, что свидетельствует об отсутствии выраженного процесса воспаления на уровне целого организма. Отсутствие провоспалительной направленности лимфоцитов подтверждается сохранением на уровне контроля общего количества гистоновых белков и их фракций в группах крыс с однократным и 7-кратным введением ПОМ. В то же время после 30 инъекций ПОМ в лимфоцитах увеличилось количество H1 фракции гистоновых белков с $1,05 \pm 0,5$ мкг/млн. до $9,50 \pm 0,40$ мкг/млн. клеток ($P < 0,05$). Накопление белков H1 фракции может быть связано как с уменьшением экспрессии генов лимфоцитов, так и с уплотнением хроматина перед фрагментацией в процессе апоптоза.

После однократного и 7-кратного введения ПОМ количество апоптотических лимфоцитов не отличалось достоверно от показателей интактных крыс. Не было выявлено достоверных отличий в количестве некротических лимфоцитов во всех исследованных группах. У крыс, получивших 30 инъекций ПОМ, увеличилась доля клеток, находящихся на ранней обратимой стадии апоптоза, с $7,5 \pm 1,0\%$ до $23,8 \pm 3,8\%$, количество лимфоцитов на поздней необратимой стадии также возросло с $0,6 \pm 0,1\%$ до $9,2 \pm 3,2\%$ ($P < 0,05$). Усиление апоптоза лимфоцитов крови после 30-кратной экспозиции ПОМ может указывать на развитие изменений в тимусе и селезенке, где происходит созревание этих клеток.

При гистологическом исследовании тимуса и селезенки крыс после 30 инъекций ПОМ не было выявлено ни дистрофических изменений, ни иных структурных нарушений. В тимусе всех крыс, получавших инъекции ПОМ, обнаружено появление клеток, содержащих HSP70, и увеличение количества тимоцитов с HSP60 в 2,5-3 раза относительно контроля ($P < 0,05$), что является доказательством нарушения гомеостаза в органе, несмотря на наличие гематотимического барьера. В селезенке крыс всех опытных групп также было увеличено содержание HSP60 в 1,5 раза в красной пульпе и почти в 2 раза в белой пульпе

($P < 0,05$). Повышение количества HSP70 в красной пульпе селезенки было характерно только для групп с однократным и 30-кратным введением ПОМ.

Таким образом, увеличение содержания белков теплового шока с одной стороны, указывает на «стрессирующее» влияние ПОМ на клетки селезенки и тимуса; с другой стороны, экспрессия HSP, вероятно, предотвращает повреждение этих органов. Усиление апоптоза лимфоцитов и увеличение H1 фракции гистоновых белков могут быть информативными показателями изменений на раннем этапе воздействия ПОМ до обнаружения деструктивных изменений на уровне органов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zager RA Progressive histone alterations and proinflammatory gene activation: consequences of heme protein/iron-mediated proximal tubule injury/ Zager RA, Johnson AC. // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2010. – № 298(3). – P. 827-37.
2. Гетте И. Ф. Содержание гистоновых белков в лимфоцитах крови и проявление воспалительного процесса/ Гетте И. Ф., Данилова И. Г., Остроушко А. А. // *Российский иммунологический журнал.* – 2015. – № 2(1). 9(18). – С. 444-445.
3. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins / Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ et al. // *Cell Stress Chaperones* – 2009. – 14 (1). – P. 105-11.
4. Archimedean Synthesis and Magic Numbers: “Sizing” Giant Molybdenum – Oxide Based Molecular Spheres of the Keplerate Type./ Müller A., Sarkar S., Nazir Shah S.Q. et al. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 1999. – V. 38. – P. 3238-41.
5. Ядерные белки хроматина в оценке эффективности лечения больных псориазом / Маркушева Л. И., Савина М. И., Решина В. М. // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2000. – № 7. – С. 18-20.

CONDITION OF THE IMMUNE SYSTEM ORGANS AND BLOOD LEUCOCYTES IN RATS AFTER THE EXPOSITION OF IRON-MOLYBDENUM POLYOXOMETALATES

Gette I. F.^{1,2}, Medvedeva S. Yu.^{1,2}, Ostroushko A. A.¹

¹Ural Federal University; ²Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of RAS,
Yekaterinburg, Russia

When iron-molybdenum polyoxometalates (POM) were introduced to rats, the accumulation of heat shock proteins (HSP) in the thymus and spleen were revealed without altering the histological structure of the organs. This finding indicates both the stressing impact of the POM and the protective action of the HSP. Lymphocyte apoptosis increase and H1 histone protein increase are supposed to be indicators preceding the destructive changes in immunopoietic organs.

Key words: thymus, spleen, heat shock proteins, apoptosis