

ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ТИМУСА У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА ЦИАНОЗА ПРИ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКАХ СЕРДЦА

Логинова Н. П.¹, Орлова Е. Г.², Ширшев С. В.²,
Логинова О. А.², Шахмаметьев Р. М.³

¹Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера
Минздрава России; ²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН;

³Федеральный краевой центр сердечно-сосудистой хирургии имени С. Г. Суханова,
Пермь, Россия

Исследованы особенности дифференцировки дендритных клеток (ДК) тимуса у детей с в зависимости от типа цианоза при ВПС. Установлено, что при ВПС происходит накопление ДК в мозговом и корковом веществе долек тимуса, особенно выражено при синих типах ВПС. При сравнении синих и белых типов ВПС выявлено изменение содержания миелоидных и плазмцитоподобных ДК тимуса. Таким образом, гипоксия при ВПС вносит существенный вклад в дифференцировку ДК тимуса.

Ключевые слова: дендритные клетки тимуса, врожденные пороки сердца, цианоз, дети

Большинство врожденных пороков сердца (ВПС) у детей раннего возраста сопровождается изменением системной гемодинамики, что приводит к развитию гипоксии на клеточном и системном уровнях, нарушениям структуры и функций тимуса и иммунному дисбалансу [1]. Дендритные клетки (ДК) тимуса играют ключевую роль в презентации аутоантигенов, селекции аутореактивных тимоцитов, дифференцировке регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов [2]. В тимусе присутствуют как миелоидные (м), так и плазмцитоподобные (п) ДК [2], по-разному регулирующие дифференцировку тимоцитов. В наших предыдущих исследованиях установлена роль гипоксии в индукции формирования регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов (nTreg и Th17) в тимусе при разных типах ВПС [3], поэтому представлялось важным оценить особенности дифференцировки ДК тимуса у детей с разными типами цианоза при ВПС.

Цель исследования – изучить особенности дифференцировки ДК тимуса у детей с в зависимости от типа цианоза при ВПС.

Методы и подходы. Исследован материал тимуса 126 детей в возрасте от 1-го до 11 месяцев при коррекции ВПС. Тимэктомия проводилась в ходе сердечно-сосудистых операций

у детей до года при коррекции ВПС, в соответствии с существующей хирургической практикой Федерального краевого центра сердечно-сосудистой хирургии г. Перми. Исследования были проведены согласно Хельсинской Декларации ВМА 2000 г. и соответствуют протоколу Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г, обязательным критерием включения являлось наличие добровольного согласия со стороны законных представителей несовершеннолетних. Согласно клиническому признаку (наличие или отсутствие цианоза слизистых и кожных покровов) выделены две группы ВПС: 1-я (n=62) белые типы (без цианоза); 2-я группа (n=64) – синие типы (с цианозом). Группу сравнения составили тимусы случайно погибших, клинически здоровых детей (n=11) в возрасте от 7 месяцев до 1,2 года. Количество ДК анализировали иммуногистохимическим методом с использованием моноклональных антител к S-100 (Dako, США).

Для исследования экспрессии поверхностных молекул ДК, тимоциты выделяли из фрагментов тимуса пипетированием. Полученную суспензию дважды отмывали в забуференном физиологическом растворе pH 7.4 и оценивали экспрессию мембранных маркеров ДК иммунофлуоресцентным методом на проточном

цитометре FACSCalibur ("Becton Dickinson", США). Стратегия гейтирования ДК включала в себя логическое ограничение в гистограмме распределения клеток по морфологии, и дальнейшее определение в этом регионе специфических маркеров ДК. Количество мДК оценивали как процент клеток, экспрессирующих молекулы CD11c (Anti-human CD11c FITC, Clone 3.9, «BioLegend», США). Количество пДК детектировали как процент CD303⁺ клеток (Anti-human CD303 (BDCA-2) FITC, Clone 201A, «BioLegend», США). На мДК и пДК определяли экспрессию молекулы CD276 (B7-H3) (Anti-human CD276 PE, Clone DCN.70, «BioLegend», США) – супрессорная молекула, экспрессия которой на ДК усиливается в процессе созревания; и TSLP-R (Anti-human TSLP-R PE, Clone 1B4, «BioLegend», США) – рецептор к тимусному стромальному лимфопоэтину. Результаты выражали в виде средней арифметической и ее среднего отклонения ($M \pm m$). Достоверность различий между группами оценивали по критерию Вилкоксона.

Результаты и обсуждение. Установлено, что при ВПС независимо от типа цианоза, происходит значительное накопление ДК (S-100⁺) как в мозговом, так и в корковом веществе долек тимуса. Более интенсивное увеличение выявляется при синих ВПС, когда количество ДК в 3,8 раза ($p=0,001$) превышает значение в группе контроля, что особенно выражено в мозговом веществе долек тимуса. В корковом веществе повсеместно визуализируются тимусные тельца, вблизи которых обнаруживаются скопления ДК. Следует отметить, что накопление ДК в корковом веществе долек тимуса является не типичным и, по-видимому, обусловлено присутствием тимусных телец, что также не характерно для этой зоны. По данным литературы, в кортикальной зоне чаще выявляются незрелые S-100⁺ ДК [2]. Можно полагать, что гипоксия при ВПС влияет на процессы созревания

ДК, способствуя накоплению незрелых ДК.

При изучении экспрессии поверхностных маркеров ДК тимуса установлено, что в зависимости от типа цианоза при ВПС меняется соотношение мДК и пДК тимуса. Так при синих ВПС по сравнению с белыми снижается содержание мДК тимуса (CD11c⁺) и увеличивается общий пул пДК (CD303⁺) (таблица). При этом экспрессия TSLP-R и супрессорной молекулы CD276 (B7-H3) на мДК и пДК не менялась при разных типах ВПС. Можно полагать, что более выраженная гипоксия при синих ВПС способствует увеличению содержания пДК, что согласуется с выявленным иммуногистохимически накоплением ДК при синих ВПС.

Известно, что мДК тимуса участвуют в отрицательной селекции, а индукцию формирования пTreg инициируют оба типа клеток [2]. Можно полагать, что накопление пДК при синих ВПС будет способствовать усилению формирования пTreg. В целом, независимо от типа ВПС, вносит существенный вклад в дифференцировку ДК тимуса. При синих ВПС накопление ДК в тимусе идет более интенсивно, особенно в медуллярной зоне долек тимуса, что ассоциировано с увеличением количества пДК.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-590631.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дударев И. В. Иммунологическая и гемодинамическая характеристика детей с врожденными пороками сердца синего и бледного типа. Иммунология. 2002, 3, 167-170.
2. Wu L., Shortman K. Heterogeneity of thymic dendritic cells. Semin. Immunol. 2005, 17, 304-312.
3. Логинова Н. П. Особенности экспрессии FOXP3 и RORγt CD4⁺-тимоцитами у детей в зависимости от сложности врожденных пороков сердца. Биологические мембраны. 2016. Т. 33, № 1. С. 98-104.

Таблица. Экспрессия мембранных молекул ДК тимуса при разных типах ВПС

	мДК (CD11c ⁺)	мДК (CD11c ⁺ TSLP-R ⁺)	мДК (CD11c ⁺ CD276 ⁺)	пДК (CD303 ⁺)	пДК (CD303 ⁺ TSLP-R ⁺)	пДК (CD303 ⁺ CD276 ⁺)
Белый тип ВПС (n=4)	6,91 ± 0,65	1,36 ± 0,30	2,05 ± 0,35	2,03 ± 0,67	1,02 ± 0,52	1,86 ± 0,84
Синий тип ВПС (n=5)	4,58 ± 0,55*	1,68 ± 0,68	1,69 ± 0,74	8,41 ± 2,28*	0,85 ± 0,39	0,76 ± 0,33

Примечания: * – различия статистически значимы по критерию Вилкоксона для парных зависимых выборок при $p < 0,05$.

FEATURES OF DIFFERENTIATION OF DENDRITIC CELLS IN TYMUS IN CHILDREN DEPENDING ON TYPE OF CYANOSIS IN CONGENITAL HEART DISEASES

Loginova N. P.¹, Orlova E. G.², Shirshov S. V.²,
Loginova O. A.¹, Shekhmametyev R. M.³

¹Perm State Medical University named after Academician E. A. Wagner; ²Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms; ³Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S. G. Sukhanov, Perm, Russia

The specific features of differentiation of dendritic cells (DC) of the thymus in children with depending on the type of cyanosis at congenital heart diseases (CHD) have been studied. It has been established that the accumulation of DC in the medullar and cortical compartment of the thymus occurs at CHD, especially in the case of blue types of CHD. When comparing the blue and white types of CHD, a change in the content of myeloid and plasmacytoid DC of the thymus was revealed. Thus, hypoxia affects the differentiation of the DC at thymus at CHD.

Key words: dendritic cells of thymus, congenital heart diseases, cyanosis, children

ПАПИЛЛОМАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ: ЦИТОКИНОВЫЙ ДИСБАЛАНС У ЖЕНЩИН И МУЖЧИН ИЗ СЕМЕЙНЫХ ПАР

Маркеева Д. А., Лысенко О. В., Летяева О. И.,
Прокопьев Д. С.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Челябинск, Россия

В исследовании представлены результаты изучения наиболее значимых цитокинов цервикальной слизи женщин и эякулята мужчин 38 семейных пар с папилломавирусной инфекцией. Изменения уровней показателей носят как односторонний характер, выражающийся в повышении количества IL-2, IL-10, sIgA, так и разносторонний, характеризующийся снижением IFN- γ у женщин, при его нормальном уровне у мужчин.

Ключевые слова: ВПЧ, иммунитет, цитокины, семейные пары

В настоящее время папилломавирусная инфекция (ПВИ) является одним из наиболее распространенных заболеваний, передающихся половым путем, как среди женщин, так и среди мужчин [1-3]. При изучении ПВИ было установлено, что течение инфекции может иметь персистирующий характер и вирус папилломы человека (ВПЧ) может самопроизвольно элиминироваться из организма [2].

В отличие от рака шейки матки, который чаще обнаруживается в возрасте 35-45 лет, благодаря наличию скрининговых программ, диагноз рака полового члена преимущественно

регистрируется у лиц пожилого возраста (60-70 лет), вследствие недостаточного обследования мужчин на наличие онкогенных генотипов ВПЧ [3].

Возможность реализации неопластического процесса может быть связана с особенностями иммунного ответа [1]. При этом ряд исследователей указывают на различия иммунного ответа на канцерогенные типы ВПЧ женщин и мужчин [4, 5]. Следует отметить, что приведенные в литературе немногочисленные и неоднозначные данные по изучению иммунологических показателей при наличии ВПЧ