

Российская академия наук

# РОССИЙСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

## Russian Journal of Immunology

Том 13 (22), №2

2019

Апрель – Июнь

Журнал основан в 1996 г.

Выходит 4 раза в год

ISSN 1028-7221

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

*Главный редактор*

В.А. Черешнев

*Редакционная коллегия:*

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

*Редакционный совет:*

А.Я. Арион, И.П. Балмасова, А.Н. Глушков, И.С. Гуцин, М.В. Дегтярева,  
Н.А. Зорин, И.П. Корюкина, Г.А. Невинский, М.Б. Раев, А.Г. Румянцев,  
Л.П. Сизякина, И.А. Тузанкина, В.С. Ширинский, К.В. Шмагель

*Международный редакционный совет (по согласованию)*

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

*Адрес редакции:* 119991 ГСП-1 Москва В-334 Ленинский проспект, 32а, каб. 423

Тел.: 8-903-567-0714, Факс: (495) 434-6212

E-mail: ruimm@yandex.ru

Сайт: [www.immunoforum.ru](http://www.immunoforum.ru)

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

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

**Москва**

---

© Российская академия наук, 2019

© Составление. Редакция

«Российский иммунологический журнал», 2019

# ОБЪЕДИНЁННЫЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ФОРУМ – 2019

Новосибирск, 24–29 июня 2019 года

- VI Съезд Российского научного иммунологического общества (РНОИ)
- VIII Конференция Российского цитокинового общества (РЦО)
- VIII Конференция по иммунологии репродукции
- VIII Конференция по нейроиммунологии
- XV Конференция иммунологов Урала
- Конференция по таргетной и клеточной иммунотерапии
- Конференция по онкогематологии и онкоиммунологии
- Международная конференция по первичным иммунодефицитам
- Школа по проточной цитометрии
- Школа по ревматологии
- Циклы повышения квалификации

## ОРГАНИЗАТОРЫ ФОРУМА

Министерство здравоохранения РФ

Российская академия наук

Российский фонд фундаментальных исследований (РФФИ)

НИИ фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФКИ)

Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)

Новосибирский государственный университет (НГУ)

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН

ГНЦ – Институт иммунологии ФМБА РФ

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

Институт особо чистых биопрепаратов ФМБА РФ

НМИЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова

Санкт-Петербургский государственный университет

Российское научное общество иммунологов (РНОИ)

Российское цитокиновое общество (РЦО)

Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов (РААКИ)

Национальная ассоциация экспертов в области первичных иммунодефицитов (НАЭПИД)

Научное общество по нейроиммунологии и нейроиммуномодуляции

Союз аллергологов и иммунологов СНГ

Общество ревматологов России

Инициативная группа по созданию Российского общества иммунологии репродукции

Международный просветительский проект по первичным иммунодефицитам J Project

Уральское общество иммунологов, аллергологов и реабилитологов

**Мероприятие проведено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 19-015-20003**

## СОСТАВ НАУЧНО-ОРГАНИЗАЦИОННОГО КОМИТЕТА

### Председатель Форума:

В. А. Черешнев Президент РНОИ – академик РАН (Екатеринбург)

### Сопредседатели:

В. А. Козлов Председатель РЦО – академик РАН (Новосибирск)

Р. М. Хаитов Председатель РААКИ – академик РАН (Москва)

Р. И. Сепиашвили Председатель САИ-СНГ – член-корр. РАН

А. Г. Румянцев Председатель НАЭПИД – академик РАН (Москва)

Laszlo Marodi Руководитель J Project – профессор (Венгрия)

### Координатор научной программы:

И. Г. Козлов Вице-президент РНОИ – профессор (Москва)

## Члены научно-организационного комитета:

|                  |  |                 |  |
|------------------|--|-----------------|--|
| А.Г. Борисов     | – к.м.н. (Красноярск)                                  | Д.В. Пышный     | – член-корреспондент РАН (Новосибирск)     |
| Т.П. Ветлугина   | – д.б.н., профессор (Томск)                            | М.Б. Раев       | – д.б.н., профессор (Пермь)                |
| Е.Д. Гаврилова   | – к.б.н. (Новосибирск)                                 | А.П. Ризопулу   | – д.б.н. (Москва)                          |
| Л.В. Ганковская  | – д.м.н., профессор (Москва)                           | О.А. Свитич     | – член-корреспондент РАН (Москва)          |
| А.Г. Гончаров    | – к.м.н. (Калининград)                                 | С.В. Сенников   | – д.м.н., профессор (Новосибирск)          |
| А.Н. Глушков     | – д.м.н., профессор (Кемерово)                         | А.Н. Силков     | – д.б.н. (Новосибирск)                     |
| И.И. Долгушин    | – академик РАН (Челябинск)                             | А.С. Симбирцев  | – член-корреспондент РАН (Санкт-Петербург) |
| А.В. Жестков     | – д.м.н., профессор (Самара)                           | С.В. Смирнова   | – д.м.н., профессор (Красноярск)           |
| С.А. Заморина    | – д.б.н. (Пермь)                                       | Н.Ю. Сотникова  | – д.м.н., профессор (Иваново)              |
| А.В. Зурочка     | – д.м.н., профессор (Челябинск)                        | Ю.Г. Суховой    | – д.м.н., профессор (Тюмень)               |
| Н.И. Ильина      | – д.м.н., профессор (Москва)                           | Л.Ф. Телешева   | – д.м.н., профессор (Челябинск)            |
| А.В. Караулов    | – академик РАН (Москва)                                | А.А. Тотолян    | – академик РАН (Санкт-Петербург)           |
| Л.И. Колесникова | – академик РАН (Иркутск)                               | И.А. Тузанкина  | – д.м.н., профессор (Екатеринбург)         |
| Н.В. Колесникова | – д.б.н., профессор (Краснодар)                        | А.В. Тутельян   | – член-корреспондент РАН (Москва)          |
| Н.А. Колчанов    | – академик РАН (Новосибирск)                           | Ф.П. Федорук    | – член-корреспондент РАН (Новосибирск)     |
| В.И. Коненков    | – академик РАН (Новосибирск)                           | Т.Г. Федоскова  | – д.м.н., профессор (Москва)               |
| Е.А. Корнева     | – академик РАН (Санкт-Петербург)                       | М.Р. Хаитов     | – член-корреспондент РАН (Москва)          |
| В.А. Краснов     | – д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ (Новосибирск) | С.В. Хайдуков   | – д.б.н. (Москва)                          |
| Л.С. Литвинова   | – д.б.н. (Калининград)                                 | К.В. Хальзов    | – к.м.н. (Новосибирск)                     |
| Ю.В. Лобзин      | – академик РАН (Санкт-Петербург)                       | Н.А. Хонина     | – д.м.н., профессор (Новосибирск)          |
| И.О. Маринкин    | – д.м.н., профессор (Новосибирск)                      | Н.В. Чердынцева | – член-корреспондент РАН (Томск)           |
| Е.В. Маркелова   | – д.м.н., профессор (Владивосток)                      | Е.Р. Черных     | – член-корреспондент РАН (Новосибирск)     |
| Е.В. Маркова     | – д.м.н., профессор (Новосибирск)                      | Е.Я. Шевела     | – д.м.н. (Новосибирск)                     |
| В.А. Мордвинов   | – д.м.н., профессор (Новосибирск)                      | В.С. Ширинский  | – д.м.н., профессор (Новосибирск)          |
| Е.Л. Насонов     | – академик РАН (Москва)                                | И.В. Ширинский  | – д.м.н. (Новосибирск)                     |
| И.В. Нестерова   | – д.м.н., профессор (Краснодар)                        | К.В. Шмагель    | – д.м.н., профессор (Пермь)                |
| А.А. Останин     | – д.м.н., профессор (Новосибирск)                      | А.Ю. Щербина    | – д.м.н., профессор РАН (Москва)           |
| А.П. Продеус     | – д.м.н., профессор (Москва)                           |                 |  |
| А.Г. Покровский  | – член-корреспондент РАН (Новосибирск)                 |                 |  |

### Технический комитет форума

к.б.н. Л.В. Гришина (Новосибирск), Н.Б. Кирилова (Новосибирск),  
Н.В. Ракитянская (Санкт-Петербург), к.м.н. М.А. Болков (Екатеринбург)

### Техническое сопровождение Форума

Общество с ограниченной ответственностью «БизнесСтандарт»  
Адрес: 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 68/1, оф. 403  
Сайт bs-sib.ru

## ФОРУМ ОРГАНИЗОВАН ПРИ ПОДДЕРЖКЕ

### Генеральный спонсор

ООО «Бекмен Культер»

### Спонсоры

Штада, НПО Петровакс Фарм, АО Пептек, CSL BEHRING, ЛЕО Фармасьютикал, Новартис Фарма,  
Корус Фарма, Мерк-Люминекс, MIRUS Medical, Ферон, Хеликон, Мединторг, Биокоммерс,  
Фирн М, Лабтех, Аналитика, Инвитро, Бiotек, КДЛ Новосибирск-тест

## СЕРГЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ КЕТЛИНСКИЙ



12 июня 2019 г. на 79-м году жизни после продолжительной болезни скончался член-корреспондент РАН, Лауреат премии Правительства Российской Федерации, профессор, доктор биологических наук Сергей Александрович Кетлинский.

С. А. Кетлинский родился в 1940 г. в Ленинграде в семье писателей. В 1968 г. окончил 1-й Ленинградский медицинский институт им. акад. И. П. Павлова, затем работал врачом скорой помощи. С 1968 г. научный сотрудник, а затем заведующий лабораторией гистологии Института экспериментальной медицины РАМН.

С 1982 г. С. А. Кетлинский — сотрудник ГосНИИ особо чистых биопрепаратов. Его научная деятельность посвящена молекулярным аспек-

там иммунологии, изучению медиаторов иммунитета — цитокинов. В 1990 г. С. А. Кетлинскому присвоено звание «профессор» по специальности «аллергология и иммунология». В этом же году он назначается заместителем директора ГосНИИ особо чистых биопрепаратов по научной работе. В 2005 г. С. А. Кетлинскому присвоено звание члена-корреспондента Российской академии наук. Он является лауреатом премии Правительства Российской Федерации 2006 года в области науки и техники за конструирование бактериальных продуцентов, организацию биотехнологического производства субстанций и препаратов на основе рекомбинантных цитокинов человека и внедрение разработанного медицинского препарата Беталейкин. В 2008 г. С. А. Кетлинский награжден дипломом российского общества иммунологов за выдающиеся достижения в области иммунологии.

С. А. Кетлинский предложил программу изучения цитокинов и создания на их основе генно-инженерных лекарственных препаратов. В результате выполнения программы создано производство рекомбинантных препаратов, сертифицированное по международным требованиям GMP, разработаны и внедрены в клиническую практику лекарственные средства для лечения социально значимых заболеваний. Широкий научный кругозор, блестящее знание современных тенденций развития исследований, концептуальный научный подход к развитию молекулярной иммунологии, научная принципиальность позволили С. А. Кетлинскому сформировать школу исследователей-единомышленников и достигнуть высоких научных результатов.

Ушел наш друг и товарищ, жизненная позиция которого основывалась на принципах справедливости, ответственности, доброты и взаимопомощи. Таким мы и будем его помнить.

# СОДЕРЖАНИЕ

Том 13 (22), № 2, 2019

## Оригинальные статьи

- З. Х. Абазова, И. Х. Борукаева, В. К. Кумыков, Л. А. Шибзухова*  
Эффективность гипокситерапии при субклинической тиреоидной дисфункции аутоиммунного генеза 124
- К. С. Абрамов, Е. В. Давыдова, М. В. Осиков, С. А. Коченгина*  
Влияние озонотерапии на иммунный статус при изолированных переломах бедренной кости 127
- К. С. Абрамов, Е. В. Давыдова*  
Показатели функциональной активности моноцитов крови в условиях озонотерапии при изолированных переломах бедренной кости 130
- Ж. И. Авдеева, А. А. Солдатов, М. В. Киселевский, В. П. Бондарев*  
Препараты моноклональных антител в онкологии 133
- Е. Б. Акулова, Б. В. Мурашев, О. В. Назаренко, С. В. Веревошкин, А. Э. Машарский, Р. И. Аль-Шехадат, Д. А. Лиознов, А. П. Козлов*  
Иммунологические корреляты кандидатной ДНК-вакцины против ВИЧ-1 субтипа А 136
- Е. А. Андреева, Н. А. Хонина, Н. М. Пасман*  
Микровезикулы фолликулярной жидкости у женщин в цикле ЭКО 139
- Т. А. Аристова, Е. В. Баторов, А. А. Останин*  
Содержание миелоидных супрессорных клеток у пациентов с множественной миеломой на фоне мобилизации гемопоэтических стволовых клеток 142
- И. П. Балмасова, Е. С. Малова, Е. П. Ефратова*  
ВИЧ-инфекция и проблема коинфицирования ВИЧ/ВГС 144
- А. А. Барило, С. В. Смирнова*  
Иммунологические показатели у больных псориазом в зависимости от степени тяжести заболевания 147
- А. А. Барило, И. В. Борисова, С. В. Смирнова*  
Особенности спектра пищевой сенсибилизации при атопической бронхиальной астме у детей 150
- Е. А. Басс*  
Молекулярная диагностика при аллергии на кошку у детей с аллергическим ринитом 153
- А. В. Бекпергенова, Н. Б. Перунова, С. В. Андриященко, И. А. Здвижкова, А. Р. Миронова*  
Способность условно-патогенных микроорганизмов инактивировать лизоцим под влиянием супернатантов ассоциаций бифидобактерий 156
- С. В. Беляева, Д. С. Сташкевич*  
Роль полиморфизма гена рецептора витамина D (VDR FokI) в развитии туберкулеза легких у русских Челябинской области 159
- А. Г. Берзина, Л. И. Ульянова, Н. Б. Гамалея, Т. А. Климова, А. В. Трофимов, Н. В. Станкова*  
Особенности биологических свойств антиидиотипических и третичных антител к двум производным морфина 162
- А. А. Бирюкова, И. В. Ширинский*  
Использование статинов для лечения неинфекционного увеита 165

|   |     |
|---|-----|
| <i>Е. А. Блинова, А. Е. Макарова, Е. А. Папкина, Д. В. Демина, В. А. Козлов</i>   |     |
| Анализ показателей иммунного статуса и функции внешнего дыхания у пациентов с бронхиальной астмой в динамике Т-клеточной иммунотерапии и стандартной терапии                            | 168 |
| <i>А. Д. Богомазов, Л. Ю. Зайцева, А. С. Серёжкина</i>  |     |
| Анализ причин возникновения и особенностей диагностики аллергических заболеваний у детей, проживающих на территории Курской области   | 171 |
| <i>И. Х. Борукаева, З. Х. Абазова, М. Р. Рагимбекова, Ф. Х. Темиржанова</i>   |     |
| Влияние интервальной гипокситерапии и энтеральной оксигенотерапии на иммунологическую реактивность у больных бронхиальной астмой  | 174 |
| <i>Н. А. Быстрова, А. А. Шульгинова, О. А. Суняйкина, Д. О. Машошина</i>  |     |
| Иммунореабилитация при хронической ишемии головного мозга   | 177 |
| <i>Н. В. Бычкова</i>  |     |
| Возможности лаборатории в диагностике лекарственной гиперчувствительности   | 180 |
| <i>Т. П. Ветлугина, В. Б. Никитина, А. И. Мандель, А. С. Бойко, В. Д. Прокопьева, Н. А. Бохан</i>   |     |
| Факторы иммуноэндокринной регуляции при алкогольной зависимости на этапе формирования терапевтической ремиссии  | 183 |
| <i>Т. И. Виткина, А. А. Лысак, К. А. Сидлецкая</i>  |     |
| Роль CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127 <sup>-</sup> Т-клеток и цитокинового ответа в регуляции системного воспаления при хронической обструктивной болезни лёгких                | 187 |
| <i>Д. Н. Воронин, Д. Л. Воскресенская</i>   |     |
| Экспрессия различных изоформ TGFβ и его рецепторов в лейомиоме матки  | 190 |
| <i>Д. Л. Воскресенская, А. И. Малышкина, Ю. С. Анциферова</i>   |     |
| Взаимосвязь характера синтеза коллагена в ткани лейомиомы матки с особенностями роста опухоли   | 192 |
| <i>В. В. Вторушина, Л. В. Кречетова, Н. К. Тетруашвили, М. А. Николаева</i>   |     |
| Антиотцовские антилейкоцитарные антитела как маркеры эффективности аллоиммунизации женщин с идиопатическим привычным выкидышем  | 194 |
| <i>С. О. Генинг, Т. В. Абакумова, И. И. Антонеева, Т. П. Генинг, Д. Р. Долгова</i>  |     |
| Функциональные полиморфизмы генов <i>TNFA</i> (G-308A), <i>IL-1β</i> (T-31C), <i>IL-10</i> (C-592A) как факторы, влияющие на эффективность химиотерапии распространенного рака яичников | 197 |
| <i>Д. Г. Герасимова, Т. В. Радыгина, Р. Ш. Закиров, Э. Т. Амбарчян, А. И. Материкин, Р. В. Епишев, Н. Н. Мурашкин, С. В. Петричук</i>   |     |
| Популяции клеток-супрессоров миелоидного происхождения у детей с псориазом  | 200 |
| <i>О. А. Гизингер, О. Р. Зиганшин, А. О. Лакницкая, В. И. Карандашов, Е. С. Завгородний</i>   |     |
| Использование иммуностропных эффектов монохроматического света с длиной волны 450 нм в комплексной терапии стафилококковых поражений кожи   | 203 |
| <i>А. П. Годовалов, С. А. Торпицын, Т. И. Карпунина</i>   |     |
| Морфологические изменения эндометрия у инфертильных женщин на фоне хронического воспаления  | 206 |
| <i>М. В. Головизнин, Н. С. Лахонина, В. Т. Тимофеев, Ю. А. Булдакова</i>  |     |
| Тимус в клинике аутоиммунных заболеваний. Актуальность и перспективы прижизненного мониторинга  | 208 |
| <i>И. А. Гольдина, Е. В. Маркова, И. В. Савкин</i>  |     |
| Эффективность биофлавоноидов при экспериментальном алкоголизме  | 212 |
| <i>Н. П. Горбунов, В. А. Костевич, А. В. Соколов</i>  |     |
| Получение моноклональных антител с целью иммуноаффинной очистки миелопероксидазы и создания прототипа гемосорбента  | 215 |

|  |     |
|--|-----|
| <i>Л. А. Гордеева, Е. Н. Воронина, Е. Г. Поленок, С. А. Мун, Р. В. Оленникова, М. Л. Филипенко, А. Н. Глушков</i><br>Изучение связи между полиморфизмом гена <i>HLA-G</i> и риском невынашивания беременности у женщин с персистентной бактериально-вирусной инфекцией | 218 |
| <i>И. С. Гребенищikov, А. Е. Студенников, А. Н. Глушков, В. А. Устинов</i><br>Идиотипические и антиидиотипические антитела против полициклических ароматических углеводов в сыворотке крови человека как новые маркеры рака легкого                                    | 221 |
| <i>Е. И. Данилова, О. Е. Челпаченко, И. Н. Чайникова, Е. В. Иванова, И. А. Никифоров</i><br>Уровень цитокинов в копрофильтратах больных реактивным артритом в зависимости от степени дисбиоза кишечника  | 224 |
| <i>Н. С. Деева, А. В. Цепочкина, А. В. Шабалдин, С. А. Шмулевич, Е. Н. Воронина, М. Л. Филипенко, Е. В. Шабалдина</i><br>Иммуногенетические аспекты формирования врожденных пороков конотрункуса без хромосомных заболеваний   | 227 |
| <i>С. А. Долгарева, О. Н. Бушмина, Н. А. Конопля, О. В. Хорлякова</i><br>Врожденный и адаптивный иммунитет при экспериментальном остром панкреатите на фоне алкогольной интоксикации; коррекция нарушений  | 230 |
| <i>М. С. Долгополов*, Е. В. Просекова</i><br>Предикторная значимость полиморфизмов генов интерферона-гамма и интерлейкина-4 при бронхиальной астме у детей   | 233 |
| <i>И. И. Долгушин, А. Ю. Савочкина, Л. Р. Пыхова, О. С. Абрамовских, Е. А. Четвернина, А. Е. Полторац</i><br>Сравнительный анализ показателей функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком              | 236 |
| <i>С. В. Дутова, М. Р. Карпова</i><br>Результаты доклинического исследования нового иммунокорректора растительного происхождения   | 239 |
| <i>Е. А. Ермаков, Л. П. Смирнова, Н. М. Кротенко, А. В. Семке, В. Н. Бунева, Г. А. Невинский</i><br>Каталазная активность каталитических антител при шизофрении  | 242 |
| <i>О. О. Жеребятьева, А. Ю. Миронов, Е. А. Михайлова, Г. О. Махалова, С. Б. Киргизова, М. В. Фомина, И. Э. Ляшенко</i><br>Инфектологические параметры как предикторы фертильного неблагополучия  | 245 |
| <i>М. О. Журавлева, А. В. Мещеряков</i><br>Влияние триггерных инфекций на иммунный статус больных урогенным реактивным артритом  | 248 |
| <i>Л. Ф. Зайнетдинова, А. В. Коряушкина, Л. Ф. Телешева</i><br>Состояние системного иммунитета у женщин с наружным генитальным эндометриозом и ВПЧ   | 251 |
| <i>Н. С. Зайцева, Л. П. Сизякина</i><br>Динамика изменений иммунного статуса у военнослужащих в условиях выполнения профессиональных задач   | 254 |
| <i>С. А. Заморина, Л. С. Литвинова, К. А. Юрова, О. Г. Хазиахматова, В. П. Тимганова, М. С. Бочкова, П. В. Храмов, М. Б. Раев</i><br>Влияние трофобластического $\beta 1$ -гликопротеина на хемокиновый профиль культивируемых Т-хелперов и мононуклеарных клеток      | 257 |
| <i>В. В. Здор, Б. И. Гельцер</i><br>Новые аспекты иммунопатогенеза болезни Грейвса – цитокиновая регуляция и клеточная инфильтрация щитовидной железы при аутоиммунном тиреотоксикозе  | 260 |
| <i>А. А. Зенина, Д. Ф. Бекерова, Александра И, Л. Д. Маркина</i><br>Связь послеоперационной когнитивной дисфункции (ПКД) с уровнем металлопротеиназы 2, интерлейкина 17 и трансформирующего фактора роста $\beta 2$ (бетта2)   | 264 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>М. М. Зиганишина, Н. В. Шилова, Г. В. Куликова, Н. Р. Хасбиуллина, А. И. Щеголев, А. Ю. Нокель, Е. Л. Долгополова, Н. В. Бовин</i>                   |     |
| Гликопатология в системе мать-плацента-плод при развитии больших акушерских синдромов, связанных с дефектами плацентации                                | 267 |
| <i>Е. Ю. Златник, А. Л. Базаев, С. С. Кочуев</i>  |     |
| Прогностическая значимость тканевого уровня цитокинов при некоторых злокачественных опухолях  | 270 |
| <i>С. А. Зозуля, С. Г. Никитина, Н. В. Симашкова, Т. П. Ключник</i>   |     |
| Иммунологические предикторы социального функционирования у детей с эндогенными психозами  | 273 |
| <i>О. Ю. Зольникова, В. Т. Ивашкин</i>  |     |
| Спектр метаболитов кишечной микрофлоры у пациентов с астмой   | 276 |
| <i>А. В. Зубков, М. А. Андреева, А. В. Сидоров, А. В. Милованова, Л. Г. Бутова</i>  |     |
| Клонирование гена рецептора тиреотропного гормона человека  | 278 |
| <i>М. Ф. Иванов, А. В. Жестков, А. А. Суздальцев, Л. Л. Попова, И. П. Балмасова</i>   |     |
| Иммунопатогенетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом в динамике инфекционного процесса                                     | 281 |
| <i>О. Ю. Иванова, О. В. Телегина, Н. А. Пономарева, К. А. Елагина, И. И. Коломоец</i>   |     |
| Комплексная коррекция иммунных нарушений при аденомиозе   | 284 |
| <i>В. Т. Ивашкин, О. Ю. Зольникова</i>  |     |
| Избыточный бактериальный рост в тонкой кишке (ИБР) – фактор, утяжеляющий течение атопической астмы  | 287 |
| <i>А. Н. Каландарова, Т. У. Арипова, Г. З. Ешимбетова</i>   |     |
| Локальный уровень белков острой фазы у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией  | 290 |
| <i>А. А. Калашникова, Т. М. Ворошилова, О. М. Слащева</i>   |     |
| Взаимосвязь прокальцитонина и CD64 <sup>+</sup> с бактериемией и выраженностью органной дисфункции  | 293 |
| <i>Т. А. Кармакова</i>  |     |
| Иммунологические аспекты возникновения и прогрессии злокачественных новообразований   | 296 |
| <i>О. Ю. Килина, С. В. Дутова, Ю. В. Саранчина, Т. А. Матросова, Н. Г. Польща, Т. С. Кулакова, Н. В. Ханарин, П. И. Шандаков</i>                        |     |
| Анализ фагоцитарной активности нейтрофилов при атеросклерозе  | 299 |
| <i>Ф. Д. Киреев, А. А. Альшевская, Ж. А. Лаушкина, С. В. Сенников</i>   |     |
| Рецепторы к фактору некроза опухоли у больных активным туберкулёзом лёгких  | 302 |
| <i>С. В. Кныш, В. А. Малков, А. В. Ширяева, Е. В. Байбарина</i>   |     |
| Оценка состояния субпопуляций Т-лимфоцитов при хронической герпетической инфекции   | 305 |
| <i>С. В. Ковалева, Г. А. Чудилова, Л. В. Ломтатидзе, И. В. Нестерова</i>  |     |
| Моно- и комбинированная иммунотерапия иммунокомпрометированных детей с возвратными ко-инфекциями  | 308 |
| <i>Я. И. Козлова, Е. В. Фролова, А. Е. Учеваткина, Л. В. Филиппова, Н. В. Васильева, Н. Н. Климко</i>   |     |
| Диагностическое значение иммунологических маркеров аллергического бронхолегочного аспергиллеза у больных бронхиальной астмой                            | 311 |
| <i>Е. Н. Кольцова, Г. В. Лукина, Е. И. Шмидт, Е. В. Жиляев</i>  |     |
| Поиск предикторов вынужденной отмены таргетных препаратов при лечении ревматоидного артрита ввиду развития нежелательных явлений                        | 314 |
| <i>М. О. Комлева, Н. В. Комлева, А. И. Смолягин</i>   |     |
| Характеристика иммунного и гормонального статуса девушек-подростков с нарушениями менструального цикла, проживающих на территориях Оренбургской области | 317 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>А. Ю. Конищева, В. Б. Гервазиева</i>   |     |
| Вирусы семейства <i>Herpesviridae</i> и аутореактивность у больных бронхиальной астмой  | 320 |
| <i>А. А. Конопля, С. А. Гавриш, Ж. П. Омашарифа</i>   |     |
| Иммунные нарушения на местном уровне при хроническом эндометрите; иммунореабилитация  | 323 |
| <i>О. Г. Корнилова, Е. А. Хуснатдинова, М. А. Кривых, Ю. В. Олефир</i>  |     |
| Современные требования к экспертной оценке специфической безопасности лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека                | 326 |
| <i>Л. Б. Королевская, Е. В. Сайдакова</i>   |     |
| Нарушение функции CD4 <sup>+</sup> Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию     | 329 |
| <i>Е. Г. Костоломова, Ю. Г. Суховой, И. Г. Унгер, Т. В. Акунеева, О. А. Кривоносова, Т. В. Зенкова, О. В. Макеева, О. Ю. Швец</i>       |     |
| Цитометрический анализ экспрессии маркеров активации на CD4 Т-лимфоцитах при ревматоидном артрите                                       | 332 |
| <i>А. В. Костюшко, А. А. Яковлев, А. И. Абакумов, Е. А. Чагина, А. С. Харина, Д. Д. Сотникова</i>                                       |     |
| Оценка эффективности иммуномодуляторов при экспериментальной пневмонии  | 335 |
| <i>А. С. Красницкая, О. С. Бочарова, Ю. Ю. Первов, Т. Н. Климкина</i>   |     |
| Характеристика локального цитокинового профиля у пациентов с хроническим тонзиллитом в зависимости от этиологии                         | 338 |
| <i>Л. В. Кречетова, Н. К. Тетрашвили, В. В. Вторушина, М. А. Николаева, Л. В. Ванько</i>  |     |
| Иммунологические критерии назначения аллоиммунизации в лечении идиопатического привычного выкидыша                                      | 341 |
| <i>Н. В. Крошкина, А. В. Куст, Е. В. Козелкова</i>  |     |
| Анализ цитокинов периферической крови у женщин с привычным невынашиванием беременности  | 344 |
| <i>И. И. Крукиер, В. В. Авруцкая, Л. Л. Ерджанян, А. В. Рожков, А. А. Никашина, Ю. А. Петров</i>  |     |
| Динамика цитокиновой продукции сыворотки крови и околоплодных вод при угрозе прерывания беременности                                    | 347 |
| <i>А. В. Кудряшова, И. А. Панова, Е. А. Рокотянская</i>   |     |
| Роль нейтрофилов в патогенезе преэклампсии  | 350 |
| <i>А. В. Кудряшова, И. А. Панова, Е. А. Рокотянская, А. С. Панащатенко</i>  |     |
| Сывороточное содержание цитокинов, регулирующих пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов при гипертензивных расстройствах у беременных | 353 |
| <i>Н. С. Кузьмина, А. В. Зубков, В. В. Свиридов</i>   |     |
| Доступность эпитопов тиреоидной пероксидазы в иммуноферментных диагностикумах для определения аутоантител                               | 356 |
| <i>У. Ш. Кузьмина, К. З. Бахтиярова, Ю. В. Вахитова</i>   |     |
| Глутамат-опосредованные механизмы регуляции экспрессии VLA-4 при рассеянном склерозе  | 359 |
| <i>А. В. Куст, Е. В. Козелкова, А. В. Садыгова, Н. Ю. Борзова, А. В. Смирнова, Н. В. Батрак</i>   |     |
| Инфекционный статус у женщин с угрозой прерывания и привычным невынашиванием беременности в анамнезе                                    | 362 |
| <i>М. А. Левкович, И. И. Крукиер, Л. Л. Ерджанян, А. В. Калинина</i>  |     |
| Значение медиаторов воспаления в патогенезе преждевременных родов   | 365 |
| <i>М. А. Левкович, Л. В. Кравченко, А. Ю. Левкович, М. В. Пятикова</i>  |     |
| Цитокиновый профиль новорожденных детей с генерализованной герпетической инфекцией  | 368 |
| <i>Е. С. Литвинова, А. И. Конопля</i>   |     |
| Коррекция иммунных нарушений при экспериментальной острой ишемии печени   | 371 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>О. А. Лобачева, Т. П. Ветлугина, Е. Г. Корнетова, А. В. Семке</i>  |     |
| Иммуноэндокринные нарушения у больных шизофренией в процессе антипсихотической терапии  | 374 |
| <i>Ю. В. Логинова, О. С. Абрамовских, Т. И. Никонова</i>  |     |
| Определение частот полиморфизмов генов IL-17A И IL-17F у женщин с невынашиванием беременности   | 377 |
| <i>А. В. Локтионова, Н. А. Быстрова, А. Л. Локтионов</i>  |     |
| Иммунореабилитация препаратами магния при остром деструктивном панкреатите в эксперименте   | 380 |
| <i>Д. С. Любимов</i>  |     |
| Иммунологические фенотипы тимомегалии у детей раннего возраста с острыми бронхитами   | 383 |
| <i>Н. М. Магзумова, Д. А. Мусаходжаева, Д. У. Исмоилова</i>   |     |
| Эффективность применения иммунокорректирующей терапии при наружном генитальном эндометриозе   | 385 |
| <i>С. А. Мазурина, А. Ю. Конищева, Т. П. Оспельникова, В. Б. Гервасиева</i>   |     |
| sIgE к бактериальным аллергенам у больных хроническими воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей  | 388 |
| <i>Д. А. Малышкина, Ю. С. Анциферова, Н. В. Долгушина</i>   |     |
| Особенности экспрессии рецепторов семейства NCR в популяции эндометриальных естественных киллеров у пациенток с лейомиомой матки                            | 391 |
| <i>Е. В. Маркелова, Н. И. Грачев, А. А. Семенихин, А. В. Караулов</i>   |     |
| Иммунобиохимические предикторы неблагоприятного прогноза у пациентов с острым инфарктом миокарда после коронарного стентирования                            | 394 |
| <i>Е. В. Маркова, М. А. Княжева, Т. Г. Амтиславская</i>   |     |
| Влияние модулированных кофеином иммунных клеток на поведенческие паттерны депрессивно-подобных животных   | 397 |
| <i>А. И. Мартынов, Т. Г. Федоскова, Т. В. Феофанова, Э. В. Зеленова</i>   |     |
| Пошаговое моделирование снижения рисков частых случаев острой респираторной вирусной инфекции в группах лиц с разным иммунным статусом                      | 400 |
| <i>И. В. Менжинская, Л. В. Ванько</i>   |     |
| Исследование антител к $\beta 2$ -гликопротеину-I и домену I у женщин с привычным невынашиванием беременности   | 403 |
| <i>Е. Д. Меркушова, Е. М. Хасанова, О. А. Свитич, Н. В. Баткаева, М. М. Гитинова, Л. В. Ганковская</i>  |     |
| Роль TLR9 и компонентов инфламмосомного комплекса в иммунопатогенезе псориаза   | 406 |
| <i>П. Л. Милеева, Д. Н. Воронин, Е. Л. Бойко, И. Н. Фетисова</i>  |     |
| Продукция IL-10 плацентарными макрофагами в зависимости от полиморфизма IL-10   | 409 |
| <i>И. В. Михайлова, А. А. Стадников, Л. А. Пушкарева, А. А. Исенгулова, Н. А. Кузьмичева, О. В. Ширшов, В. В. Тихонов, И. В. Мирошниченко</i>               |     |
| Оценка физиологических и морфологических параметров у крысят, родившихся от пассивно куривших самок. Сообщение 2  | 411 |
| <i>А. В. Молокова</i>   |     |
| Микроэлементные нарушения у детей с atopическим дерматитом и сочетанными формами аллергии   | 414 |
| <i>А. В. Молокова</i>   |     |
| Полиморфизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков (глутатион S-трансфераз M1, T1, P1) у больных с сочетанием atopического дерматита и бронхиальной астмы | 417 |
| <i>А. Ю. Моренкова, М. А. Тихонова, А. Э. Сизиков, О. А. Чумасова, А. Э. Сулутьян, Е. Р. Черных</i>   |     |
| Характеристика миелоидных супрессорных клеток и моноцитов при различных клинических вариантах анкилозирующего спондилита                                    | 420 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>С. А. Морозов, Н. В. Пронкина, Н. М. Старостина, О. Ю. Леплина, А. А. Останин, А. А. Штоббе, Е. Р. Черных</i>  |     |
| Регуляторные Т-клетки при остром ишемическом инсульте и их взаимосвязь с воспалительным ответом и развитием инфекционных осложнений                           | 423 |
| <i>О. В. Москалец, Т. Е. Панкратенко</i>  |     |
| Прогностическое значение молекул межклеточной адгезии при гемолитико-уремическом синдроме   | 426 |
| <i>О. В. Москалец</i>   |     |
| Особенности воспалительного ответа у больных после имплантации интраокулярной линзы   | 429 |
| <i>В. П. Мудров, Г. А. Демяшкин, В. Н. Нелюбин, И. С. Фоменков, Е. Ю. Лысюк, Е. С. Воробьева, С. Ю. Иванов</i>  |     |
| Фактор роста эндотелия сосудов в терапии хронических воспалительных заболеваний пародонта   | 432 |
| <i>Н. С. Нарзуллаева, Д. А. Мусаходжаева, М. М. Абдурахманов, Г. А. Ихтиярова</i>   |     |
| Динамика цитокинов в результате воздействия фитофлаваноидов у женщин с миомой матки   | 435 |
| <i>И. В. Нестерова, Е. О. Халтурина, О. Г. Степанов, В. В. Малиновская</i>  |     |
| Дифференцированные подходы к таргентной интерфероно- и иммулотропной терапии атипичной хронической активной инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна-Барр        | 438 |
| <i>Ю. В. Нефедьева, О. Р. Зиганшин</i>  |     |
| Дисфункция показателей иммунной системы при хроническом цервиците гонококковой этиологии  | 442 |
| <i>В. Б. Никитина, О. А. Лобачева, М. Ф. Белокрылова, В. А. Рудницкий, Е. М. Епанчинцева</i>  |     |
| Иммуноэндокринные и психологические критерии прогнозирования эффективности терапии больных расстройством адаптации с тревожно-депрессивной симптоматикой      | 445 |
| <i>Т. П. Оспельникова, О. В. Морозова, Н. А. Михайлова, Ф. И. Ершов</i>   |     |
| Система интерферонов у больных хроническими заболеваниями в процессе иммуномодулирующей терапии   | 448 |
| <i>Д. А. Паршукова, В. Н. Бунева, Е. Г. Корнетова, Д. В. Казанцева, А. Р. Васильева, С. А. Иванова, Л. П. Смирнова</i>  | 451 |
| Аутоантитела к основному белку миелина у пациентов с шизофренией обладают протеолитической активностью  | 451 |
| <i>А. В. Патрушев, А. В. Сухарев, В. Ю. Никитин, А. М. Иванов, И. А. Сухина, О. П. Гумилевская</i>  |     |
| Влияние очагов фокальной инфекции на цитокиновый профиль у больных хроническими дерматозами   | 455 |
| <i>М. Р. Патышева, М. Н. Стахеева, А. А. Федоров, Н. А. Тарабановская, Е. С. Григорьева, Е. М. Слонимская, Ю. Г. Кжышковска, Н. В. Чердынцева</i>             |     |
| Характеристика поляризованных форм моноцитов крови при трижды негативном раке молочной железы   | 459 |
| <i>Е. А. Пашкина, А. А. Актанова, А. А. Ермаков, Н. Ю. Кнауэр, И. В. Мирзаева, Е. А. Коваленко</i>  |     |
| Влияние карбоплатина с кукурбит[7]урилом на субпопуляционный состав и пролиферативную активность лимфоцитов <i>in vitro</i>                                   | 462 |
| <i>И. А. Пашнина</i>  |     |
| Спонтанное и стимулированное количество регуляторных Т-клеток и активированных Т-хелперов у детей с различной активностью ювенильного идиопатического артрита | 465 |
| <i>Л. П. Пивоварова, И. В. Осипова, О. Б. Арискина, Е. А. Гоголева</i>  |     |
| Дефенсины у пациентов с ишемическим инсультом   | 468 |
| <i>Д. В. Поляков, Е. Н. Конопля</i>   |     |
| Коррекция иммунных нарушений у пациентов с внебольничной пневмонией   | 471 |
| <i>Л. П. Попова, Т. М. Пашкова, Н. В. Морозова, М. Д. Кузьмин, О. Л. Карташова</i>  |     |
| Антицитокиновая активность штаммов <i>E. Coli</i> , выделенных из мочи при мочекаменной болезни   | 474 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>Е. В. Просекова, Т. С. Ситдикова, А. И. Турянская</i>  |     |
| Структурно-функциональная характеристика клеточного звена иммунного ответа у детей с бронхиальной астмой  | 477 |
| <i>И. В. Радьков, Н. Г. Плехова, С. В. Зиновьев, В. Б. Шуматов</i>  |     |
| Клетки врожденного иммунитета в патогенезе черепно-мозговой травмы  | 480 |
| <i>К. В. Раймиев, М. Е. Малышев, В. И. Мазуров, А. О. Бумай, Т. Г. Хабирова</i>   |     |
| Особенности цитокинового статуса молодых мужчин, больных остеоартритом  | 483 |
| <i>А. Я. Рак, А. В. Трофимов, А. М. Ищенко</i>  |     |
| Рекомбинантный антимюллеров гормон человека: лекарство, способное к самоактивации   | 486 |
| <i>И. И. Ремизова, Г. Н. Чистякова, А. Э. Айтов</i>   |     |
| Оценка сосудисто-эндотелиальных факторов у женщин с селективной задержкой роста плода при монохориальной беременности   | 489 |
| <i>В. А. Романов, Е. Н. Ерыгина, Н. В. Романова, Е. Ю. Капрельяни</i>   |     |
| Метаболизм циркулирующих фагоцитов у больных красной волчанкой  | 492 |
| <i>В. А. Романов, Н. В. Романова, Е. Н. Ерыгина, Е. Ю. Капрельяни</i>   |     |
| Метаболизм циркулирующих фагоцитов у больных склеродермией  | 494 |
| <i>Е. В. Романова, Ю. В. Колобовникова, О. И. Уразова, В. В. Новицкий</i>   |     |
| Секреция фактора некроза опухоли альфа эозинофилами крови при раке толстого кишечника с тканевой эозинофилией   | 496 |
| <i>М. Р. Рузбакиева, Т. У. Арипова, Ф. А. Хаджибаев, В. Х. Шарипова, З. Ш. Азизова</i>  |     |
| Применение генотипирования полиморфизма СУР3А5 для корректировки дозы такролимуса при трансплантации почки  | 499 |
| <i>Т. В. Русинова, Г. А. Чудилова, С. В. Ковалева, В. А. Тараканов, Н. К. Барова, И. В. Нестерова</i>   |     |
| Модулирующие эффекты ДНК эукариот на фенотип субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов, экспрессирующих функционально значимые рецепторы                              | 503 |
| <i>Л. В. Рябова, С. Е. Никонова</i>   |     |
| Определение уровня цитокинов в бронхоальвеолярной лаважной жидкости у больных хронической обструктивной болезнью легких   | 506 |
| <i>К. С. Савчук, Л. В. Рябова, К. В. Никушкина, Т. И. Никонова</i>  |     |
| Оценка взаимосвязи цитокинового статуса и коэффициента анизотропии эритроцитов у больных атеросклерозом артерий нижних конечностей на фоне сахарного диабета 2 типа | 509 |
| <i>А. Б. Сагакянц, И. А. Новикова, Е. П. Ульянова, Е. И. Золотарева, А. В. Шапошников, Е. А. Дженкова</i>   |     |
| Опухолевые стволовые клетки и их микроокружение: роль в развитии опухоли  | 512 |
| <i>Е. В. Сайдакова, К. В. Шмагель, Л. Б. Королевская, Н. Г. Шмагель</i>   |     |
| Дискордантный ответ CD4 <sup>+</sup> Т-лимфоцитов на антиретровирусную терапию у ВИЧ-инфицированных пациентов связан с нарушением энергетического обмена            | 515 |
| <i>Ж. М. Салмаси, Г. В. Порядин, А. Н. Казимирский</i>  |     |
| Ведущие механизмы иммунопатогенеза при различных видах воспаления (инфекционном, аутоиммунном, атопическом)   | 518 |
| <i>Ю. В. Саранчина, О. Ю. Килина, С. В. Дутова, Н. Г. Польща, Т. С. Кулакова, Н. В. Ханарин, П. И. Шандаков</i>   |     |
| Особенности продукции интерлейкина-5 при атеросклерозе брахиоцефальных артерий  | 521 |
| <i>Н. Г. Саркисян, Н. Н. Катаева, И. А. Тузанкина, С. Г. Меликян</i>  |     |
| Антимикробные пептиды в терапии слизистой полости рта   | 524 |

|  |     |
|--|-----|
| <i>Ю. А. Сарычева, А. А. Токарева, Т. В. Панфилова, А. Д. Железнова, Б. А. Фролов</i>  |     |
| Тритерпеноид милиацин как протектор хромосомных аберраций, индуцированных циклофосфаном в клетках костного мозга мышей                               | 527 |
| <i>А. В. Серёжкина, А. Д. Богомазов, А. В. Полоников</i>   |     |
| Влияние генетических факторов на терапию ингаляционными глюкокортикостероидами у детей, страдающих атопической бронхиальной астмой: обзор литературы | 530 |
| <i>Л. П. Сизякина, Е. М. Пенечко, И. И. Андреева</i>   |     |
| Эффекты интерферонотерапии в лечении атопического дерматита с сопутствующим синдромом вторичной иммунной недостаточности                             | 533 |
| <i>А. В. Скурневская, Н. А. Черевко, М. И. Худякова, С. Э. Кондаков</i>  |     |
| Особенности иммунного реагирования на пищевые антигены у детей с расстройствами аутистического спектра   | 536 |
| <i>О. В. Слатинова, Т. А. Серова, И. В. Бишева, Е. П. Фошина</i>   |     |
| Показатели мукозального иммунитета у часто болеющих детей при лечении терапевтической вакциной «Иммуновак ВП-4»                                      | 539 |
| <i>М. Ю. Смахтин, А. А. Чуланова, В. Т. Корошвили, А. М. Смахтина</i>  |     |
| Некоторые эффекты нового аналога тимогена  | 542 |
| <i>М. В. Смольникова, Э. В. Каспаров, В. Д. Беленюк, С. Н. Зобова, С. Ю. Терещенко</i>   |     |
| Уровень IL-4, IL-5, IL-13 и TNF- $\alpha$ у детей с бронхиальной астмой в зависимости от степени контроля заболевания                                | 545 |
| <i>А. И. Смолягин, И. В. Михайлова, Е. В. Ермолина, Л. А. Пушкарева, А. А. Исенгулова, Н. А. Кузьмичева, И. В. Мирошниченко</i>                      |     |
| Оценка иммунологических показателей у крысят, родившихся от пассивно куривших самок. Сообщение 1   | 548 |
| <i>А. В. Смык</i>  |     |
| Применение телесно-ориентированной психокоррекции в комплексной терапии бронхиальной астмы   | 551 |
| <i>Т. Ф. Соколова, А. В. Мордык, Е. Л. Щеглова, Н. Н. Сокол, А. Р. Ароян</i>   |     |
| Особенности системы интерферона и клеточного иммунитета у детей с впервые выявленным активным туберкулезом легких                                    | 554 |
| <i>А. А. Солдатов, Ж. И. Авдеева, В. П. Бондарев, В. А. Меркулов</i>   |     |
| Иммуногенность и безопасность биотехнологических препаратов  | 557 |
| <i>Э. Ю. Соловьева, О. А. Баранова, А. В. Чеканов, Е. А. Тютюмова, А. И. Федин</i>   |     |
| Взаимосвязь воспаления, эндотелиальной дисфункции и клеточного звена гемостаза у больных в восстановительном периоде инсульта                        | 560 |
| <i>Н. Ю. Сотникова, Н. Ю. Борзова, Н. Р. Раджабова</i>   |     |
| Дифференцировка CD8 <sup>+</sup> лимфоцитов и их цитолитическая активность у женщин с угрожающими преждевременными родами                            | 563 |
| <i>О. В. Старкина, Н. А. Илюкина, Ч. Л. Василев</i>  |     |
| Современные экспериментальные модели сепсиса с использованием мышей: достоинства и недостатки  | 566 |
| <i>М. Н. Стахеева, М. Р. Патышева, Н. А. Тарабановская, Ю. Г. Кжышковска, Н. В. Чердынцева</i>   |     |
| Вклад моноцитов периферической крови в формирование функциональной стратегии иммунной системы при раке молочной железы                               | 569 |
| <i>Д. С. Сташкевич, Т. А. Сулова, А. Л. Бурмистрова</i>  |     |
| Оценка однонуклеотидных полиморфизмов -819С/Т, -592С/А IL-10 у больных ревматоидным артритом как генетического фактора риска                         | 572 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>Г. М. Сысоева, Е. И. Рябчикова, С. Г. Гамалей, Л. Р. Лебедев, Е. А. Волосникова, Е. Д. Даниленко</i><br>Противоопухоловое и иммуномодулирующее действие рекомбинантного фактора некроза опухолей альфа человека в средстве доставки на мышах с меланомой B16-F10 | 575 |
| <i>О. В. Тарабрина, С. М. Юдина, М. Ю. Коршикова, Т. С. Русанова</i><br>Распространенность и региональные особенности поллиноза   | 578 |
| <i>М. С. Тулупова, М. Б. Хамошина, Т. А. Невежкина, О. Н. Сидорова</i><br>Уровень матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у женщин с невынашиванием беременности  | 581 |
| <i>Е. П. Турмова, Е. В. Маркелова, П. Ф. Кику</i><br>Особенности дисбаланса системы цитокинов, адипокинов, матриксной металлопротеиназы 9 и ее ингибиторов в зависимости от клинических проявлений атеросклероза  | 584 |
| <i>А. И. Турьянская, В. А. Сабыныч</i><br>Особенности цитокинового профиля у детей с бронхиальной астмой в сочетании с аллергическим ринитом  | 587 |
| <i>Т. В. Федоренко, Н. В. Колесникова, И. А. Пашкова</i><br>Ранние цитокиновые предикторы острого отторжения трансплантата почки  | 590 |
| <i>А. В. Федорова, Н. А. Хонина</i><br>Эффект аллоиммунизации лимфоцитами мужа на пролиферативную активность клеток женщины при высоком сходстве партнеров по антигенам главного комплекса гистосовместимости   | 593 |
| <i>А. Б. Филина, О. А. Свитич, А. К. Голенков, Е. Ф. Клинушкина, В. В. Зверев</i><br>Альтернативные пути активации хемотаксиса клеток острого миелоидного лейкоза   | 596 |
| <i>Ю. Ю. Филиппова, А. Л. Бурмистрова</i><br>Уровни IL-6 и IFN- $\gamma$ у детей с шизофренией и расстройствами аутистического спектра с различными фенотипами социального поведения  | 599 |
| <i>Ю. В. Филиппова, Т. А. Бондаренко, Т. В. Панфилова, А. Д. Железнова, Ю. А. Сарычева, А. А. Токарева</i><br>Влияние тритерпеноида милиацина на антилизоцимную активность микроорганизмов  | 602 |
| <i>Т. А. Фишер, Л. Ф. Калёнова, С. С. Колыванова</i><br>Комплексная методика контрастного закаливания детей 4–6 лет   | 605 |
| <i>Е. П. Фошина, О. В. Слатинова, Т. А. Серова, С. Ю. Конаныхина, В. П. Афиногенова</i><br>Преимущества комбинированной вакцинотерапии детей с рекуррентными инфекциями с позиции иммунолога  | 608 |
| <i>И. М. Холименко, М. Н. Шатохин, В. Н. Мальцев, А. Г. Коцарь, Е. С. Емельянова</i><br>Стандартное лечение в коррекции иммунных нарушений при остром серозном и гнойном пиелонефрите   | 611 |
| <i>М. В. Хорева, Т. В. Латышева, А. Д. Огурцова, Л. А. Грачева, М. В. Захаров, О. А. Свитич, Л. В. Ганковская</i><br>Экспрессия и функциональная активность TLR2 и TLR4 у больных аллергической бронхиальной астмой   | 614 |
| <i>А. В. Цепочкина, Н. С. Деева, С. А. Шмулевич, А. В. Шабалдин, А. А. Коростелев, А. В. Понасенко</i><br>Ассоциации <i>HLA-DRB1*</i> со спорадическими септальными врожденными пороками сердца без хромосомных заболеваний   | 617 |
| <i>О. А. Цигулева, Н. И. Барсукова, Л. Е. Обухова</i><br>Взаимосвязь воспалительных и иммунных изменений при хроническом эндометрите  | 620 |
| <i>М. А. Цыганов, М. Н. Львова, А. В. Душкин, В. А. Мордвинов, Д. Ф. Августиневич</i><br>Действие потенциальных антигельминтных препаратов на экспрессию IL-1 $\beta$ при экспериментальном описторхозе   | 623 |

|  |     |
|--|-----|
| <i>И. Н. Чайникова, Е. В. Иванова, Т. А. Бондаренко, Н. Б. Перунова, О. Е. Челтаченко, И. А. Никифоров</i><br>Влияние цитокинов на биопленкообразование кишечных микросимбионтов   | 626 |
| <i>К. А. Чемодакова, Б. В. Мартынов, И. А. Сухина, В. Ю. Никитин, А. М. Иванов</i><br>Изменения иммунного статуса у пациентов с глиомами головного мозга различной степени злокачественности   | 629 |
| <i>С. В. Чепанов, Т. Н. Шляхтенко, Е. А. Корнюшина, К. Н. Чудотворов, Е. С. Орлова, С. А. Сельков</i><br>Оценка эндотелиопротективного действия иммуноглобулинов для внутривенного введения при акушерской патологии. Методические подходы | 632 |
| <i>Н. С. Чепурнова, А. В. Костюшко, М. С. Тулупова</i><br>Состояние показателей взаимодействия межклеточного матрикса у мужчин с хроническим хламидийным уретритом до и после лечения  | 635 |
| <i>Н. Д. Чижова, Т. В. Липина, Т. Г. Амстиславская</i><br>Показатели функциональной активности нервной и иммунной систем у мышей с мутациями в гене <i>DISC1</i>   | 638 |
| <i>Г. Н. Чистякова, И. И. Ремизова, А. Э. Айтов</i><br>Оценка функциональной активности эндотелия у женщин с тяжелой преэклампсией в зависимости от дебюта заболевания   | 641 |
| <i>А. А. Чуланова, М. Ю. Смахтин, К. И. Суняйкин, А. М. Смахина</i><br>Иммунорегуляторное и гепатотропное действие пептидов GLY-HIS-LYS и тимогена   | 644 |
| <i>С. Г. Шаропов, А. Ш. Иноятов</i><br>Содержание ИЛ-18 и МСР-1 у детей с врожденной расщелиной верхней губы и неба  | 647 |
| <i>Ю. А. Шевченко, М. С. Кузнецова, Ю. А. Лопатникова, Д. В. Демина, Ю. А. Сенникова, О. П. Воробьева</i><br>Анализ фенотипических и функциональных характеристик супрессорных популяций при бронхиальной астме                            | 650 |
| <i>Д. В. Шевырев, В. А. Козлов, В. О. Омельченко</i><br>Влияние IL-7 и IL-15 на Т-регуляторные клетки здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом <i>in vitro</i>   | 653 |
| <i>В. С. Ширинский</i><br>Аутоиммунные коморбидные заболевания – возможности рациональной терапии  | 657 |
| <i>И. В. Ширинский</i><br>Эволюция представления о патогенезе аиз в эпоху микробиома   | 660 |
| <i>М. А. Шнайдер, Н. Ю. Калиновская</i><br>Плейотропное действие модуляторов метилирования ДНК на синовиальные фибробласты больных ревматоидным артритом <i>in vitro</i>   | 663 |
| <i>В. Б. Шуматов, В. А. Лазанович, В. Е. Красников</i><br>Клинико-иммунологическая оценка эффективности внутривенных иммуноглобулинов в качестве адьювантной терапии хирургического сепсиса  | 666 |
| <i>Т. В. Шушпанова, Т. П. Новожеева, Т. В. Перевозчикова, О. В. Шушпанова, Е. М. Князева</i><br>Молекулярные мишени действия инновационного антиконвульсанта мета-хлорбензгидрилмочевины (м-хБГМ) в нейроиммунологии зависимости           | 669 |
| <i>Т. В. Шушпанова, А. В. Солонский, А. С. Кудренко, Н. А. Бохан</i><br>Эмбриогенез нейрорецепторной и нейроиммунной систем человека при неонатальном влиянии алкоголя и гипоксии на плод  | 673 |

# CONTENTS

Vol. 13 (22), No 2, 2019

## Research Articles

- Z. Kh. Abazova, I. Kh. Borukaeva, V. K. Kumykov, L. A. Shibzukhova*  
Efficiency of hypoxic therapy at subclinical thyroid dysfunction with autoimmune genesis 126
- K. S. Abramov, E. V. Davydova, M. V. Osikov, S. A. Kochengina*  
Influence of ozonotherapy on immune status at isolated fractures of the femoral bone 129
- K. S. Abramov, E. V. Davydova*  
Influence of ozonotherapy on immune status at isolated fractures of the femoral bone 132
- Zh. I. Avdeeva, A. A. Soldatov, M. V. Kiselevskiy, V. P. Bondarev*  
Medicines of monoclonal antibodies in oncology 135
- E. B. Akulova, B. V. Murashev, O. V. Nazarenko, S. V. Verevochkin, A. E. Masharsky, R. I. Al Shekhatat, D. A. Lioznov, A. P. Kozlov*  
Immunological correlates of a candidate DNA vaccine against HIV-1 subtype A 138
- E. A. Andreeva, N. A. Khonina, N. M. Paskan*  
Microvesicles in follicular fluid with women in IVF program 141
- T. A. Aristova, Batorov E. V., A. A. Ostanin*  
Myeloid-derived suppressor cells in multiple myeloma patients during the mobilization of hematopoietic stem cells 143
- I. P. Balmasova, E. S. Malova, E. P. Efratova*  
HIV Infection and HIV/HCV co-infection problem 146
- A. A. Barilo, S. V. Smirnova*  
Immunological parameters in psoriasis depending on the disease severity 149
- A. A. Barilo, I. V. Borisova, S. V. Smirnova*  
Features of the spectrum of food sensitization with atopic bronchial asthma in children 152
- E. A. Bass*  
Molecular component-resolved diagnostics for cat allergy in children with allergic rhinitis 155
- A. V. Bekpergenova, N. B. Perunova, S. V. Andryushenko, I. A. Zdvizhkova, A. R. Mironova*  
Ability of conditionally-pathogenic microorganism to inactivate anti-microbial protein by lysozym under the influence of metabolites association of bifidobacteria 158
- S. V. Belyaeva, D. S. Stashkevich*  
Role of gene polymorphism of vitamin D receptor (VDR FokI) in the development of pulmonary tuberculosis in russian Chelyabinsk region 161
- A. G. Berzina, L. I. Ulyanova, N. B. Gamaleyeva, T. A. Klimova, A. V. Trofimov, N. V. Stankova*  
Some biological features of anti-idiotypic and tertiary antibodies against two morphine derivatives 164
- A. A. Biryukova, I. V. Shirinsky*  
Use of statins for the treatment of non-infectious uveitis 167
- E. A. Blinova, A. E. Makarova, E. A. Pashkina, D. V. Demina, V. A. Kozlov*  
Analysis of immunological indexes and external breath function in patients with bronchial asthma under the treatment with T-cell immunotherapy and standard therapy 170

|   |     |
|---|-----|
| <i>A. D. Bogomazov, L. Yu. Zaitseva, A. S. Seryozhkina</i>  |     |
| Analysis of the causes of emergind and peculiarities of the diagnostics of allergic diseases in children living on the territory of the Kursk region                                | 173 |
| <i>I. Kh. Borukaeva, Z. Kh. Abazova, M. R. Ragimbekova, F. Kh. Temirzhanova</i>   |     |
| Effect of interval hypoxytherapy and enteral oxygenotherapy on immunological reactivity in patients with bronchal asthma  | 176 |
| <i>N. A. Bystrova, A. A. Shulginova, O. A. Sunyaykina, D. O. Mashoshina</i>   |     |
| Immunorabilitation in chronic ischemia of the brain   | 179 |
| <i>N. V. Bychkova</i>   |     |
| Laboratory possibility in the diagnosis of drug hypersensitivity  | 182 |
| <i>T. P. Vetlugina, V. B. Nikitina, A. I. Mandel, A. S. Boiko, V. D. Prokopieva, N. A. Bokhan</i>   |     |
| Factors of immunoendocrine regulation in alcohol dependence at the stage of formation of therapeutic remission  | 185 |
| <i>T. I. Vitkina, A. A. Lysak, K. A. Sidletskaya</i>  |     |
| The role of CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127 <sup>-</sup> T cells and cytokine response in the regulation of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease | 189 |
| <i>D. N. Voronin, D. L. Voskresenskaya</i>  |     |
| The expression of different isoforms of TGFβ and its receptors in uterine leiomioma   | 191 |
| <i>D. L. Voskresenskaya, A. I. Malyshkina, Yu. S. Antsiferova</i>   |     |
| Relationship character of collagen synthesis in uterine leiomyoma tissue with features of tumor growth  | 193 |
| <i>V. V. Vtorushina, L. V. Krechetova, N. K. Tetrushvili, M. A. Nikolaeva</i>   |     |
| Antipaternal anti-leukocyte antibodies as markers of the efficacy of alloimmunizationin women with recurrent pregnancy loss   | 196 |
| <i>S. O. Gening, T. V. Abakumova, I. I. Antoneeva, T. P. Gening, D. R. Dolgova</i>  |     |
| Functional polymorphisms of the <i>TNFA</i> (G-308A), <i>IL-1β</i> (T-31C), <i>IL-10</i> (C-592A) genes as factors affecting the effect of chemotherapy for advanced ovarian cancer | 199 |
| <i>D. G. Gerasimova, T. V. Radygina, R. Sh. Zakirov, A. I. Ambarchyan, A. I. Materikin, N. N. Epishev, A. I. Murashkin, S. V. Petrichuk</i>   |     |
| Subpopulations of myeloid derived supressors cells in children with psoriasis   | 202 |
| <i>O. A. Gizinger, A. M. Korkmazov, M. Yu. Korkmazov, V. I. Karandashov, E. S. Zavgorodniy</i>  |     |
| A monochromatic incoherent light of the 450 nm optical range affects the content of cytokines in the maxillary washes in rhinologic patients  | 205 |
| <i>A. P. Godovalov, S. A. Toropitsyn, T. I. Karpunina</i>   |     |
| Morphological changes in endometry in infertile women under chronic inflammation  | 207 |
| <i>M. V. Goloviznin, N. S. Lakhonina, V. T. Timofeev, Yu. R. Buldakova</i>  |     |
| Thymus in autoimmune diseases clinic. The actuality and prospectives of “ <i>in vivo</i> ” monitoring   | 211 |
| <i>I. A. Goldina, E. V. Markova, I. V. Savkin</i>   |     |
| Bioflavonoids efficiency in experimental alcoholism   | 214 |
| <i>N. P. Gorbunov, V. A. Kostevich, A. V. Sokolov</i>   |     |
| Obtaining of monoclonal antibody for immunoaffinity purification of myeloperoxidase and prototype of hemosorbent  | 217 |
| <i>L. A. Gordeeva, E. N. Voronina, E. G. Polenok, S. A. Mun, R. V. Olennikova, M. L. Filipenko, A. N. Glushkov</i>  |     |
| Studying of the association between <i>HLA-G</i> gene polymorphism and risk recurrent miscarriage in women with persistent bacterial-viral infection                                | 220 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>I. S. Grebenshchikov, A. E. Studennikov, A. N. Glushkov, V. A. Ustinov</i>   |     |
| Idiotypic and anti-idiotypic antibodies against polycyclic aromatic hydrocarbons in human blood serum are new biomarkers of lung cancer                                 | 222 |
| <i>E. I. Danilova, O. E. Chelpachenko, I. N. Chainikova, E. V. Ivanova, I. A. Nikiforov</i>   |     |
| The level of the inflammatory and anti-inflammatory cytokines in coprofiltrates of the patients with reactive arthritis depending on the degree of intestinal dysbiosis | 226 |
| <i>N. S. Deeva, A. V. Tsepokina, A. V. Shabaldin, S. A. Shmulevich, E. N. Voronina, M. L. Filipenko, E. V. Shabaldina</i>   |     |
| Immunogenetic aspects of the formation of congenital conotruncus without chromosomal diseases   | 229 |
| <i>S. A. Dolgareva, O. N. Bushmina, N. A. Konoplya, O. V. Khorlyakova</i>   |     |
| Congenital and adaptive immunity under experimental acute pancreatitis due to alcoholic intoxication; correction of disorders   | 232 |
| <i>M. S. Dolgopolov, E. V. Prosekova</i>  |     |
| Predictor significance of polymorphisms of interferon gamma and interleukin 4 genes in children in bronchial asthma   | 235 |
| <i>I. I. Dolgushin, A. Y. Savochkina, L. R. Pykhova, O. S. Abramovskikh, E. A. Chetvernina, A. E. Poltorak</i>  |     |
| Comparative analysis of the indicators of the functional activity of neutrophils peripheral blood in patients with severe sepsis and septic shock                       | 238 |
| <i>S. V. Dutova, M. R. Karpova</i>  |     |
| Results of the pre-clinical study of a new immunocorrector of floral origin   | 241 |
| <i>E. A. Ermakov, L. P. Smirnova, N. M. Krotenko, A. V. Semke, V. N. Buneva, G. A. Nevinsky</i>   |     |
| Catalase activity of catalytic antibodies in schizophrenia  | 244 |
| <i>O. O. Zherebyateva, A. Yu. Mironov, E. A. Mikhailova, G. O. Makhalova, S. B. Kirgizova, M. V. Fomina, I. E. Lyashenko</i>  |     |
| Infectological parameters as predictors of fertility failure  | 247 |
| <i>M. O. Zhuravleva, A. V. Meshcheryakov</i>  |     |
| Influence trigger infections on the immune status of patients urinogenous reactive arthritis  | 250 |
| <i>L. F. Zaynetdinova, L. F. Telesheva, A. V. Koryaushkina</i>  |     |
| The condition of systemic immunity in women with external genital endometriosis and human papilloma virus   | 253 |
| <i>N. S. Zaitseva, L. P. Sizyakina</i>  |     |
| The dynamics of changes in the immune status of the military personnel in terms of professional tasks   | 256 |
| <i>S. A. Zamorina, L. S. Litvinova, K. A. Yurova, O. G. Khaziakhmatova, V. P. Timganova, M. S. Bochkova, P. V. Khramtsov, M. B. Rayev</i>                               |     |
| Effect of pregnancy-specific $\beta$ 1-glycoprotein on chemokine profile of cultured T-helper and mononuclear cells   | 259 |
| <i>V. V. Zdor, B. I. Geltser</i>  |     |
| New aspects of immunopathogenesis of Graves' disease – cytokines regulation and cellular infiltration of a thyroid gland at an autoimmune thyrotoxicosis                | 263 |
| <i>A. A. Zenina, D. F. Bekerova, Aleksandra I, L. D. Markina</i>  |     |
| The relationship of postoperative cognitive dysfunction with the level of metalloproteinase-2 and interleukin-17 and transforming growth factor $\beta$ 2               | 266 |
| <i>M. M. Ziganshina, N. V. Shilova, G. V. Kulikova, N. R. Khasbiullina, A. I. Shchegolev, A. Yu. Nokel, E. L. Dolgoplova, N. V. Bovin</i>                               |     |
| Glycopathology of fetoplacental-maternal system in the «great obstetrical syndromes» associated with disorders of deep placentation                                     | 269 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>E. Y. Zlatnik, A. L. Bazaev, S. S. Kochuev</i>   |     |
| Prognostic significance of cytokines' tissue levels in some malignant tumors  | 272 |
| <i>S. A. Zozulya, S. G. Nikitina, N. V. Simashkova, T. P. Klyushnik</i>   |     |
| Immunological predictors of social functioning in children with endogenous psychoses  | 275 |
| <i>O. Yu. Zolnikova, V. T. Ivashkin</i>   |     |
| A metabolic spectrum of the gut microbiota for the patients with asthma   | 277 |
| <i>A. V. Zubkov, M. A. Andreeva, A. V. Sidorov, A. V. Milovanova, L. G. Butova</i>  |     |
| Molecular cloning of human thyroid stimulating hormone receptor gene  | 280 |
| <i>M. F. Ivanov, A. V. Zhestkov, A. A. Suzdalcev, L. L. Popova, I. P. Balmasova</i>   |     |
| Immunopatogenic features of hemorrhagic fever with renal syndrome in the dynamics of the infectious process   | 283 |
| <i>O. Yu. Ivanova, O. V. Telegina, N. A. Ponomareva, K. A. Elagina, I. I. Kolomoets</i>   |     |
| Complex correction of immune violations in internal endometriosis   | 286 |
| <i>V. T. Ivashkin, O. Yu. Zolnikova</i>   |     |
| The atopic asthma disease complicated by the small intestine bacterial overgrowth (SIBO)  | 289 |
| <i>A. N. Kalandarova, T. U. Aripova, G. Z. Eshimbetova</i>  |     |
| Local protein level of acute phases in women with cervical intraepithelial neoplasia  | 292 |
| <i>A. A. Kalashnikova, T. M. Voroshilova, O. M. Slashcheva</i>  |     |
| Interrelation of procalcitonin and CD64 <sup>+</sup> with bacteremia and severity of organ dysfunction  | 295 |
| <i>T. A. Karmakova</i>  |     |
| Immune aspects of cancer development  | 298 |
| <i>O. Yu. Kilina, S. V. Dutova, Yu. V. Saranchina, T. A. Matrosova, N. G. Pol'shcha, T. S. Kulakova, N. V. Chanarin, P. I. Shandakov</i>            |     |
| Analysis of phagocytic activity of neutrophils during atherosclerosis   | 301 |
| <i>F. D. Kireev, A. A. Alshevskaya, Z. A. Laushkina, S. V. Sennikov</i>   |     |
| Tumor necrosis factor receptors in patients with active pulmonary tuberculosis  | 304 |
| <i>S. V. Knysh, V. A. Malkov, A. V. Shiraeva, E. V. Baibarina</i>   |     |
| Features of T-lymphocytes subpopulations in chronic herpetic infection  | 307 |
| <i>S. V. Kovaleva, G. A. Chudilova, L. V. Lomtadze, I. V. Nesterova</i>   |     |
| Mono- and combined immunotherapy immunocompreared children with return co-infections  | 310 |
| <i>Y. I. Kozlova, E. V. Frolova, A. E. Uchevatkina, L. V. Filippova, N. V. Vasileva, N. N. Klimko</i>   |     |
| Diagnostic value of immunological markers of allergic bronchopulmonary aspergilosis in patients with asthma   | 313 |
| <i>E. N. Koltsova, G. V. Lukina, E. I. Schmidt, E. V. Zhilyaev</i>  |     |
| Search for predictors of target treatment discontinuation due to side effects in rheumatoid arthritis patients. Data from Moscow arthritis registry | 316 |
| <i>M. O. Komleva, N. V. Komleva, A. I. Smolyagin</i>  |     |
| Evaluation of the menstrual cycle violations of adolescents living in the Orenburg region   | 319 |
| <i>A. Yu. Konishcheva, V. B. Gervazieva</i>   |     |
| Viral infections from <i>Herpesviridae</i> family and autoreactivity in bronchial asthma  | 322 |
| <i>A. A. Konoplya, S. A. Gavrish, Zh. P. Omasharifa</i>   |     |
| Immune disturbances at the local level in chronic endometritis; immune rehabilitation   | 325 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>O. G. Kornilova, E. S. Husnatdinova, M. A. Kriviykh, Y. V. Olefir</i>  |     |
| Modern requirements to the expert evaluation the specific safety of medicinal products of human immunoglobulin                      | 328 |
| <i>L. B. Korolevskaya, E. V. Saidakova</i>  |     |
| CD4 <sup>+</sup> T-lymphocyte function is violated in HIV-infected patients with discordant response to antiretroviral therapy      | 331 |
| <i>E. G. Kostolomova, U. G. Suhovej, I. G. Unger, T. V. Akuneeva, O. A. Krivonosova, T. V. Zenkova, O. V. Makeeva, O. J. Shvets</i> |     |
| Flow cytometric analysis expression markers of activation on CD4 T-lymphocytes at rheumatoid arthritis                              | 334 |
| <i>A. V. Kostyushko, A. A. Yakovlev, A. I. Abakumov, E. A. Chagina, A. S. Kharina, D. D. Sotnikova</i>                              |     |
| Assessment of the efficacy of immunomodulators in experimental pneumonia  | 337 |
| <i>A. S. Krasnitskaya, O. S. Bocharova, Y. Y. Pervov, T. N. Klimkina</i>  |     |
| Characteristics of local cytokine profile in patients with chronic tonsillitis depending on etiology                                | 340 |
| <i>L. V. Krechetova, N. K. Tetrushvili, V. V. Vtorushina, M. A. Nikolaeva, L. V. Vanko</i>  |     |
| The immunological indicators of personalized prescriptions for alloimmunization in the therapy of idiopathic recurrent miscarriage  | 343 |
| <i>N. V. Kroshkina, A. V. Kust, E. V. Kozelkova</i>   |     |
| The analysis of peripheral blood cytokines in women with recurrent spontaneous abortion   | 346 |
| <i>I. I. Krukier, L. L. Erdzhanyan, V. V. Avrutskaya, A. V. Rozhkov, A. A. Nikashina, Yu. A. Petrov</i>                             |     |
| Dynamics of cytokine production of blood serum and amniotic fluid at a threat of pregnancy interruption                             | 349 |
| <i>A. V. Kudryashova, I. A. Panova, E. A. Rokotyanskaya</i>   |     |
| The role of neutrofiles in the pathogenesis of preeclampsia   | 352 |
| <i>A. V. Kudryashova, I. A. Panova, E. A. Rokotyanskaya, A. S. Panaschatenko</i>  |     |
| Serum content of cytokines regulating proliferation and differentiation of lymphocytes in hypertensive disorders in pregnant women  | 355 |
| <i>N. S. Kuzmina, A. V. Zubkov, V. V. Sviridov</i>  |     |
| The steric availability of thyroid peroxidase epitopes in enzyme immunoassay for the determination of autoantibodies                | 358 |
| <i>U. Sh. Kuzmina, K. Z. Bakhtiyarova, Yu. V. Vakhitova</i>   |     |
| Glutamat-mediated mechanisms of regulation of VLA-4 expression in multiple sclerosis  | 361 |
| <i>A. V. Kust, E. V. Kozelkova, A. V. Sadygova, N. Yu. Borzova, A. V. Smirnova, N. V. Batrak</i>                                    |     |
| Infectious status in women with threatened pregnancy loss and habitual miscarriage in anamnesis                                     | 364 |
| <i>M. A. Levkovich, I. I. Krukier, L. L. Erganian, A. V. Kalinina</i>   |     |
| The value of inflammatory mediators in the pathogenesis of preterm birth  | 367 |
| <i>M. A. Levkovich, L. V. Kravchenko, A. Yu. Levkovich, M. V. Pyatikova</i>   |     |
| Cytokine profile of newborn children with generalized herpetic infection  | 370 |
| <i>E. S. Litvinova, A. I. Konoplya</i>  |     |
| Correction of immune disorders in experimental acute liver ischemia   | 373 |
| <i>O. A. Lobacheva, T. P. Vetlugina, E. G. Kornetova, A. V. Semke</i>   |     |
| Immunoendocrine disturbances in patients with schizophrenia in the process of antipsychotic therapy                                 | 376 |
| <i>Y. V. Loginova, O. S. Abramovskikh, T. I. Nikonova</i>   |     |
| Determination of the frequencies of IL-17A and IL-17F gene polymorphisms in women with miscarriage                                  | 379 |
| <i>A. V. Loktionova, N. A. Bystrova, A. L. Loktionov</i>  |     |
| Immunorehabilitation drugs of magnesium in acute destructive pancreatitis in the experiment   | 382 |

|  |     |
|--|-----|
| <i>Lyubimov D. S.</i>  |     |
| Immunological phenotypes of timomegaly in infants with acute bronchitis  | 384 |
| <i>N. M. Magzumova, D. A. Musakhodzhaeva, D. U. Ismoilova</i>  |     |
| Efficiency of the application of immune corrective therapy in outside genital endometriosis  | 387 |
| <i>S. A. Mazurina, A. Yu. Konishcheva, T. P. Ospelnikova, V. B. Gervazieva</i>   |     |
| sIgE to bacterial allergenes in patients with chronic inflammatory pulmonary diseases  | 390 |
| <i>D. A. Malyshkina, Yu. S. Antsiferova, N. V. Dolgushina</i>  |     |
| The expression of ncr receptors by endometrial natural killers in women with uterine leiomyoma   | 393 |
| <i>E. V. Markelova, N. I. Grachev, A. A. Semenikhin, A. V. Karaulov</i>  |     |
| Immunobiochemical predictors for complications in patients with acute myocardial infarction after coronary stenting  | 396 |
| <i>E. V. Markova, M. A. Knyazheva, T. G. Amstislavskaya</i>  |     |
| Caffeine-modulated immune cells effect on behavior patterns in depressive-like animals   | 399 |
| <i>A. I. Martynov, T. G. Fedoskova, T. V. Feofanova, Z. V. Zelenova</i>  |     |
| Step-by-step simulation risk reduction of private acute respiratory viral infection cases in patients with different immune status   | 402 |
| <i>I. V. Menzhinskaya, L. V. Van'ko</i>  |     |
| Study of antibodies to $\beta$ 2-glykoprotein-I and domain I in women with recurrent pregnancy loss  | 405 |
| <i>E. D. Merkusheva, E. M. Khasanova, O. A. Switich, N. V. Batkaeva, M. M. Gitinova, L. V. Gankovskaya</i>   |     |
| The role of TLR9 and components of the inflammasoma complex in immunopathogenesis of psoriasis   | 408 |
| <i>P. L. Mileyeva, D. N. Voronin, Y. L. Boyko, I. N. Fetisova</i>  |     |
| IL-10 production by placental macrophages in dependence to IL-10 polymorphism  | 410 |
| <i>I. V. Mikhailova, A. A. Stadnikov, L. A. Pushkareva, A. A. Isengulova, N. A. Kuzmicheva, O. V. Shirshov, V. V. Tikhonov, I. V. Miroshnichenko</i>                         |     |
| Estimation of physiological and morphological parameters in rats born from passively smoked females. Message2  | 413 |
| <i>A. V. Molokova</i>  |     |
| Trace element disorders in children with atopic dermatitis and concomitant forms of allergy  | 416 |
| <i>A. V. Molokova</i>  |     |
| Polymorphism of enzymes of biotransformation of xenobiotics (glutathione S-transferases M1, T1, P1) in patients with a combination of atopic dermatitis and bronchial asthma | 419 |
| <i>A. Yu. Morenkova, M. A. Tikhonova, A. E. Sizikov, O. A. Chumasova, A. E. Sulutyayn, E. R. Chernykh</i>  |     |
| Characterization of distribution of myeloid-derived suppressor cells and monocytes in different clinical variants of ankylosing spondylitis                                  | 422 |
| <i>S. A. Morozov, M. A. Tikhonova, N. M. Starostina, O. Y. Leplina, E. Y. Shevela, A. A. Ostanin, A. A. Shtobbe, E. R. Chernykh</i>  |     |
| Regulatory T-cells in acute ischemic stroke and their relation with inflammatory response and development of infectious complications  | 425 |
| <i>O. V. Moskalets, T. E. Pankratenko</i>  |     |
| Prognostic value of intracellular adhesion molecules in hemolytic-uremic syndrome  | 428 |
| <i>O. V. Moskalets</i>   |     |
| Characteristics of inflammatory response in patients after intraocular lens surgery  | 431 |
| <i>V. P. Mudrov, G. A. Demyashkin, V. N. Nelyubin, I. S. Fomenkov, E. Y. Lysjuk, E. S. Vorobieva, S. Y. Ivanov</i>   |     |
| The vascular endothelial growth factor in the treatment of chronic inflammatory periodontal diseases   | 434 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>N. S. Narzullaeva, D. A. Musakhodzhaeva, M. M. Abdurakhmanov, G. A. Ikhtiyarova</i><br>Cytokine dynamics as a result of phyto-flavanoid exposure in women with uterine myoma   | 437 |
| <i>I. V. Nesterova, E. O. Khalturina, O. G. Stepanov, V. V. Malinovskaya</i><br>Differentiated approaches to targeted interferon and immunotherapy of atypical chronic active infection caused by epstein-barr virus  | 441 |
| <i>J. V. Nefed'eva, O. R. Ziganshin</i><br>Dysfunction of the immune system values in chronic cervicitis gonococcal etiology  | 444 |
| <i>V. B. Nikitina, O. A. Lobacheva, M. F. Belokrylova, V. A. Rudnitsky, E. M. Epanchintseva</i><br>Immunoendocrine and psychological criteria of predicting the efficiency of therapy in patients suffering from adjustment disorder with anxiety-depressive symptoms | 447 |
| <i>T. P. Ospelnikova, O. V. Morozova, N. A. Mikhailova, F. I. Ershov</i><br>Interferon system in patients with chronic diseases during immunomodulating therapy   | 450 |
| <i>D. A. Parshukova, V. N. Buneva, E. G. Kornetova, D. V. Kazantseva, A. R. Vasileva, S. A. Ivanova, L. P. Smirnova</i><br>Autoantibodies to the myelin basic protein in patients with schizophrenia have proteolytic activity  | 453 |
| <i>A. V. Patrushev, A. V. Sukharev, V. Yu. Nikitin, A. M. Ivanov, I. A. Sukhina, O. P. Gumilevskaya</i><br>Influence of focal infection on the cytokine profile in patients with chronic dermatosis   | 458 |
| <i>M. R. Patysheva, M. N. Stakheyeva, A. A. Fedorov, N. A. Tarabanovskaya, E. S. Grigorieva, E. M. Slonimskaya, J. G. Kzhyshkowska, N. V. Cherdyntseva</i><br>Features circulating pro- and antitumor monocytes in patients with triple negative breast cancer        | 461 |
| <i>E. A. Pashkina, A. A. Aktanova, A. A. Ermakov, N. Yu. Knauer, I. V. Mirzaeva, E. A. Kovalenko</i><br>Effects of carboplatin with cucurbit[7]uril on subpopulation composition and proliferative activity of lymphocytes <i>in vitro</i>                            | 464 |
| <i>I. A. Pashnina</i><br>Spontaneous and stimulated amount of regulatory T-cells and activated T-helpers in children with different activity of juvenile idiopathic arthritis   | 467 |
| <i>L. P. Pivovarova, I. V. Osipova, O. B. Ariskina, E. A. Gogoleva</i><br>Defensins in patients with ischemic stroke  | 470 |
| <i>D. V. Polyakov, E. N. Konoplya</i><br>Correction of immune alterations in patients with community-acquired pneumonia   | 473 |
| <i>L. P. Popova, T. M. Pashkova, N. V. Morozova, M. D. Kyz'min, O. L. Kartashova</i><br>Anticytokine activity of <i>E. Coli</i> strains, isolated from urine with urolithiasis  | 476 |
| <i>E. V. Prosekova, T. S. Sitdikova, A. I. Turyanskaya</i><br>Structural and functional characteristic of cellular arm of the immune response in children with bronchial asthma   | 479 |
| <i>I. V. Radkov, N. G. Plekhova, S. V. Zinoviev, V. B. Shumatov</i><br>The innate immunity cells in the pathogenesis of traumatic brain injury  | 482 |
| <i>K. V. Raymuev, M. E. Malyshev, V. I. Mazurov, A. O. Bumay, T. G. Habirova</i><br>Features of cytokine status of young men, patients with osteoarthritis  | 485 |
| <i>A. Ya. Rak, A. V. Trofimov, A. M. Ischenko</i><br>Human recombinant anti-mullerian hormone: a self-activating drug   | 488 |
| <i>I. I. Remizova, G. N. Chistyakova, A. E. Aitov</i><br>Evaluation of vascular endothelial factors in women with selective delay of fetus growth during monochoorial pregnancy   | 491 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>V.A. Romanov, E. N. Erygina, N. V. Romanova, E. Y. Kapreljanc</i><br>Metabolism of circulating phagocytes in patients with lupus erythematosus   | 493 |
| <i>V.A. Romanov, E. N. Erygina, N. V. Romanova, E. Y. Kapreljanc</i><br>Metabolism of circulating phagocytes in patients with scleroderma   | 495 |
| <i>E. V. Romanova, Yu. V. Kolobovnikova, O. I. Urazova, V. V. Novitskiy</i><br>Secretion of tumor necrosis factor alpha by blood eosinophils in colon cancer with tissue eosinophilia   | 498 |
| <i>M. R. Ruzibakiyeva, T. U. Aripova, F.A. Hadzhibaev, V. Kh. Sharipov, Z. Sh. Azizova</i><br>Application of genotyping CYP3A5 polymorphism for correcting dose of tacrolimus in kidney transplantation   | 502 |
| <i>T. V. Rusinova, G. A. Chudilova, S. V. Kovaleva, V.A. Tarakanov, N. K. Barova, I. V. Nesterova</i><br>Modulating effect of eukaryotic DNA on the expression of functionally important receptor of neutrophilic granulocytes                  | 505 |
| <i>L. V. Ryabova, S. E. Nikonova</i><br>Determination of the level of cytokines in bronchoalveolar lavage fluid in patients with chronic obstructive pulmonay disease   | 508 |
| <i>K. S. Savchuk, L. V. Ryabova, K. V. Nikushkina, T. I. Nikonova</i><br>Assessment of correlation between cytokine status and red cell distribution width in patients with atherosclerosis of lower limbs affected by diabetes mellitus type 2 | 511 |
| <i>A. B. Sagakyants, I. A. Novikova, E. P. Ulyanova, E. I. Zolotareva, A. V. Shaposhnikov, E. A. Dzhenkova</i><br>Tumor stem cells and their micro-environment: the role in the development of the tumor  | 514 |
| <i>E. V. Saidakova, K. V. Shmagel, L. B. Korolevskaya, N. G. Shmagel</i><br>In HIV-infected patients, discordant response of CD4 <sup>+</sup> T-cells to antiretroviral therapy is associated with energy metabolism violation                  | 517 |
| <i>J. M. Salmasi, G. V. Poryadin, A. N. Kazimirsky</i><br>Leading mechanisms of immunopathogenesis in various types of inflammation (infectious, autoimmune, atopic)  | 520 |
| <i>Yu. V. Saranchina, O. Yu. Kilina, S. V. Dutova, N. G. Pol'shcha, T. S. Kulakova, N. V. Chanarin, P. I. Shandakov</i><br>Features of the production of interleukin-5 in atherosclerosis of the brachiocephalic arteries                       | 523 |
| <i>N. G. Sarkisyan, N. N. Kataev, I. A. Tuzankina, S. G. Melikyan</i><br>Antimicrobial peptides in the treatment of muscular oral cavity  | 526 |
| <i>Yu. A. Sarycheva, A. A. Tokareva, T. V. Panfilova, A. D. Zheleznova, B. A. Frolov</i><br>Triterpenoid miliacine as a protector of chromosomal aberrations induced by cyclophosphamide in mice bone marrow cells                              | 529 |
| <i>A. V. Serezhkina, A. D. Bogomazov, A. V. Polonikov</i><br>Effects of genetic factors to inhaled corticosteroid response in children with asthma: a literature review   | 532 |
| <i>L. P. Sizyakina, E. M. Penechko, I. I. Andreeva</i><br>Effects of interferonotherapy in the treatment of atopic dermatitis with accompanying secondary immune insufficiency syndrome   | 535 |
| <i>A. V. Skirnevskaya, N. A. Cherevko, M. I. Khudiakova, S. E. Kondakov</i><br>Features of food hypersensitivity in children with autism spectrum disorder  | 538 |
| <i>O. V. Slatinova, T. A. Serova, I. V. Bisheva, E. P. Foshina</i><br>Indicators of mukosal immunity in often ill children of the treatment by therapeutic vaccine «Immunovac VP-4»   | 541 |
| <i>M. Yu. Smakhtin, A. A. Chulanova, V. T. Koroshvili, A. M. Smakhtina</i><br>Several effects of timogen new analogue   | 544 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>M. V. Smolnikova, E. V. Kasparov, V. D. Belenyuk, S. N. Zobova, S. Y. Tereshchenko</i>   |     |
| The level of IL-4, IL-5, IL-13 and TNF- $\alpha$ in children with bronchial asthma with different control of disease                                    | 547 |
| <i>A. I. Smolagin, I. V. Mikhailova, E. V. Ermolina, L. A. Pushkareva, A. A. Isengulova, N. A. Kuzmicheva, I. V. Miroshnichenko</i>                     |     |
| Estimation of immunological indicators in rats born from passively smoked male. Communications I  | 550 |
| <i>A. V. Smyk</i>   |     |
| Application of body-oriented psycho-correction in the bronchial asthma complex therapy  | 553 |
| <i>T. F. Sokolova, A. V. Mordyk, E. L. Shcheglova, N. N. Sokol, A. R. Aroyan</i>  |     |
| Characteristics of the interferon system and cellular immunity of the children with first diagnosed active pulmonary tuberculosis                       | 556 |
| <i>A. A. Soldatov, Zh. I. Avdeeva, V. P. Bondarev, V. A. Merkylov</i>   |     |
| Immunogenicity and safety of biotechnological medicines   | 559 |
| <i>E. Yu. Soloveva, O. A. Baranova, A. V. Chekanov, E. A. Tyutyumova, A. I. Fedin</i>   |     |
| The relationship of inflammation, endothelial dysfunction and cellular link hemostasis in patients during the recovery period of stroke                 | 562 |
| <i>N. Yu. Sotnikova, N. Yu. Borzova, N. R. Radjabova</i>  |     |
| Differentiation of CD8 <sup>+</sup> lymphocytes and their cytolytic activity in women with threatened preterm labor                                     | 565 |
| <i>O. V. Starkina, N. A. Ilyukina, T. L. Vassilev</i>   |     |
| Experimental mice sepsis models: advantages and pitfalls  | 568 |
| <i>M. N. Stakheyeva, M. R. Patysheva, N. A. Tarabanovskaya, J. G. Kzhyshkowska, N. V. Cherdyntseva</i>  |     |
| Contribution of peripheral blood monocytes in the functional strategy of the immune system in breast cancer   | 571 |
| <i>D. S. Stashkevich, T. A. Suslova, A. L. Burmistrova</i>  |     |
| Evaluation of single nucleotide polymorphisms -819C/T, -592C/A IL-10 in patients with rheumatoid arthritis as a genetic risk factor                     | 574 |
| <i>G. M. Sysoeva, E. I. Ryabchikova, S. G. Gamaley, L. R. Lebedev, E. A. Volosnikova, E. D. Danilenko</i>   |     |
| Anti-tumor and immunomodulating effects of recombinant human tumor necrosis factor alpha in a delivery system in B16-F10 melanoma mice                  | 577 |
| <i>O. V. Tarabrina, S. M. Yudina, M. Yu. Korshikova, T. S. Rusanova</i>   |     |
| Prevalence and regional peculiarities of polinnosis   | 580 |
| <i>M. S. Tulupova, M. B. Hamoshin, T. A. Nevezhkina, O. N. Sidorova</i>   |     |
| Level of matrix metal proteinases and their tissue inhibitors in women with non-care of pregnancy   | 583 |
| <i>E. P. Turmova, E. V. Markelova, P. F. Kiku</i>   |     |
| Features of cytokines, adipokines, matrix metalloproteinase-9 and its inhibitors imbalance, depending on the clinical manifestations of atherosclerosis | 586 |
| <i>A. I. Turyanskaya, V. A. Sabynych</i>  |     |
| Peculiarities of the cytokine profile in children with bronchial asthma in combination with allergic rhinitis   | 589 |
| <i>T. V. Fedorenko, N. V. Kolesnikova, I. A. Pashkova</i>   |     |
| Early cytokine predictors of acute rejection of kidney transplant   | 592 |
| <i>A. V. Fedorova, N. A. Khonina</i>  |     |
| The effect of alloimmunization by human lymphocytes on the proliferative activity of woman cells with a high frequency of HLA sharing                   | 595 |
| <i>A. B. Filina, O. A. Svitich, A. K. Golenkov, E. F. Klinushkina, V. V. Zverev</i>   |     |
| Alternative ways to activate the chemotaxis of acute myeloid leukemia cells   | 598 |

|  |     |
|--|-----|
| <i>Yu. Yu. Filippova, A. L. Burmistrova</i>  |     |
| Levels of IL-6 and IFN- $\gamma$ in children with schizophrenia and autism spectrum disorders with different phenotypes of social behavior   | 601 |
| <i>Y. V. Filippova, T. A. Bondarenko, T. V. Panfilova, A. D. Zheleznova, Y. A. Sarycheva, A. A. Tokareva</i>                                 |     |
| Influence of miliacin triterpenoid on antilysozymatic activity of microorganisms   | 604 |
| <i>T. A. Fisher, L. F. Kalenova, S. S. Kolyvanova</i>  |     |
| The integrated methodology of contrasting hardening for the children aged 4–6  | 607 |
| <i>E. P. Foshina, O. V. Slatinova, T. A. Serova, S. U. Konanyhina, V. P. Afinigenova</i>   |     |
| Benefits of combinate vaccini therapy in children with recurrent infections in immunologist opinion  | 610 |
| <i>I. M. Kholimenko, M. N. Shatohin<sup>2</sup>, V. N. Maltsev<sup>1</sup>, A. G. Kotsar<sup>1</sup>, E. S. Emelyanova</i>                   |     |
| Standard treatment in the correction of immune disturbances in acute serous and purulent pyelonephritis                                      | 613 |
| <i>M. V. Khoreva, T. V. Latisheva, A. D. Ogurtsova, L. A. Gracheva, M. V. Zakharov, O. A. Switich, L. V. Gankovskaya</i>                     |     |
| Expression and functional activity of TLR2 and TLR4 in patients with allergic bronchial asthma   | 616 |
| <i>A. V. Tsepokina, N. S. Deev, S. A. Shmulevich, A. V. Shabaldin, A. A. Korostelev, A. V. Ponasenko</i>                                     |     |
| HLA-DRB1* associations with sporadic septal congenital heart diseases without chromosomal diseases   | 619 |
| <i>O. A. Tsiguleva, N. I. Barsukova, L. E. Obukhova</i>  |     |
| Interrelation of inflammatory and immune changes in chronic endometritis   | 622 |
| <i>M. A. Tsyganov, M. N. Lvova, A. V. Dushkin, V. A. Modvinov, D. F. Avgustinovich</i>   |     |
| Effect of potential anthelmintic drugs on il-1 $\beta$ expression in experimental opisthorchiasis  | 625 |
| <i>I. N. Chainikova, E. V. Ivanova, T. A. Bondarenko, N. B. Perunova, O. E. Chelpachenko, I. A. Nikiforov</i>                                |     |
| Influence of cytokines on biofilm formation of intestinal microsymbionts   | 628 |
| <i>K. A. Chemodakova, B. V. Martynov, I. A. Sukhina, V. Yu. Nikitin, A. M. Ivanov</i>  |     |
| Changes of immune status of patients with different types of glial tumors  | 631 |
| <i>S. V. Chepanov, T. N. Shlachtenko, E. A. Korniyushina, K. N. Chudotvorov, E. S. Orlova, S. A. Selkov</i>                                  |     |
| Endotelioprotective effect of intravenous immunoglobulins in obstetric pathology. Methodological approaches                                  | 634 |
| <i>N. S. Chepurnova, A. V. Kostyushko, M. S. Tulupova</i>  |     |
| Condition of indicators of interaction of the inter-cellular matrix in men with chronic chlamydial urethritis before and after the treatment | 637 |
| <i>N. D. Chizhova, T. V. Lipina, T. G. Amstislavskaya</i>  |     |
| Indicators of functional activity of nervous and immune systems in mice with mutations in the <i>DISC1</i> gene                              | 640 |
| <i>G. N. Chistyakova, I. I. Remizova, A. E. Aitov</i>  |     |
| Assessment of the functional activity of endothelium in women with heavy preeclampsia depending manifestations of the disease                | 643 |
| <i>A. A. Chulanova, M. Yu. Smakhtin, K. I. Sunaykin, A. M. Smakhtina</i>   |     |
| The immunoregulatory and hepatotropic action of GLY-HIS-LYS and timogen  | 646 |
| <i>S. G. Sharopov, A. Sh. Inoyatov</i>   |     |
| Contents of IL-18 and MSR-1 in children with congenital clearance of the upper lip and sky   | 649 |
| <i>J. A. Shevchenko, M. S. Kuznetsova, Yu. A. Lopatnikova, D. V. Demina, J. A. Sennikova, O. P. Vorobyova</i>                                |     |
| Analysis of phenotypic and functional characteristics of suppressor populations in bronchial asthma  | 652 |

|  |     |
|--|-----|
| <i>D. V. Shevyrev, V.A. Kozlov, V.O. Omelchenko</i>  |     |
| The influence of IL-7 and IL-15 on T-regulatory cells of donors and patients with rheumatoid arthritis <i>in vitro</i>                   | 656 |
| <i>V.S. Shirinsky</i>  |     |
| Autoimmune comorbid disorders – the opportunities of rational treatment  | 659 |
| <i>I. V. Shirinsky</i>   |     |
| The evolution of views on the pathogenesis of autoimmune diseases in the era of microbiome   | 662 |
| <i>M. A. Snyder, N. Y. Kalinovskaya</i>  |     |
| Pleiotropic effects of DNA methylation modulators on rheumatoid arthritis synovial fibroblasts <i>in vitro</i>                           | 665 |
| <i>V. B. Shumatov, V.A. Lazanovich, V. E. Krasnikov</i>  |     |
| Clinico-immunological evaluation of the effectiveness of intravenous immunoglobulins as an adjuvant therapy for surgical sepsis          | 668 |
| <i>T. V. Shushpanova, T. P. Novozheeva, T. V. Perevozchikova, O. V. Shushpanova, E. M. Knyazeva</i>                                      |     |
| Molecular targets of the actions of the innovative anticonvulsant meta-chloro-benzhydrylurea (M-CL-BHU) in neuroimmunology of dependence | 672 |
| <i>T. V. Shushpanova, A. V. Solonsky, A.S., Kudrenko, N. A. Bohan</i>  |     |
| Embriogenesis of neuroreceptor and neuroimmune systems of a human with neonatal influence of alcohol on fetus                            | 676 |
| <hr/>  |     |
| <b>Author Index</b>  | 677 |
| <hr/> <hr/>  |     |

# **Раздел 1**

# **ИММУНОПАТОЛОГИЯ**

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГИПОКСИТЕРАПИИ ПРИ СУБКЛИНИЧЕСКОЙ ТИРЕОИДНОЙ ДИСФУНКЦИИ АУТОИММУННОГО ГЕНЕЗА

© 2019 г. З. Х. Абазова\*, И. Х. Борукаева, В. К. Кумыков,  
Л. А. Шибзухова

\*E-mail: zalina.abazova@mail.ru

ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет  
им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия

Поступила: 24.02.2019. Принята: 11.03.2019

Показана эффективность гипокситерапии при субклинической тиреоидной дисфункции аутоиммунного генеза. После лечения отмечена нормализация иммунологических показателей, изменения которых приводили к формированию тиреопатии. Показателем восстановления тиреоидной дисфункции после лечения явилась нормализация содержания в крови тиреотропного гормона гипофиза.

**Ключевые слова:** аутоиммунные заболевания, гипокситерапия, субклиническая тиреоидная дисфункция, щитовидная железа

DOI: 10.31857/S102872210006423-0

Адрес: 360004 Нальчик, ул. Чернышевского, д. 173, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова». Абазова Залина Хасановна.  
Тел.: +7 (8662) 422560, 8928 717 84 85 (моб.).

E-mail: zalina.abazova@mail.ru

### Авторы:

**Абазова З. Х.**, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия;

**Борукаева И. Х.**, д.м.н., профессор кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия;

**Кумыков В. К.**, к.ф.м.н., доцент кафедры физики наносистем ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия;

**Шибзухова Л. А.**, студентка ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия.

Аутоиммунные тиреопатии (АТ) являются широко распространенной патологией и служат основной причиной дисфункции щитовидной железы (ЩЖ) в виде гипо- и гипертиреоза. Нарушения функции иммунной системы с признаками аутоагрессии являются главным патогенетическим звеном данных состояний [1]. Долгое время АТ могут протекать без выражен-

ной клинической симптоматики (субклинические формы), но с уже имеющимися изменениями уровня тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ) при нормальных значениях в крови трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4). Тактика ведения больных с субклиническими нарушениями функции ЩЖ окончательно не разработана. Вопрос о целесообразности применения заместительной терапии тиреоидными гормонами при субклиническом гипотиреозе и терапии тиреостатиками при субклиническом гипертиреозе остается дискуссионным ввиду высокого риска развития возможных осложнений.

Поскольку основной задачей лечащего врача является избежать прогрессии субклинической формы тиреоидной дисфункции в манифестную, возникает необходимость поиска новых методов с целью коррекции начинающихся нарушений. Одним из таких методов может быть интервальная гипоксическая тренировка (ИГТ), широко используемая в практике лечения разных заболеваний, в том числе и аутоиммунного генеза [2–4]. В связи с этим **цель** данного исследования состояла в оценке эффективности ИГТ при тиреоидной дисфункции.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование было включено 280 человек в возрасте от 18 до 60 лет, из которых 150 человек – пациенты с субклиническим гипотиреозом на фоне аутоиммунного тиреоидита, а 130 человек – пациенты с субклиническим гипертиреозом. Курс ИГТ состоял из 15 сеансов. Гипоксическая смесь подавалась от гипоксикатора фирмы «Био-Нова-204», конвертирующего комнатный воздух в гипоксическую смесь с регулируемым содержанием кислорода. До проведения курса ИГТ всем пациентам была исследована реакция ЩЖ на вдыхание гипоксических смесей с различным процентным содержанием кислорода, так как имеющиеся в литературе сведения о действии гипоксии на функцию ЩЖ весьма противоречивы. С учетом этого, больным с АТ были подобраны индивидуальные режимы курса ИГТ. Определение субпопуляций лимфоцитов проводили методом непрямой иммунофлюоресценции с применением моноклональных антител против антигенов CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, D20<sup>+</sup>. Содержание сывороточных иммуноглобулинов выявляли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После 15-дневного курса гипокситерапии у пациентов с субклиническими нарушениями функции ЩЖ, проявляющимися в измененном содержании в крови ТТГ (повышение – при субклиническом гипотиреозе и понижение – при субклиническом гипертиреозе) на фоне нормальных значений T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub>, отмечена нормализация гормонального статуса. Следует отметить, что уровни T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub> у обследуемых хоть и укладывались в нормативный диапазон, на самом деле, они приближались к нижней границы нормы при субклиническом гипотиреозе и к верхней границе нормы – при субклиническом гипертиреозе. После курса предлагаемого лечения уровни T<sub>3</sub> и T<sub>4</sub> приближались уже к средним показателям нормы. Исследование показателей иммунного статуса у пациентов выявило изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета, что подтвердило аутоиммунный генез заболевания. После гипокситерапии у всех обследуемых наблюдались определенные положительные сдвиги иммунологических показателей. Выявлено статистически достоверное (p<0,05) увеличение количества исходно сниженных общих Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>) и CD8<sup>+</sup>-клеток, умень-

шение уровня исходно повышенных Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>), нормализация иммунорегуляторного индекса. При исследовании показателей гуморального иммунитета в динамике отмечено снижение исходно повышенного количества общих В-лимфоцитов (CD20<sup>+</sup>), одновременно у большинства больных после курса ИГТ констатируется уменьшение уровня сывороточных иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG, кроме того снизилось содержание циркулирующих иммунных комплексов. Следует отметить, что уровень сывороточных IgG у больных с субклиническим гипертиреозом после ИГТ снизился в 2 раза и, учитывая, что антитела к рецептору ТТГ в основном являются иммуноглобулинами именно этого класса, становится очевидной эффективность проводимого лечения, так как в патогенезе гипертиреоза главным является стимулирующий эффект антител к рецепторам ТТГ на функцию ЩЖ. Значительно снизилась после гипокситерапии и концентрация антитиреоидных антител, повышенный титр которых является следствием иммунологических нарушений и приводящий к тиреодной дисфункции. Так, у больных с субклиническим гипотиреозом было отмечено снижение титра исходно повышенных антител к тиреопероксидазе ЩЖ на 54%, к тиреоглобулину – на 36%, а у лиц с гипертиреозом снизился титр антител к рецептору ТТГ на 50%. Положительные сдвиги иммунологических показателей после курса ИГТ особенно важны, так как иммунологическое звено занимает ведущее место в патогенезе аутоиммунной патологии ЩЖ. Поскольку в настоящее время какие-либо медикаментозные методы воздействия на собственно аутоиммунный процесс в ЩЖ с доказанной эффективностью отсутствуют, то наиболее ценной находкой оказалось иммуномодулирующее действие курса ИГТ. Ни в одном случае каких-либо осложнений от гипокситерапии или ухудшения состояния больных не отмечено.

Полученные данные говорят о том, что лечебное действие гипокситерапии реализуется не только через усиление компенсаторных механизмов, обеспечивающих доставку кислорода в ткани, но и через торможение гуморальных иммунных реакций и стимуляцию Т-клеточного звена иммунитета, т.е. через оптимальное перераспределение показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных с аутоиммунной тиреодной дисфункцией субклинического течения, что, в конечном итоге, усиливает эффективность проводимого лечения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Креминская В. М. Фундаментальная и клиническая тиреодология. — М.: «Медицина», 2007. — 815 с.
2. Колчинская А. З., Абазова З. Х., Кумыков В. К., Хацуков Б. Х. Основные вехи развития науки о гипоксии. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. — 2002. — № 2 — С. 52–54.
3. Абазова З. Х., Иванов А. Б., Борукаева И. Х., Кумыков В. К. Применение нормобарической гипокситерапии присубклиническом гипотиреозе. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. — 2015. — Т. 92. — № 2 — С. 28–31. [Abazova Z. Kh., Ivanov A. B., Borukaeva I. Kh., Kumykov V. K. The application of normobaric hypoxotherapy for the subclinical hypothyroidism // Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoy fizicheskoy kul'tury. — 2015. — Т. 92. — № 2 — С. 28–31.]
4. Абазова З. Х., Кумыков В. К., Байсиев А. Х.-М., Эфендиева М. К. Гипокситерапия в комплексном лечении аутоиммунных тиреопатий. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. — 2006. — № 3 — С. 11–13. [Abazova Z. Kh., Kumykov V. K., Balsiev A. Kh M., Efendieva M. K. Hypoxotherapy in combined treatment of autoimmune thyropathy // Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoy fizicheskoy kul'tury. — 2006. — № 3 — С. 11–13.]

## EFFICIENCY OF HYPOXIC THERAPY AT SUBCLINICAL THYROID DYSFUNCTION WITH AUTOIMMUNE GENESIS

© 2019 Z. Kh. Abazova\*, I. Kh. Borukaeva, V. K. Kumykov,  
L. A. Shibzukhova

\*E-mail: zalina.abazova@mail.ru

Kabardino-Balkar State University named after Kh. M. Berbekov, Nalchik, Russia

Received: 24.02.2019. Accepted: 11.03.2019

The efficiency of hypoxic therapy in treatment of subclinical thyroid dysfunction with autoimmune genesis is shown. After treatment the immunological parameters, which changes led to formation of thyroid dysfunction, normalized. An indicator of recovery after treatment was the normalization blood levels of pituitary thyroid-stimulating hormone.

*Key words:* autoimmune diseases, hypoxic therapy, subclinical thyroid dysfunction, thyroid gland

## Authors:

**Abazova Z. Kh.**, ✉ associate professor of normal and pathological physiology chair, Kabardin-Balkar State University named after Kh. M. Berbekov (KBSU), Nalchik, Russia. **E-mail:** zalina.abazova@mail.ru;

**Borukaeva I. Kh.**, professor of normal and pathological physiology chair, KBSU, Nalchik, Russia;

**Kumykov V. K.**, associate professor of physics of nanosystems chair; KBSU, Nalchik, Russia;

**Shibzukhova L. A.**, student; KBSU, Nalchik, Russia.

## ВЛИЯНИЕ ОЗОНОТЕРАПИИ НА ИММУННЫЙ СТАТУС ПРИ ИЗОЛИРОВАННЫХ ПЕРЕЛОМАХ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

©2019 г. К. С. Абрамов<sup>1</sup>, Е. В. Давыдова<sup>1</sup>, М. В. Осиков<sup>1\*</sup>,  
С. А. Коченгина<sup>2</sup>

\*E-mail: prof.osikov@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Челябинск, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ Челябинская областная детская клиническая больница, Челябинск, Россия

Поступила: 13.03.2019. Принята: 25.03.2019

Изучение динамики показателей иммунной системы у мужчин трудоспособного возраста с изолированным переломом бедренной кости в раннем посттравматическом периоде показало формирование иммуносупрессивного фона, за счет роста в циркуляции Т-регуляторных клеток. Применение озонотерапии в виде малой аутогемотерапии снижает проявления иммуносупрессии за счет уменьшения количества Т-регуляторных клеток в кровотоке на фоне роста числа натуральных киллеров, что даст возможность уменьшить число инфекционных осложнений.

**Ключевые слова:** перелом бедренной кости, иммунный статус, озонотерапия

DOI: 10.31857/S102872210006424-1

**Адрес:** 454092, Российская Федерация, Уральский Федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра патологической физиологии.

Абрамов Кирилл Сергеевич. Тел.: 89080609206 (моб.)

**E-mail:** prof.osikov@yandex.ru

**Авторы:**

**Абрамов К. С.**, старший лаборант кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Давыдова Е. В.**, д.м.н., доцент, профессор кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Осиков М. В.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Коченгина С. А.**, к.м.н., врач клинико-лабораторной диагностики ГБУЗ Челябинская областная детская клиническая больница, Челябинск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Статистические отчеты ВОЗ фиксируют ежегодный рост смертности от дорожно-транспортных происшествий, при этом, переломы

бедренной кости занимают более 10% от всех дорожных травм, а ежегодный риск таких переломов составляет от 1 до 3 млн. человек в год [1]. Обширное повреждение тканей провоцирует включение системных реакций организма, ведущую позицию в которых занимают механизмы реагирования иммунной системы, обеспечивающие прогрессирование воспалительного ответа. Следует учитывать, что эффективность хирургического лечения, сроки заживления костных дефектов, также во многом определяются иммунным статусом организма. В настоящее время недостаточное понимание функциональной интеграции комплексного ответа на травматическое повреждение тканей при переломах длинных трубчатых костей, включая факторы врожденного и адаптивного иммунитета, является основным препятствием для создания инновационных методов лечения. В настоящее время при лечении травматических повреждений опорно-двигательного аппарата наряду с хирургическими методами лечения, активно применяются методы эфферентной терапии, в этом плане перспективно применение озонотерапии, поскольку механизм терапевтического

действия озона многогранен и рассматривается преимущественно с позиций горьмезиса, однако, токсичные эффекты озона проявляются при применении его в концентрациях далеко за пределами терапевтического окна [2]. Поступление озона в организм приводит к умеренному окислительному стрессу, прежде всего, за счет взаимодействия с полиненасыщенными жирными кислотами и водой, генерации активных метаболитов кислорода, проявляя свои бактерицидные, антиоксидантные свойства.

**Цель исследования** заключалась в изучении изменений клеточного компартмента иммунного статуса в условиях применения озонотерапии при изолированных переломах бедренной кости.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 20 пациентов мужского пола с изолированным переломом бедренной кости, средний возраст  $43,5 \pm 5,4$  года, находящихся на лечении в отделении травматологии и ортопедии № 2 ГБУЗ Челябинская областная клиническая больница. Всем пациентам до начала хирургического лечения на 5–7 сутки после травмы производился забор венозной крови для иммунологического обследования, натошак (вторая группа,  $n=20$ ). Со вторых суток после оперативного лечения пациенты получали озонотерапию в виде процедуры малой аутогемотерапии (МАГТ) на озонотерапевтической автоматической установке с деструктором озона УОТА-60-01 «Медозон» производства ООО «Медозон», Москва. Концентрация озона в озонкислородной смеси составляла 20 мг/л, в объеме 10 мл. Объем венозной крови составлял 10 мл. Вводили внутримышечно, в ягодичную или бедренную область. Курс 7–9 инъекций через день. Сразу после окончания курса МАГТ производили контрольный забор венозной крови для иммунологического тестирования (третья группа,  $n=20$ ) Контрольную группу составили 30 условно здоровых мужчин, средний возраст  $48,5 \pm 5,2$  года (первая группа). Иммунологическое исследование крови проводили на проточном цитофлуориметре Becton Dickinson FACSCanto 10. Непосредственно для окрашивания нами были использованы двухпараметрические реагенты линии IOTest: CD3-FITC/CD19-PE, CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD(16<sup>+</sup>56)-PE, CD3-FITC/CD25-PE, CD3-FITC/-HLA-DR-PE. Окрашивание моноклональными антителами

проводили в цельной крови. По окончании инкубации проводили лизис эритроцитов и фиксацию лейкоцитов с использованием лизирующего комплекта реагентов Immuno-Prep™. Полученные данные анализировали в рамках программы CellQuest.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Системные изменения параметров клеточного иммунитета при изолированных переломах бедренной кости характеризовались наличием лейкоцитоза, повышением относительного содержания Т-хелперной популяции, Т-регуляторных лимфоцитов, В-лимфоцитов, НК-клеток и ростом общего числа лимфоцитов с маркерами ранней позитивной активации (CD25<sup>+</sup>), что отражает активные перераспределительные изменения клеточного репертуара иммунных клеток в раннем посттравматическом периоде. При этом, нами зафиксирован рост абсолютных концентраций CD25-позитивных лимфоцитов, несущих  $\alpha$ -цепи рецептора для IL-2 и популяции Т-регуляторных клеток, выполняющих надзорную функцию за регуляцией Т-клеточного гомеостаза. При уменьшении в циркуляции популяции Т-регуляторных лимфоцитов развиваются предпосылки для формирования аутоиммунных процессов, напротив, их резкое повышение в кровотоке может привести к выраженной иммуносупрессии. Важным свойством Т-регуляторных клеток является наличие на мембране рецептора CD25, эти клетки могут выполнять роль мусорщика IL-2, тем самым ингибируя активацию других Т-клеток. Снижая концентрацию IL-2, Т-рег вызывают апоптоз IL-2-зависимых клеток, экспрессия на мембране клеток транскрипционного фактора подавления — FoxP3, опосредует ингибирование клеточной активности. Популяция НК лимфоцитов с высокой экспрессией CD16<sup>+</sup> (80–90%), обладающих выраженной цитолитической активностью, свойственной врожденным механизмам защиты, оказалась сниженной у пациентов с переломом бедренной кости. На фоне применения системной озонотерапии нами отмечено снижение относительной и абсолютной численности Т-регуляторных клеток, процентного содержания В-лимфоцитов, общего числа клеток с маркерами ранней позитивной активации (CD25<sup>+</sup>), рост численности натуральных киллеров, что в целом характеризует позитивный эффект озонотерапии на состояние клеточного компартмента иммунной системы. Снижение в крови Т-регулятор-

ных клеток отменяет механизмы иммуносупрессии, а рост в циркуляции натуральных киллеров усиливает цитолитические реакции. При этом популяция NK-клеток способна в ответ на воздействие IL-2 секретировать IFN $\gamma$ , TNF $\beta$ , IL-10, IL-13, GM-CSF, т.е. участвует в реализации адаптивного иммунитета.

Таким образом, системные иммунные реакции в ответ на травматическое повреждение бедренной кости в раннем посттравматическом периоде заключаются в формировании иммуносупрессивного фона. За счет увеличения численности T-регуляторной субпопуляции хелперов, с одной стороны, способствующей ограничению деструктивных иммунных, а также возможных аутоиммунных реакций в ответ на травму, а с другой стороны, возможно способствующей развитию инфекционных осложнений. Применение озонотерапии в раннем посттравмати-

ческом периоде на наш взгляд целесообразно, т.к. снижает проявления иммуносупрессии, нормализуя количество T-регуляторных клеток в кровотоке, с другой стороны проявляет бактерицидные и антиоксидантные свойства, направленные на предотвращение инфекционных осложнений.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Agarwal-Harding K.J., Meara J.G., Greenberg S.L., Hagander L.E., Zurakowski D., Dyer G.S. Estimating the global incidence of femoral fracture from road traffic collisions: a literature review. *J Bone Joint Surg Am.* 2015, 18, 97(6): e31. doi: 10.2106/JBJS.N.00314. (Типовая, англоязычная)
2. Re L., Martínez-Sánchez G., Bordicchia M. Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway *in vivo*. A preliminary result? *Eur J Pharmacol.* 2014;742:158–162.

### INFLUENCE OF OZONOTHERAPY ON IMMUNE STATUS AT ISOLATED FRACTURES OF THE FEMORAL BONE

© 2019 K. S. Abramov<sup>1</sup>, E. V. Davydova<sup>1</sup>, M. V. Osikov<sup>1\*</sup>, S. A. Kochengina<sup>2</sup>

\*E-mail: prof.osikov@yandex.ru

<sup>1</sup>South Ural State Medical University” of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia;

<sup>2</sup>Chelyabinsk Regional Children’s Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia

Received: 13.03.2019. Accepted: 25.03.2019

The study of the dynamics of the immune system parameters in men of working age with an isolated fracture of the femur in the early post-traumatic period showed the formation of an immunosuppressive background, due to an increase in the circulation of T-regulatory cells. The use of ozone therapy in the form of small autohemotherapy reduces the manifestations of immunosuppression by reducing the number of T-regulatory cells in the bloodstream against the background of an increase in the number of natural killer cells, which will make it possible to reduce the number of infectious complications.

*Key words:* femur fracture, immune status, ozone therapy

#### Authors:

**Abramov K. S.**, Senior Laboratory Assistant, Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia;

**Davydova E. V.**, MD, associate professor, professor of the Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia;

**Osikov M. V.**, MD, Professor, Head. Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** prof.osikov@yandex.ru;

**Kochengina S. A.**, Ph.D., doctor of clinical and laboratory diagnostics, Chelyabinsk Oblast Children’s Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia.

## ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОНОЦИТОВ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ОЗОНОТЕРАПИИ ПРИ ИЗОЛИРОВАННЫХ ПЕРЕЛОМАХ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

© 2019 г. К. С. Абрамов, Е. В. Давыдова

*E-mail: prof.osikov@yandex.ru*

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

Поступила: 13.03.2019. Принята: 27.03.2019

Исследование функциональной активности моноцитов крови в условиях применения озонотерапии при изолированных переломах бедренной кости показало, что посттравматические переломы бедренной кости сопровождаются функциональной активацией клеток врожденного компартмента иммунной системы в виде повышения адгезивной и бактерицидной активности. Применение озонотерапии в виде процедуры малой аутогемотерапии повышает уровень функциональной активности моноцитов, способствуя активизации процессов очищения раны и предотвращению инфекционных осложнений.

**Ключевые слова:** перелом бедренной кости, функциональная активность моноцитов, озонотерапия

DOI: 10.31857/S102872210006425-2

**Адрес:** 454092, Российская Федерация, Уральский Федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра патологической физиологии.

Абрамов Кирилл Сергеевич, 8 908 060 92 06 (моб.).

**E-mail:** prof.osikov@yandex.ru

**Авторы:**

**Абрамов К. С.**, старший лаборант кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Давыдова Е. В.**, д.м.н., доцент, профессор кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Наиболее ранней системной реакцией организма в ответ на массивное повреждение тканей, включающее перелом бедренной кости, повреждение мягких тканей, кровопотерю, является синдром системного воспалительного ответа, как результат массивного высвобождения эндогенных DAMPs (damage-associated molecular patterns) факторов [1]. Именно с DAMPs связывают раннюю активацию факторов врожденной иммунной защиты, комплемента, нейтрофилов,

моноцитов. Резидентные макрофаги, а вслед за ними нейтрофилы первыми мигрируют в очаг травматического повреждения и активируются, в ответ на высвобождение эндогенных молекул, массово освобожденных из поврежденных клеток, таких как АТФ, гистоны, митохондриальная ДНК и др. [2]. Значительную роль в повреждении интактных клеток и тканей, окружающих зону травмы за счет высвобождения протеаз, активных форм кислорода, провоспалительных цитокинов, формирования внеклеточных нейтрофильных ловушек, накопления лактата в тканях играют нейтрофилы. В свою очередь локальные иммунные реакции после перелома бедра, включающие очищение раны, секрецию хемокинов CCL2, цитокинов IL-6 обеспечивают резидентные макрофаги – остеокласты, поляризованные в M1, далее в M2 провоспалительный фенотип, что осуществляет смену воспалительной фазы на репаративную [3]. В контексте рассматриваемой проблемы изменений иммунного статуса и процессов свободно-радикального окисления представляют интерес перспективные направления иммунокоррекции. Одним из таких направлений терапевтического воздействия является озонотерапия.

**Цель исследования** заключалась в изучении функциональной активности моноцитов крови в условиях применения озонотерапии при изолированных переломах бедренной кости.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 20 пациентов мужского пола с изолированным переломом бедренной кости, средний возраст  $43,5 \pm 5,4$  года, находящихся на лечении в отделении травматологии и ортопедии № 2 ГБУЗ Челябинская областная клиническая больница. Всем пациентам до начала хирургического лечения на 5–7 сутки после травмы производился забор венозной крови для иммунологического обследования, натошак (вторая группа,  $n=20$ ). Со вторых суток после оперативного лечения пациенты получали озонотерапию в виде процедуры малой аутогемотерапии (МАГТ) на озонотерапевтической автоматической установке с деструктором озона УОТА-60-01 «Медозон» производства ООО «Медозон», Москва. Концентрация озона в озонкислородной смеси составляла 20 мг/л, в объеме 10 мл. Объем венозной крови составлял 10 мл. Вводили внутримышечно, в ягодичную или бедренную область. Курс 7–9 инъекций через день. Сразу после окончания курса МАГТ производили контрольный забор венозной крови для иммунологического тестирования (третья группа,  $n=20$ ). Контрольную группу составили 30 условно здоровых мужчин, средний возраст  $48,5 \pm 5,2$  года (первая группа). Объектом исследования служила венозная кровь, взятая натошак, в утренние часы. Кровь стабилизировали гепарином из расчета 10 ЕД/мл. Фракцию мононуклеаров выделяли на фиколл-верографин-градиенте плотностью 1,077 г/мл при центрифугировании (400 g 45 минут). Определение адгезии моноцитов проводили на покровном стекле, помещенном во влажную среду в чашку Петри, инкубировали при  $37^\circ\text{C}$  в течение 60 минут, отмывали, вычисляли абсолютное число адгезировавших моноцитов. Конечный результат выражали в процентах. Оценку бактерицидных свойств моноцитов проводили с помощью спонтанного и индуцированного МТТ-теста спектрофотометрическим методом. МТТ-тест основан на восстановлении бесцветной соли тетразолия митохондриальными и цитоплазматическими дегидрогеназами живых метаболически активных клеток с образованием голубых кристаллов формазана, количество которого измеряется спектрофотометрически, после рас-

творения кристаллов в ДМСО. Результат учитывали на спектрофотометре «Multiscan Plus» при длине волны 560 нм.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Функциональная активность моноцитов, выделенных из периферической крови пациентов с переломами бедренной кости на 5–7 сутки после травмы, согласно нашим исследованиям претерпевала значительные изменения. Адгезивная активность клеток у мужчин с переломом бедренной кости была достоверно увеличена в сравнении с показателями контрольной группы. Известно, что первичный ответ на травматическое повреждение тканей и внедрение микробного агента осуществляется резидентными макрофагами в самые первые минуты после травмы, а далее по хемотаксическому градиенту, отвечая на межклеточные сигналы и проникая через слой эндотелия ткани инфильтрируют нейтрофилы и моноциты периферической крови. Адгезивная активность моноцитов обусловлена высоким уровнем экспрессии мембранных интегринов и способностью моноцитов распознавать специфические хемоаттрактанты собственными рецепторами – серпентинами. В целом, усиление адгезивной активности моноцитов отражает явление прайминга клеток, т.е. их подготовки к переходу в рабочее состояние, что имеет большое значение для эффективного распознавания и фагоцитоза. Изучение МТТ активности моноцитов как в спонтанной, так и в индуцированной ЛПС *S.typhi* пробах показало увеличение показателей в сравнении с контрольной группой, что отражает рост внутриклеточной продукции активных форм кислорода в условиях развития системного воспалительного ответа на травму, в ранний посттравматический период. В условиях применения процедуры озонотерапии нами отмечен рост показателя адгезии в сравнении с контрольной группой, что достаточно закономерно и зафиксирована тенденция усиления адгезивной активности в сравнении с пациентами до лечения, не достигающая степени статистической достоверности. Показатели МТТ активности в спонтанной пробе после применения озонотерапии также были значимо повышенными в сравнении с показателями условно здоровых мужчин (первая группа) и оказались практически вдвое больше ( $p < 0,01$ ), чем у пациентов второй группы, а в индуцированной пробе отмечена тенденция роста показателя бактерицидности.

Таким образом, посттравматические переломы бедренной кости сопровождаются функциональной активацией клеток врожденного компартмента иммунной системы в виде повышения адгезивной и бактерицидной активности. Применение озонотерапии в комплексном лечении пациентов с изолированными переломами бедренной кости повышает уровень функциональной активности моноцитов, способствуя активизации процессов очищения раны и предотвращению инфекционных осложнений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Amarante-Mendes G. P., Adjemian S., Branco L. M.* Pattern Recognition Receptors and the Host Cell Death Molecular Machinery. *Front Immunol.* 2018, 9:2379. doi: 10.3389/fimmu.2018.02379.
2. *Netea M. G.* A guiding map for inflammation. *Nat Immunol.* 2017, 18, 826–831.
3. *Gibon E., Lu L. Y., Nathan K., Goodman S. B.* Inflammation, ageing, and bone regeneration. *J Orthop Translat.* 2017, 10, 28–35. doi: 10.1016/j.jot.2017.04.002.

## INFLUENCE OF OZONOTHERAPY ON IMMUNE STATUS AT ISOLATED FRACTURES OF THE FEMORAL BONE

© 2019 K. S. Abramov, E. V. Davydova

*E-mail: prof.osikov@yandex.ru*

*“South Ural State Medical University” of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia*

**Received:** 13.03.2019. **Accepted:** 27.03.2019

The study of the functional activity of blood monocytes under conditions of ozone therapy for isolated femoral fractures showed that post-traumatic femoral fractures are accompanied by functional activation of cells of the innate compartment of the immune system in the form of increased adhesive and bactericidal activity. The use of ozone therapy in the form of a small autohemotherapy procedure increases the level of monocyte functional activity, contributing to the activation of wound cleansing processes and the prevention of infectious complications.

*Key words:* femur fracture, functional activity of monocytes, ozone therapy

### Authors:

**Abramov K. S.**, Senior Laboratory Assistant, Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia;

**Davydova E. V.**, MD, associate professor, professor of the Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, Russia.

## ПРЕПАРАТЫ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ В ОНКОЛОГИИ

© 2019 г. Ж. И. Авдеева<sup>1\*</sup>, А. А. Солдатов<sup>1</sup>, М. В. Киселевский<sup>2</sup>,  
В. П. Бондарев<sup>1</sup>

\*E-mail: avd-cytok@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина Минздрава России, Москва, Россия

Поступила: 12.03.2019. Принята: 22.03.2019

Лекарственные препараты моноклональных антител, успешно применяемые в клинической практике для лечения онкологических заболеваний, являются результатом научных достижений биотехнологических разработок и исследований в области молекулярной иммунологии. Однако, несмотря на эффективность использования указанных биотерапевтических препаратов, остается много нерешенных вопросов, возникающих при разработке новых лекарственных препаратов на основе рекомбинантных белков и при их клиническом применении. Это связано с выбором антигена-мишени с учетом механизмов канцерогенеза при разработке препарата, всесторонней оценкой качественных характеристик рекомбинантного белка, обеспечением надлежащих условий производства, оценкой безопасности клинического применения, связанной, прежде всего, с проявлениями «нежелательной» иммуногенности лекарственного препарата.

**Ключевые слова:** моноклональные антитела, противоопухолевый иммунитет, эффективность, безопасность, физико-химическая и биологическая характеристика, оценка иммуногенности

DOI: 10.31857/S102872210006426-3

**Адрес:** 119002 Москва, Сивцев Вражек, д. 41, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава РФ, Авдеева Жанна Ильдаровна.

Тел. 8 (499) 241-25-34.

**E-mail:** avd-cytok@yandex.ru.

**Авторы:**

**Авдеева Ж. И.**, д.м.н., проф., Главный эксперт ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия;

**Солдатов А. А.**, д.м.н., Главный эксперт ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия;

**Киселевский М. В.**, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточного иммунитета ФГБУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина Минздрава России, Москва, Россия;

**Бондарев В. П.**, д.м.н., профессор, директор Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия.

Вопросам лечения онкологических заболеваний уделяется значительное внимание, т.к. по причинам летального исхода в большинстве развитых стран указанные заболевания уступают только сердечно-сосудистым заболеваниям. Несмотря на значительные успехи, многие во-

просы лекарственной терапии остаются в настоящее время нерешенными. Научные достижения в области молекулярной онкологии позволили определить основные механизмы канцерогенеза. Согласно современным представлениям злокачественный фенотип опухолевых клеток базируется на нечувствительности опухолевых клеток к сигналам контактного торможения и апоптоза, отсутствии регуляторного потенциала процесса пролиферации; способности опухолевых клеток к тканевой инвазии и метастазированию; стимуляции неконтролируемого ангиогенеза; приспособительной способности опухолей к «уклонению» от системы иммунологического надзора организма за опухолевым процессом [1].

Используемые для лечения пациентов с онкологическими заболеваниями препараты химиотерапии подавляют пролиферацию всех быстро делящихся клеток, в то время как основной целью таргетной терапии является возможность воздействия на конкретные антигенные структуры, участвующие в механизмах канцерогенеза и роста опухолей. Современные препараты ока-

зывают непосредственное воздействие на клетки опухоли или на медиаторы, поддерживающие их рост, а также обеспечивают стимуляцию противоопухолевого иммунитета [2–3].

Благодаря современным разработкам в области биотехнологии, молекулярной биологии и иммунологии в настоящее время в клиническую практику внедрены биотерапевтические противоопухолевые препараты на основе моноклональных антител (МкАТ), которые характеризуются таргентным направленным действием на патогенетически значимые молекулярные мишени, ответственные за развитие опухолевого процесса. Лекарственные препараты МкАТ, направленные к опухолевым АГ или факторам роста, воздействуют избирательно на клетки опухолей, подавляя процессы их пролиферации, ангиогенеза и метастазирования, или индуцируют активацию противоопухолевого иммунитета. Указанные свойства препаратов МкАТ обеспечивают эффективность их клинического применения. Однако, в связи с тем, что препараты имеют белковую природу и не исключено присутствие чужеродных последовательностей в молекуле белка, несмотря на совершенствование разработки препаратов (химерные, гуманизированные, полностью человеческие рекомбинантные иммуноглобулины, модифицированные МкАТ), а также в связи с длительностью их клинического применения возможно формирование иммунного ответа на препарат.

Вероятность развития иммунного ответа на лекарственный препарат зависит от характеристик препарата, наличия посторонних примесей, состава вспомогательных веществ, стабильности при хранении, совместимости с материалом первичной упаковки и инфузионной системы при клиническом применении. Физико-химические и биологические свойства препаратов на основе рекомбинантных белков зависят от соблюдения строгих условий технологии и контроля в процессе производства. Незначительные структурные изменения молекулы белка, профиля гликозилирования повышают иммуногенность терапевтического белка. Факторы, предрасполагающие к развитию иммунного ответа, включают также генетические особенности пациента, сопутствующую терапию и патологию, схему и путь введения препарата.

Развитие иммунного ответа сопровождается формированием антител (АТ) к препарату, что может влиять на фармакокинетику, эффективность и безопасность, провоцируя снижение терапевтической эффективности и развитие

как острых, так и замедленных иммуноопосредованных реакций. Формирование клеточного иммунного ответа также может быть причиной развития побочных реакций [4–5]. У пациентов с онкопатологией очень сложно установить истинную причину снижения эффективности проводимой терапии, связано ли это с развитием нейтрализующих АТ или прогрессированием основного заболевания. Развитие гуморального иммунного ответа может провоцировать острые инфузионные реакции, при этом анафилактические реакции, связанные с формированием IgE АТ, могут иметь тяжелые клинические последствия. Анафилактоидные инфузионные реакции не являются истинными аллергическими реакциями, их проявления могут быть смягчены путем проведения премедикации. Реакции замедленного типа, обусловлены образованием Т-клеток эффекторов или иммунных комплексов; как правило, причиной развития таких реакций являются нарушение режима дозирования и схемы введения препарата или замена препаратов, относящихся к одной группе. Тяжелым проявлением последствий развития иммунного ответа может быть массивный лизис опухолевых клеток, что требует необходимости тщательного выполнения рекомендаций, изложенных в инструкции по применению препарата.

При проведении клинических исследований на этапе разработки нового биотерапевтического препарата проводят оценку иммуногенного потенциала препарата. После регистрации препарата в рамках выполнения фармаконадзора и на основании анализа опыта клинического применения данные по оценке безопасности препарата, связанной с «нежелательной» иммуногенностью, уточняются. Внедрение в клиническую практику лекарственных препаратов нового поколения на основе МкАТ обеспечивает повышение эффективности терапии пациентов с онкологическими заболеваниями.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Teng M. W., Galon J., Fridman W. H., Smyth M. J.* From mice to humans: developments in cancer immunotherapy. *J Clin Invest.* 2015 Sep; 125(9):3338–46. doi: 10.1172/JCI80004. PMID: 26241053.
2. *Mellman I., Coukos G., Dranoff G.* Cancer immunotherapy comes of age. *Nature.* 2011; 480(7378): 480–9.
3. *Vannemann M., Dranoff G.* Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. *Nature Rev Cancer.* 2012; 12: 237–50.
4. *Schellekens H.* Immunogenicity of therapeutic proteins: clinical implications and future prospects. *Clin. Ther.* 2002; 24: 1720–40.

5. Bartelds G. M., Kriekaert C. L., Nurmohamed M. T., van Schouwenburg P. A., Lems W. F., Twisk J. W., Dijkmans B. A., Aarden L., Wolbink G. J. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA*. 2011; 305: 1460–8.

## MEDICINES OF MONOCLONAL ANTIBODIES IN ONCOLOGY

© 2019 Zh. I. Avdeeva<sup>1\*</sup>, A. A. Soldatov<sup>1</sup>, M. V. Kiselevskiy<sup>2</sup>,  
V. P. Bondarev<sup>1</sup>

\*E-mail: avd-cytok@yandex.ru.

<sup>1</sup>Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Russian Cancer Research Center named after N. N. Blokhin» of the of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

**Received:** 12.03.2019. **Accepted:** 22.03.2019

The medicines of monoclonal antibody which are successfully applied in clinical practice to treatment of oncological diseases are result of scientific achievements of biotechnology developments and researches in the field of molecular immunology. However, despite efficiency of use of the specified bi-therapeutic drugs, remains many unresolved questions evolving when developing new medicines from recombinant proteins and at their clinical use. It is connected with the choice of a target antigen taking into account carcinogenesis mechanisms when developing medicine, comprehensive assessment of qualitative characteristics of recombinant protein, providing appropriate conditions of production, assessment of safety of a clinical use connected, first of all, with manifestations of «undesirable» immunogenicity of medicine.

*Key words:* monoclonal antibody, anti-tumor immunity, efficiency, safety, physico-chemical and biological characterization, assessment of immunogenicity

### Authors:

**Avdeeva Zh. I.**, ☒ PhD, professor, Chief Expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations, Moscow, Russia. **E-mail:** avd-cytok@yandex.ru.;

**Soldatov A. A.**, PhD, Chief Expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations, Moscow, Russia;

**Kiselevskiy M. V.**, PhD, professor, Head of the laboratory of cellular immunity, Russian Cancer Research Center named after N. N. Blokhin» of the of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Bondarev V. P.**, PhD, professor, Director of Centre of expertise of the medical immunobiological preparations quality, Moscow, Russia.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ КАНДИДАТНОЙ ДНК-ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ-1 СУБТИПА А

© 2019 г. Е. Б. Акулова<sup>1\*</sup>, Б. В. Мурашев<sup>2</sup>, О. В. Назаренко<sup>2</sup>,  
С. В. Веревошкин<sup>1</sup>, А. Э. Машарский<sup>1</sup>, Р. И. Аль-Шехадат<sup>1</sup>,  
Д. А. Лиознов<sup>3</sup>, А. П. Козлов<sup>1,2</sup>

\*E-mail: e.b.akulova@hpb.spb.ru

<sup>1</sup>ФГУП «Гос. НИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ЧНИУ «Биомедицинский центр», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 07.02.2019. Принята: 19.02.2019

Со времени выделения СПИДа как самостоятельного заболевания в 1981 г. в мире, по оценкам ВОЗ, официально зарегистрировано около 60 миллионов ВИЧ-инфицированных человек, из них около 30 миллионов умерло от СПИДа. Одним из направлений исследований в данной области является разработка вакцин против ВИЧ/СПИД. В отсутствие адекватной животной модели для ВИЧ необходимо понимание иммунологических коррелятов протективности разрабатываемых вакцин. Исследование посвящено изучению иммунологических коррелятов кандидатной ДНК-вакцины против ВИЧ-1 «ДНК-4». Проведен анализ специфического иммунного ответа у участников клинического исследования вакцины I фазы и у ВИЧ-неинфицированных людей, имеющих повторяющийся контакт с вирусом в течение продолжительного времени. В обеих группах выявлена повышенная экспрессия цитокина TNF $\alpha$  CD4<sup>+</sup> Т-клетками в ответ на специфическую пептидную стимуляцию, что может служить показателем возможной эффективности разрабатываемой вакцины.

**Ключевые слова:** ВИЧ, СПИД, ДНК-вакцины, иммунологические корреляты, клинические исследования

DOI: 10.31857/S102872210006427-4

**Адрес:** 197110 Санкт-Петербург, Пудожская ул., д. 7, ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России, лаборатория молекулярной биологии ВИЧ. Козлов Андрей Петрович.  
Тел.: +7 (812) 499 16 79.

**E-mail:** e.b.akulova@hpb.spb.ru

### Авторы:

**Акулова Е. Б.**, заместитель начальника лаборатории молекулярной биологии ВИЧ ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России, СПб, Россия;

**Мурашев Б. В.**, к.б.н., старший научный сотрудник ЧНИУ «Биомедицинский центр», СПб, Россия;

**Назаренко О. В.** научный сотрудник ЧНИУ «Биомедицинский центр», СПб, Россия;

**Веревошкин С. В.**, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ВИЧ ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России, СПб, Россия;

**Машарский А. Э.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ВИЧ ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России, СПб, Россия;

**Аль-Шехадат Р. И.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ВИЧ ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России, СПб, Россия;

**Лиознов Д. А.**, д.м.н., заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, СПб, Россия;

**Козлов А. П.**, д.б.н., проф., начальник лаборатории молекулярной биологии ВИЧ ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия; директор ЧНИУ «Биомедицинский центр», СПб, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Со времени выделения СПИДа как самостоятельного заболевания в 1981 г. в мире, по оценкам ВОЗ, официально зарегистрировано около 60 миллионов ВИЧ-инфицированных человек, из них около 30 миллионов умерло от СПИДа. Одним из направлений исследований в данной области является разработка вакцин против ВИЧ/СПИД. В отсутствие адекватной животной модели для ВИЧ для разработки вакцин необхо-

димом пониманием иммунологических коррелятов защиты против ВИЧ.

ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России и Биомедицинским центром разработана ДНК-вакцина против ВИЧ-1 субтипа А «ДНК-4», представляющая собой смесь четырех плазмидных ДНК, кодирующих вирусные белки Nef, Gag, Pol (rt) и gp140. Вакцина прошла доклинические исследования, клинические исследования I фазы на здоровых добровольцах и II фазы на ВИЧ-инфицированных пациентах, получающих антиретровирусную терапию.

**Цель.** Выявить иммунологические корреляты протективности кандидатной ДНК-вакцины против ВИЧ-1 субтипа А «ДНК-4».

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

1. Клинические исследования I фазы ДНК-вакцины против ВИЧ-1. В ходе исследования оценивалась безопасность вакцины «ДНК-4» у здоровых добровольцев на основании частоты и степени тяжести нежелательных явлений. Оценка иммуногенности проводилась с помощью методов иммуноферментного анализа, внутриклеточного окрашивания цитокинов, IFN $\gamma$ -ELISpot и лимфопролиферативного анализа.

2. Изучение ВИЧ-специфического иммунного ответа у неинфицированных людей, имеющих повторяющийся контакт с вирусом в течение продолжительного времени (ESN – exposed seronegative individuals) проводили методами внутриклеточного окрашивания цитокинов и IFN $\gamma$ -ELISpot.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В клиническое исследование I фазы был включен 21 здоровый доброволец (по 7 человек в группы 0,25 мг, 0,5 мг и 1,0 мг вакцины на инъекцию). Участники каждой группы были вакцинированы в дни 0, 6, 10, 14 с последующим периодом наблюдения до 2 месяцев. Было показано, что вакцина «ДНК-4» является безопасной и хорошо переносится здоровыми до-

бровольцами. ВИЧ-специфический клеточный иммунный ответ выявлен у всех (21/21) участников исследования и различался между индивидуумами. Антитела к белкам ВИЧ-1 обнаружены у 5 человек с невысоким титром [1].

В исследовании специфического иммунного ответа у ESN индивидуумов были включены 19 человек, имевших высокий риск парентерального и/или полового инфицирования. С помощью метода IFN $\gamma$ -ELISpot иммунный ответ был выявлен у 13 (68%) участников исследования, из которых 13 – к белку Nef, 3 – к белку Gag и 1 – к белку RT [2].

Для 9 участников исследования был проведен анализ иммунного ответа методом внутриклеточного окрашивания цитокинов. Продукция цитокинов в ответ на специфическую стимуляцию клеток была выявлена у всех (9/9) проанализированных добровольцев, при этом у 8/9 человек показана повышенная экспрессия цитокина TNF $\alpha$  CD4<sup>+</sup> Т-клетками, стимулированными пептидами белка Nef [2].

Аналогичное повышение экспрессии TNF $\alpha$  хелперными лимфоцитами было обнаружено также у части участников клинических исследований [1].

Выявляемый иммунный ответ у ESN-индивидуумов может являться одним из факторов, препятствующих инфицированию, и использоваться в качестве иммунологического коррелята протективности ДНК-вакцины против ВИЧ-1.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Murashev B. V., Nazarenko O. V., Akulova E. B., Artemyeva A. K., Verevochkin S. V., Shaboltas A. V., Skochilov R. V., Toussova O. V., Kozlov A. P. The high frequency of HIV type 1-specific cellular immune responses in seronegative individuals with parenteral and/or heterosexual HIV type 1 exposure. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012, 12, 1598–605.
2. Akulova E., Murashev B., Nazarenko O., Verevochkin S., Masharsky A., Krasnoselskikh T., Lioznov D., Sokolovsky E., Kozlov A. P. Immune Responses Induced by Candidate Optimized HIV DNA Vaccine in Phase I Clinical Trial. *Madridge J Vacc*. 2017, 1(1), 34–43.

## IMMUNOLOGICAL CORRELATES OF A CANDIDATE DNA VACCINE AGAINST HIV-1 SUBTYPE A

© 2019 E. B. Akulova<sup>1\*</sup>, B. V. Murashev<sup>2</sup>, O. V. Nazarenko<sup>2</sup>, S. V. Verevchkin<sup>1</sup>,  
A. E. Masharsky<sup>1</sup>, R. I. Al Shekhatat<sup>1</sup>, D. A. Lioznov<sup>3</sup>, A. P. Kozlov<sup>1,2</sup>

\*E-mail: e.b.akulova@hpb.spb.ru

<sup>1</sup>State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>The Biomedical Center, St. Petersburg, Russia;

<sup>3</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Received: 07.02.2019. Accepted: 19.02.2019

Since 1981, when AIDS was identified as a disease about 60 million of HIV infected people have been registered and 30 million have died according to WHO. The development of vaccines against HIV/AIDS is an important step in solving this problem. In the absence of an adequate animal model for HIV, vaccine development requires an understanding of immunological correlates of HIV protection. In this study we investigated the immunological correlates of a candidate HIV-1 DNA vaccine. We analyzed the specific immune responses in phase I clinical trial participants and in HIV exposed seronegative individuals. In both groups, an increase in TNF $\alpha$  cytokine by CD4<sup>+</sup> T cells in response to specific peptide stimulation was found. This could be an indicator of the possible vaccine efficacy.

*Key words:* HIV, AIDS, DNA vaccines, immunological correlates, clinical trials

### Authors:

**Akulova E. B.**, ✉ Deputy Head of Laboratory of HIV Molecular Biology, State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia. E-mail: e.b.akulova@hpb.spb.ru;

**Murashev B. V.**, PhD, Senior Researcher, The Biomedical Center, St. Petersburg, Russia;

**Nazarenko O. V.**, Researcher, The Biomedical Center, St. Petersburg, Russia;

**Verevchkin S. V.**, Senior Researcher of Laboratory of HIV Molecular Biology, State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia;

**Masharsky A. E.**, PhD, Leading Researcher of Laboratory of HIV Molecular Biology, State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia;

**Al-Shekhatat R. I.**, PhD, Leading Researcher of Laboratory of HIV Molecular Biology, State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia;

**Lioznov D. A.**, MD, Head of Dept. of Infectious Diseases and Epidemiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia;

**Kozlov A. P.**, D. Sc., Prof., Head of Laboratory of HIV Molecular Biology, State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia; Director of the Biomedical Center, St. Petersburg, Russia.

## МИКРОВЕЗИКУЛЫ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ У ЖЕНЩИН В ЦИКЛЕ ЭКО

© 2019 г. Е. А. Андреева<sup>1</sup>, Н. А. Хонина<sup>1,2\*</sup>, Н. М. Пасман<sup>2</sup>

\*E-mail: nkhonina@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 27.03.2019

Образование микровезикул является физиологическим процессом, однако, их повышенное содержание ассоциировано с рядом заболеваний и имеет высокую диагностическую значимость, в том числе и при патологии репродукции. В данной работе показано, что в фолликулярной жидкости женщин определяются AnnV<sup>+</sup> микровезикулы. При этом повышенный уровень AnnV<sup>+</sup>CD107<sup>+</sup> микровезикул ассоциирован с возрастом, а увеличение AnnV<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>, AnnV<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup>, AnnV<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup> микровезикул – с большей продолжительностью бесплодия. Ретроспективный анализ показал, что наступление клинической беременности ассоциировано с более высоким уровнем AnnV<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup> и AnnV<sup>+</sup>CD107a<sup>+</sup> микровезикул.

**Ключевые слова:** микровезикулы, фолликулярная жидкость, бесплодие, ЭКО

DOI: 10.31857/S102872210006428-5

Адрес: 630099 Новосибирск, ул. Ядринцевская, д 14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клеточной иммунотерапии. Тел. (383) 236-03-29, (383) 228-21-01.

E-mail: nkhonina@mail.ru

**Авторы:**

**Андреева Е. А.**, аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Хонина Н. А.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Пасман Н. М.**, д.м.н., профессор зав. кафедрой акушерства и гинекологии «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» Новосибирск, Россия.

Микровезикулы (МВ), представляют собой структуры размером 0,05–1 мкм, содержащие компоненты цитоплазмы (ферменты, факторы транскрипции, нуклеиновые кислоты и др.) [1]. Повышенный уровень МВ регистрируется при воспалении, сердечно-сосудистых и аутоиммунных заболеваниях [2]. Согласно единичным данным, представленным в обзоре литературы, МВ, присутствующие в ФЖ, участвуют в фол-

ликулогенезе, мейозе ооцитов, стероидогенезе и профилактике полиспермии после оплодотворения [3]. Так же показано, что МВ, высвобождаемые эмбриональными клетками, влияют на формирование трофобласта во время имплантации и наступления беременности [4].

**Цель исследования.** Исследовать уровень и фенотип МВ в ФЖ, и их потенциальную связь с клиническими и эмбриологическими показателями у женщин в цикле ЭКО.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 32 женщины с бесплодием, проходивших лечение методом ЭКО и 5 фертильных женщин – доноров ооцитов. Исследование проводилось после получения письменного информированного добровольного согласия. Возраст женщин с бесплодием варьировал от 20 до 42 лет (медиана 33 года), длительность бесплодия – от 1 года до 18 лет (медиана 5,5 года). Первичное бесплодие было диагностировано у 59,4%, вторичное – у 40,6% женщин. Сбор образцов ФЖ осуществляли при трансвагинальной пункции яичников. Для выделения

МВ ФЖ центрифугировали (800 g/10 мин), затем 1500 мкл образца переносили в пробирку, центрифугировали (13000 g/10 мин) (ультрацентрифуга Centrifuge 5810R, Eppendorf, Германия). Далее собирали 1400 мкл надосадочной жидкости и 100 мкл жидкости непосредственно над осадком и хранили для дальнейшего исследования при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Фенотипическую характеристику МВ проводили методом проточной цитометрии. После размораживания образцы ультрацентрифугировали (20800 g/ 30 мин при  $4^{\circ}\text{C}$ ). Осадок ресуспендировали в 100 мкл AnnV-связывающего буфера (BD Biosciences, США) и инкубировали в присутствии AnnV (APC, BD Biosciences), анти-CD206 (FITC), анти-CD14 (PE), анти-CD45 (PE), анти-CD107a (PerCP-Cy 5.5) моноклональных антител (BD Biosciences). Абсолютное количество МВ оценивали с использованием технологии TruCount (BD Biosciences) в соответствии с инструкцией производителя. Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Statistica 6.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ образцов ФЖ женщин раннего репродуктивного возраста ( $<35$  лет) и позднего ( $\geq 35$  лет) выявил статистически значимые различия в уровне популяций AnnV<sup>+</sup> МВ. В ФЖ женщин позднего репродуктивного возраста уровень AnnV<sup>+</sup> был в 1,7 (34,9/мкл vs 20,6/мкл,  $p=0,03$ ), а AnnV<sup>+</sup>CD107a<sup>+</sup> в 1,3 (15,6/мкл vs 11,7/мкл,  $p=0,04$ ) раза выше, чем у женщин  $<35$  лет. Между возрастом женщин и содержанием AnnV<sup>+</sup>CD107a<sup>+</sup> выявлялась прямая корреляционная связь –  $r(S)=0,34$ ,  $p=0,05$ . Полученные данные могут свидетельствовать о повышенном цитолитическом потенциале МВ у женщин в старшей возрастной группе.

В зависимости от длительности бесплодия, все пациентки были поделены на группы:  $<3$  лет (группа 1), 3–6 лет (группа 2) и  $>6$  лет (группа 3). У женщин из группы 3 по сравнению с группой 2 регистрировалось более высокое содержание AnnV<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> – в 2,2 раза (13,7 /мкл vs 6,3 /мкл;

$p=0,02$ ); AnnV<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup> – в 1,6 раза (3,9/мкл vs 8,6/мкл;  $p=0,03$ ), AnnV<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup> – в 2,2 раза (24,6/мкл vs 11,1 /мкл;  $p=0,02$ ). Увеличение доли AnnV<sup>+</sup> МВ, вероятно, обусловлено усилением апоптотических процессов на фоне длительного бесплодия, ассоциированного с хроническими воспалительными процессами и гормональными дисфункциями. В завершении был проведен ретроспективный анализ уровня МВ у женщин с различными исходами ЭКО – с клинической беременностью (группа 1); с биохимической беременностью (группа 2) и с отсутствием беременности (группа 3). Из полученных данных следует, что женщины из группы 1 характеризовались значимо более высоким содержанием в ФЖ AnnV<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup> и AnnV<sup>+</sup>CD107a<sup>+</sup> по сравнению с группой 3: (13,9 /мкл vs 9,1 /мкл,  $p=0,02$  и 19,6/мкл vs 8,8/мкл,  $p=0,04$ , соответственно).

## ВЫВОДЫ

Обнаружено повышение уровня AnnV<sup>+</sup> и AnnV<sup>+</sup>CD107a<sup>+</sup> у женщин старшей возрастной группы. В то же время большая длительность бесплодия ассоциировалась с более высоким уровнем AnnV<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>, AnnV<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup>, AnnV<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup> МВ. Наступление клинической беременности было ассоциировано с более высоким уровнем AnnV<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup> и AnnV<sup>+</sup>CD107a<sup>+</sup>.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Yuana Y., Sturk A., Nieuwland R. Extracellular vesicles in physiological and pathological conditions. *Blood Reviews*. 2013, 27, 31–39.
2. Lawson C., Vicencio J., Yellon D. M., Davidson S. M. Microvesicles and exosomes: new players in metabolic and cardiovascular disease. *J Endocrinol*. 2016, 228, 2, R57–71.
3. Machtinger R., Laurent L. C., Baccarelli A. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation. *Hum Reprod Update*. 2016; 22(2), 182–193.
4. Tannetta D., Dragovic R., Alyahyaei Z., Southcombe J. Cellular and Extracellular vesicles and reproduction—promotion of successful pregnancy. *Molecular Immunology*. 2014, 11, 548–563.

## MICROVESICLES IN FOLLICULAR FLUID WITH WOMEN IN IVF PROGRAM

© 2019 E. A. Andreeva<sup>1</sup>, N. A. Khonina<sup>1,2\*</sup>, N. M. Pisman<sup>2</sup>

\*E-mail: [nkhonina@mail.ru](mailto:nkhonina@mail.ru)

<sup>1</sup>Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 27.03.2019

Microvesicles has a significant potential as a new diagnostic and prognostic biomarker including reproductive pathologies. In this paper shown that an elevated level of microvesicles in women's follicular fluid is associated with the age, the duration of infertility and clinical pregnancy.

*Key words:* microvesicles, follicular fluid, infertility, IVF

### Authors:

**Andreeva E. A.**, postgraduate student of the laboratory cell immunotherapy Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Khonina N. A.**, ✉ MD., Leading Researcher of the laboratory cell immunotherapy Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. E-mail: [nkhonina@mail.ru](mailto:nkhonina@mail.ru);

**Pisman N. M.**, PhD, MD, Professor (Medicine), Head of Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia.

## СОДЕРЖАНИЕ МИЕЛОИДНЫХ СУПРЕССОРНЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ НА ФОНЕ МОБИЛИЗАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

© 2019 г. Т. А. Аристова\*, Е. В. Баторов, А. А. Останин

\*E-mail: ct\_lab@mail.ru

ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

Поступила: 29.03.2019. Принята: 12.04.2019

В работе исследовано относительное содержание различных субпопуляций миелоидных супрессоров (МС), включая ранние ( $\text{Lin}^- \text{CD33}^+ \text{HLA-DR}^- \text{CD66b}^-$ ), гранулоцитарные ( $\text{Lin}^- \text{CD33}^+ \text{HLA-DR}^- \text{CD66b}^+$ ) и моноцитарные ( $\text{CD14}^+ \text{HLA-DR}^{\text{low}/-}$ ) МС в популяции мононуклеарных клеток периферической крови у больных первичной множественной миеломой (ММ) на этапе мобилизации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Относительное содержание всех исследуемых субпопуляций МС у пациентов, характеризующихся как полным, так и частичным ответом, значительно не отличалось от таковых у здоровых доноров. Мобилизация ГСК не сопровождалась изменением содержания  $\text{CD14}^+ \text{HLA-DR}^{\text{low}/-}$  и  $\text{Lin}^- \text{CD33}^+ \text{HLA-DR}^- \text{CD66b}^-$ , однако приводила к значимому возрастанию  $\text{Lin}^- \text{CD33}^+ \text{HLA-DR}^- \text{CD66b}^+$ . Таким образом, проведение мобилизации ГСК у больных ММ может сопровождаться накоплением гранулоцитарных МС в продукте сепарации.

**Ключевые слова:** миелоидные супрессорные клетки, множественная миелома, мобилизация гемопоэтических стволовых клеток

DOI: 10.31857/S102872210006429-6

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская 14 ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клеточной иммунотерапии, Аристова Татьяна Андреевна. Тел./факс: +7(383) 228 57 49.

E-mail: ct\_lab@mail.ru

Авторы:

**Аристова Т. А.**, аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Баторов Е. В.**, к. м. н., научный сотрудник ФГБНУ «Институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Останин А. А.**, д. м. н., главный научный сотрудник ФГБНУ «Институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

### ВВЕДЕНИЕ

В течение последнего десятилетия активно изучаются свойства МС при онкогематологических заболеваниях, в том числе при множественной миеломе (ММ) [1–4]. Известно, что содержание МС в периферической крови повышается у пациентов в дебюте ММ и снижается при достижении ремиссии заболевания [1].

**Целью работы** являлось изучение влияния курса мобилизации циклофосфамидом и Г-КСФ

на уровень МС в периферической крови у пациентов с ММ на этапе мобилизации/сепарации ГСК для проведения аутологичной ТГСК.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 24 пациента первичной ММ с частичным или полным ответом после 1-й линии полихимиотерапии (ПХТ) и шесть здоровых доноров. Содержание  $\text{Lin}^- \text{CD33}^+ \text{HLA-DR}^- \text{CD66b}^-$ ,  $\text{Lin}^- \text{CD33}^+ \text{HLA-DR}^- \text{CD66b}^+$ ,  $\text{CD14}^+ \text{HLA-DR}^{\text{low}/-}$  МС оценивали методом проточной цитометрии, данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона. Относительное содержание всех субпопуляций представлено в виде процента от мононуклеарных клеток. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание МС у больных ММ, находившихся в частичном или полном ответе до проведения курса мобилизации, составило:  $\text{Lin}^- \text{CD33}^+$

HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>-</sup> 0,96% (0,79–1,23%); Lin<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>+</sup> – 0,05% (0,02–0,22%) и CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>low/-</sup> – 6,65% (1,24–12,34%) и значимо не отличалось от соответствующих показателей у здоровых доноров. После проведения курса мобилизации ГСК циклофосфамидом в дозе 2–4 г/м<sup>2</sup> и Г-КСФ (филграстим в дозе 10 мкг/кг) у пациентов с ММ доля Lin<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>-</sup> составляла 1,51% (0,84–2,17%), CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>low/-</sup> – 9,26% (3,29–13,98%), а Lin<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>+</sup> – 3,68% (0,56–5,71%).

При сравнении пациентов до и после проведения мобилизации относительное содержание ранних Lin<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>-</sup> и моноцитарных CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>low/-</sup> МС значимо не отличались у больных до и после мобилизации:  $p_U=0,054$  и  $p_U=0,51$ , соответственно. Относительное содержание гранулоцитарных Lin<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>+</sup> МС было значимо выше у больных после мобилизации,  $p_U=0,000024$ . Таким образом, выявлен значимый рост уровня гранулоцитарных МС клеток после проведения курса мобилизации ГСК, что может свидетельствовать о накоплении МС в продукте сепара-

ции и влиянии на иммунную реконституцию в посттрансплантационном периоде.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Betsch A., Rutgeerts O., Fevery S., Sprangers B., Verhoef G., Dierickx D., Beckers M. Myeloid-derived suppressor cells in lymphoma: The good, the bad and the ugly. // Blood Rev. 2018. pii: S0268–960X(17)30092–9.
2. Khalifa K.A., Badawy H.M., Radwan W.M., Shehata M.A., Bassuoni M.A. CD14(+) HLA-DR low/(-) monocytes as indicator of disease aggressiveness in B-cell non-Hodgkin lymphoma. Int J Lab Hematol. 2014,36(6), 650–5.
3. Marini O., Spina C., Mimiola E., Cassaro A., Malerba G., Todeschini G., Perbellini O., Scupoli M., Carli G., Facchinelli D., Cassatella M., Scapini P., Tecchio C. Identification of granulocytic myeloid-derived suppressor cells (G-MDSCs) in the peripheral blood of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma patients. Oncotarget. 2016, 7(19), 27676–88.
4. Romano A., Parrinello N. L., Vetro C., Forte S., Chiarenza A., Figuera A., Motta G., Palumbo G. A., Ippolito M., Consoli U., Di Raimondo F. Circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical outcome in Hodgkin Lymphoma patients treated up-front with a risk-adapted strategy. Br J Haematol. 2015,168(5), 689–700.

## MYELOID-DERIVED SUPPRESSOR CELLS IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTSDURING THE MOBILIZATION OF HEMATOPOETIC STEM CELLS

© 2019 Т. А. Aristova\*, E. V. Batorov, A. A. Ostanin

\*E-mail: ct\_lab@mail.ru

Federal Budget Institution of Science «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia

Received: 29.03.2019. Accepted: 12.04.2019

We investigated the relative content of circulating early (Lin<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>-</sup>), granulocyte (Lin<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>+</sup>) and monocyte (CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>low/-</sup>) myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in patients with primary multiple myeloma (MM) at the mobilization of hematopoietic stem cells (HSC). The relative count of all the studied subtypes of MDSCs in patients with both complete remission and partial response did not significantly differ from those in healthy donors. Mobilization of HSCs was not associated with any changes in the content of CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>low/-</sup> and Lin<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>-</sup>, however, led to a significant increase in Lin<sup>-</sup>CD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>CD66b<sup>+</sup>. Thus, carrying out the mobilization of HSCs in patients with MM maybe accompanied by the accumulation of granulocyte MDSCs in the autograft.

*Key words:* myeloid-derived suppressor cells, multiple myeloma, mobilization of hematopoietic stem cells

### Authors:

Aristova T. A., ☒ postgraduate student, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. E-mail: ct\_lab@mail.ru;  
Batorov E. V., PhD, Researcher, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;  
Ostanin A. A., MD, Chief Researcher, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.

## ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ И ПРОБЛЕМА КОИНФИЦИРОВАНИЯ ВИЧ/ВГС

© 2019 г. И. П. Балмасова<sup>1,2\*</sup>, Е. С. Малова<sup>2</sup>, Е. П. Ефратова<sup>3</sup>

\*E-mail: iri.balm@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Самара, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 28.03.2019

Закономерности коинфицирования, распространяющиеся и на коинфекцию ВИЧ/ВГС, делают целесообразной проверку гипотезы о влиянии порядка поступления вирусных возбудителей в организм больного на развитие инфекционного процесса. Было установлено, что этот фактор оказывает значительное влияние на течение фиброза в печени, вирусную нагрузку ВИЧ и ВГС, состояние иммунного ответа. В тех случаях, когда ВИЧ-инфекция развивается раньше инфицирования вирусом гепатита С, фиброз печени чаще принимает прогрессирующее течение, вирусная нагрузка ВИЧ снижается, а ВГС возрастает, ниже содержание CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и значения иммунорегуляторного индекса.

**Ключевые слова:** коинфекция ВИЧ/ВГС, порядок поступления патогенов, фиброз печени, вирусная нагрузка, Т-лимфоциты

DOI: 10.31857/S102872210006430-8

Адрес: 127473 Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава РФ, лаборатория патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний. Балмасова Ирина Петровна.

Тел./факс: +7 (910) 468 97 72, +7 (495) 365 98 55

E-mail: iri.balm@mail.ru

**Авторы:**

**Балмасова И. П.**, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава РФ, Москва, Россия; профессор кафедры аллергологии и иммунологии ФНМО Мединститута ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ, Москва, Россия;

**Малова Е. С.**, д.м.н., профессор кафедры аллергологии и иммунологии ФНМО Мединститута ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ, Москва, Россия;

**Ефратова Е. П.**, ординатор кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Самара, Россия.

К настоящему времени 33,3 миллиона человек земного шара поражены вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Около 15–30% из

них инфицированы еще и вирусом гепатита С (ВГС), в результате примерно 5–7 миллионов человек на планете хронически коинфицированы ВИЧ и ВГС [1].

Исследование коинфекции ВИЧ/ВГС показало, что возбудители в значительной мере влияют друг на друга, усугубляя течение инфекционного процесса. Введение в клиническую практику 20 лет назад высокоактивной антиретровирусной терапии значительно повлияло на продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных пациентов и вывело на первый план роль хронического гепатита С как наиболее частого коморбидного состояния и одну из главных причин прогрессирования заболевания в его наиболее тяжелую форму. При этом коинфекция ВИЧ/ВГС имеет не только более тяжелое течение, но и в значительной степени определяет летальность среди пациентов за счет быстрого прогрессирования поражения печени [2].

Анализ литературы показал, что существует, по крайней мере, еще один важный фактор, способный повлиять на риск прогрессирования

коинфекционного процесса. Было установлено, что при коинфицировании первичная инфекция в значительной мере нарушает иммунный ответ на вторичную, особенно у молодых субъектов [3], то есть при коинфекциях в качестве фактора риска целесообразно рассматривать порядок инфицирования патогенами.

В связи с этим целью данного исследования служило определение влияния порядка инфицирования ВИЧ и ВГС на вирусную нагрузку, течение фиброзного процесса, иммунологические признаки коинфекции ВИЧ/ВГС.

В течение 1 года под наблюдением находились 459 больных с верифицированным диагнозом коинфекции ВИЧ/ВГС. Среди пациентов преобладали мужчины в возрастной группе моложе 36 лет. У 72–78% больных были диагностированы стадии 3-4А ВИЧ-инфекции, остальные пациенты находились на стадиях 4Б-4В. Около 67% больных были поражены генотипом 1b ВГС, 1% – генотипом 2a, остальные – генотипом 3a.

Всем пациентам проводилась транзитная эластометрия печени, результаты которой выражались в кПа, а стадии фиброзного процесса оценивались в соответствии со шкалой METAVIR. По исходным данным у 40% больных фиброзных изменений в печени не наблюдалось (стадия F0), у 20% больных был отмечен дебют фиброзного процесса (стадия F1), 16% пациентов находились на стадии значимого фиброза печени (стадия F2), 8% – на стадии выраженного фиброза (стадия F3), у 16% больных развился цирроз печени (стадия F4).

Для оценки характера течения фиброза печени у больных, коинфицированных ВИЧ и ВГС, транзитная эластометрия выполнялась как в начале наблюдения, так и по его окончании через 1 год. Заболевание считалось прогрессирующим, если, в соответствии с рекомендациями Roynard et al. [4], показатели эластометрии печени возрастали через год более чем на 10% с переходом больного на следующую стадию фиброза печени.

Всем больным, помимо лабораторных исследований, подтверждающих диагноз коинфекции ВИЧ/ВГС (серологические исследования методом иммуноферментного анализа, иммуноблоттинг, ПЦР-диагностика), на протяжении всего срока наблюдения проводилось определение вирусной нагрузки ВИЧ и ВГС в крови методом ПЦР в реальном времени, а также иммунологические исследования методом проточной цитофлуориметрии. Контролем при про-

ведении лабораторных исследований служили данные 27 здоровых людей.

Статистический анализ полученных результатов осуществлялся на основе пакета статистических программ SPSS, версия 21.

Среди 459 наблюдаемых больных коинфекцией ВИЧ/ВГС у 136 человек был установлен порядок инфицирования названными вирусными возбудителями, из которых у 55 пациентов первым поступившим в организм патогеном был вирус иммунодефицита человека, а у 81 больного инфицирование ВИЧ происходило уже при имеющемся хроническом гепатите С, то есть первым патогеном был ВГС.

Оказалось, что порядок инфицирования больных ВИЧ или ВГС в значительной мере влияет на развитие прогрессирующего фиброза печени. В тех случаях, когда в качестве первого патогена выступал ВИЧ, показатели эластометрии при прогрессирующем течении фиброза печени как в начале исследования, так и через 1 год наблюдения были на 18–22% выше, чем в ситуациях, когда первым патогеном служил ВГС ( $p < 0,05$ ). При этом сама частота регистрации прогрессирующего течения фиброза печени возрастала в 2 раза (с 13% до 26%), если ВИЧ-инфекция развивалась раньше, чем хронический гепатит С.

Полученные данные показывают, что с прогностической точки зрения порядок инфицирования вирусными возбудителями является одним из важнейших факторов риска прогрессирования фиброза печени у больных, коинфицированных ВИЧ/ВГС.

Исследование вирусной нагрузки ВИЧ и ВГС также показало зависимость этих показателей от порядка поступления патогенов. Если первым патогеном был ВИЧ, его вирусная нагрузка была в 1,6 раз ниже, чем когда первым в организме оказывался ВГС. Для вируса гепатита С – наоборот. Его нагрузка была в 2,9 раз выше в ситуации, когда первой развивалась ВИЧ-инфекция. Диагностическое значение этих показателей, определяемое при построении ROC-кривых и выраженное в единицах AUROC, составляло, соответственно, 0,746 и 0,924, то есть было довольно высоким.

Что касается числа CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, то оно практически не зависело от порядка поступления ВИЧ и ВГС в организм больного, а AUROC этого теста была относительно низкой и составляла 0,492. В то же время число цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>) примерно в полтора раза было ниже, если первым патогеном был ВИЧ,

при диагностической значимости этого теста в единицах AUROC=0,743. Наиболее информативным среди иммунологических показателей оказался иммунорегуляторный индекс – его значения в случае более раннего развития ВИЧ-инфекции были в 1,8 раз ниже, а AUROC возросла до 0,833.

Эти данные находят подтверждение и в литературе, поскольку на примере различных вирусных коинфекций было показано ключевое значение CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в более выраженном иммунном ответе на вирусный агент, поступающий в организм первым, в ущерб иммунным реакциям, развивающимся при суперинфекции вторым патогеном [5].

По результатам проведенных исследований можно утверждать, что при коинфицировании ВИЧ/ВГС большое прогностическое значение имеет порядок поступления вирусных возбудителей в организм человека. Поскольку известно, что основной причиной летального исхода у таких больных служит декомпенсированный цирроз печени, то особое значение приобретает тот факт, что более раннее развитие ВИЧ-инфекции приводит к более частому прогрессированию фи-

броза печени на фоне более высокой вирусной нагрузки ВГС и ослабления иммунного ответа со стороны цитотоксических Т-лимфоцитов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Bonora S., Puoti M. Use of daclatasvir in HCV/HIV-coinfected patients in a real-life setting. *AIDS Rev.* 2017, 19(1), 24–34.
2. Павлов Д. В., Шатрова Д. Х., Галиуллин Н. И., Нагимова Ф. И. Особенности коинфицирования ВИЧ-позитивных пациентов вирусом гепатита С. *Казанский медицинский журнал.* 2014, 95(6), 905–908. [Pavlov D. V., Shatrova D. H., Galiullin N. I., Nagimova F. I. The features of co-infection of HIV-positive patients with hepatitis B virus. *Kazan Medical Journal.* 2014, 95(6), 905–908].
3. Sharma S., Thomas P. G. The two faces of heterologous immunity: protection or immunopathology. *J Leukoc Biol.* 2014, 95(3), 405–416.
4. Poynard T., Ratziu V., Benhamou Y., Thabut D., Mousallli J. Biomarkers as a first-line estimate of injury in chronic liver diseases: time for a moratorium on liver biopsy? *Gastroenterology.* 2005, 128 (4), 1146–1148.
5. Kumar N., Sharma S., Barua S., Tripathi B. N., Rouse B. T. Virological and Immunological Outcomes of Coinfections. *Clin Microbiol Rev.* 2018, 31(4), e00111–17.

## HIV INFECTION AND HIV/HCV CO-INFECTION PROBLEM

© 2019 I. P. Balmasova<sup>1,2\*</sup>, E. S. Malova<sup>2</sup>, E. P. Efratova<sup>3</sup>

\*E-mail: iri.balm@mail.ru

<sup>1</sup>A. I. Evdokimov Moscow University of Medicine & Dentistry, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Samara State Medical University, Samara, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 28.03.2019

The patterns of coinfection, which extend to coinfection of HIV/HCV, make it expedient to test the hypothesis about the impact of the order of viral pathogens admission into host for the development of the infectious process. It was found that this factor has a significant impact on the course of liver fibrosis, the viral load of HIV and HCV, the state of the immune response. In cases where HIV infection develops before hepatitis C virus infection, liver fibrosis often takes a progressive course, the viral load of HIV is reduced, and HCV load increases, CD8<sup>+</sup> T-lymphocytes and immunoregulatory index values become lower.

*Key words:* HIV/HCV coinfection, order of pathogens admission, liver fibrosis, viral load, T-lymphocytes

### Authors:

**Balmasova I. P.**, MD, professor, Head of the Laboratory of the Pathogenesis and Treatment of Infectious Diseases of A. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia; Professor of Allergology and Immunology Department of Medical Institute of Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia. **E-mail:** iri.balm@mail.ru;

**Malova E. S.**, MD, Professor of Allergology and Immunology Department of Medical Institute of Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

**Efratova E. P.**, ordinator of Infectious Diseases Department Samara State Medical University, Samara, Russia.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2019 г. А. А. Барило\*, С. В. Смирнова

\*E-mail: anntomsk@yandex.ru

НИИ медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ  
Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского  
отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

Псориаз является одним из наиболее распространённых заболеваний кожи и занимает одно из ведущих мест среди медико-социальных проблем современной дерматологии. Приведены результаты исследования сравнительного анализа количественных характеристик Т- и В-лимфоцитов, фагоцитирующих клеток в периферической крови, концентрации иммуноглобулинов (А, М, G), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК-С1q, ЦИК-С3d) и определены особенности изменений иммунологических показателей в зависимости от степени тяжести псориаза.

**Ключевые слова:** псориаз; иммунопатогенез; циркулирующие иммунные комплексы

DOI: 10.31857/S102872210006431-9

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г, НИИ медицинских проблем Севера – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», лаборатория клинической патофизиологии, Смирнова Ольга Валентиновна.

тел.: 89135584020 (моб)

E-mail: anntomsk@yandex.ru

Авторы:

Барило А. А., к. м. н., н. с. лаборатории клинической патофизиологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера – обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия;

Смирнова С. В., д. м. н., профессор, руководитель научного направления Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера – обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Псориаз (ПС) является одним из наиболее распространённых заболеваний кожи [1, 2]. Актуальность изучения ПС обусловлена значительным ростом заболеваемости, в том числе и среди лиц молодого, трудоспособного возраста, увеличением числа случаев развития тяжёлых форм дерматоза, резистентных к проводимой терапии, а также снижением качества жизни больных [3]. Иммунопатогенез ПС является сложным многокомпонентным процессом взаимодействия

клеточных и гуморальных звеньев иммунной системы, провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, дисбаланс в концентрации которых приводит к гиперпролиферации и нарушению дифференцировки кератиноцитов [4, 5]. Иммунопатологические механизмы, приводящие к развитию и течению псориазического процесса, окончательно не выяснены, что указывает на необходимость проведения сравнительного анализа иммунологических показателей при псориазе в зависимости от степени тяжести заболевания с целью выявления маркеров прогрессирования патологии.

**Цель исследования:** проведение сравнительного анализа количественных характеристик Т- и В-лимфоцитов, фагоцитирующих клеток в периферической крови, концентрации иммуноглобулинов (А, М, G), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК-С1q, ЦИК-С3d) в зависимости от степени тяжести псориаза.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом изучения были 67 больных вульгарным ПС в возрасте от 18 до 66 лет (средний возраст –  $34 \pm 1,5$  года). Среди обследованных больных ПС: 37 мужчин (55,2%) и 30 (44,8%)

женщин. В зависимости от значения индекса PASI (Psoriasis area and severity index) выделены группы больных: легкая степень тяжести ПС – до 9,9 баллов включительно (n=19, группа 1), от 10,0–30,0 баллов – среднетяжелая степень тяжести ПС (n=48, группа 2). Контрольную группу составили практически здоровые люди (3 группа), сопоставимые по полу и возрасту с больными. Показатели клеточного звена иммунитета изучались методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 (ОО «Сорбент», г. Москва, Россия). Концентрацию иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для статистического анализа применяли пакет прикладных программ Statistica 6,0. Данные представлены в виде медианы, 25 и 75 квартилей (Me, Q25–Q75). Различия считались статистически достоверным при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении функциональной активности фагоцитов в группах больных ПС независимо от степени тяжести заболевания выявлено статистически значимо повышенное количество фагоцитирующих нейтрофилов наряду со сниженным фагоцитарным числом в сравнении с контролем. Однако в группе больных ПС легкой степени тяжести заболевания количество фагоцитирующих нейтрофилов статистически значимо выше, а фагоцитарное число статистически значимо ниже в сравнении с группой больных ПС среднетяжелой степени тяжести: 58,0% (38,0; 67,0) относительно 43,0% (32,0; 65,0),  $p_{1,2} = 0,003$  и 4,0 (3,8; 4,7) относительно 4,7 (4,1; 5,5),  $p_{1,2} = 0,03$  соответственно. Определено, что в группах больных ПС независимо от степени тяжести заболевания относительное и абсолютное количество CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов в периферической крови статистически значимо выше в сравнении с контролем. Установлено, что относительное и абсолютное количество CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов в периферической крови статистически значимо выше в общей группе больных ПС и группе больных ПС среднетяжелой степени в сравнении с контрольной группой. В группах больных ПС независимо от степени тяжести заболевания отмечена статистически значимо низкая концентрация IgA, IgM, IgG, ЦИК-С1q в сыворотке крови в сравнении с контролем.

В группе больных ПС среднетяжелой степени тяжести концентрация ЦИК-С3d в сыворотке крови статистически значимо выше в сравнении с группой больных ПС легкой степени тяжести: 21,4 мг IgG/мл (16,3; 29,5) и 17,9 мг IgG/мл (12,9; 19,9),  $p_{1,2} = 0,02$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных исследований установлены характерные изменения иммунологических показателей для псориаза по отношению к контролю: повышенное количество в периферической крови CD8<sup>+</sup>- и CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов, фагоцитирующих нейтрофилов, сниженное фагоцитарное число, сниженная концентрация IgA, IgM, IgG, ЦИК-С1q в сыворотке крови. Особенности изменений иммунологических показателей в процессе прогрессирования патологии при псориазе среднетяжелой степени тяжести относительно легкой являются сниженное количество фагоцитирующих нейтрофилов в периферической крови, повышенное фагоцитарное число и концентрация ЦИК-С3d в сыворотке крови.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Смирнова С. В., Смольникова М. В., Барило А. А. Клинико-anamnestические критерии прогрессирования псориаза. Клиническая дерматология и венерология. 2016; 15 (2):9–15. [Smirnova S. V., Smolnikova M. V., Barilo A. A. Clinical and anamnestic criteria of the progression of psoriasis. Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology. 2016; 15 (2):9–15].
2. Mahil S. K., Capon F., Barker J. N. Update on psoriasis immunopathogenesis and targeted immunotherapy. Seminars in immunopathology. 2016; 38(1):11–27.
3. Смирнова С. В., Барило А. А., Смольникова М. В. Прогностическое значение клинических и анамнестических маркеров псориазического артрита. Клиническая дерматология и венерология. 2016; 15 (1):23–27. [Smirnova S. V., Barilo A. A., Smolnikova M. V. The prognostic value of clinical and anamnestic markers of psoriatic arthritis. Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology. 2016; 15 (1): 23–27.].
4. Барило А. А., Смирнова С. В., Смольникова М. В. Иммунологические показатели больных псориазом в различные возрастные периоды. Российский иммунологический журнал. 2017; 11 (20), 4: 680–681. [Barilo A. A., Smirnova S. V., Smolnikova M. V. Immunological indicators of patients with psoriasis in different age groups. Russian Journal of Immunology, 2017; 11 (20), 4:680–681].
5. Смирнова С. В., Смольникова М. В., Барило А. А. Концентрации IL-4, IL-6, IL-10, TNF $\alpha$  в сыворот-

ке крови больных псориазом и псориатическим артритом. Цитокины и воспаление. 2015; 16 (3): 31–32. [Smirnova S. V., Smolnikova M. V., Barilo A. A.

The concentration of IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  in the serum of psoriasis and psoriatic arthritis patients. Cytokines and inflammation. 2015; 16 (3):31–32]

## IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PSORIASIS DEPENDING ON THE DISEASE SEVERITY

© 2019 A. A. Barilo\*, S. V. Smirnova

\*E-mail: [anntomsk@yandex.ru](mailto:anntomsk@yandex.ru)

*Scientific Research Institute of Medical Problems of the North – a separate division of the Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia*

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 01.04.2019

Psoriasis is one of the most common skin diseases and occupies one of the leading places among the medical and social problems of modern dermatology. The results of a comparative analysis of the quantitative characteristics of T- and B-lymphocytes, phagocytic cells in peripheral blood, the concentration of immunoglobulins (A, M, G), circulating immune complexes (CIC-C1q, CIC-C3d) and features of changes in immunological parameters depending on the severity of psoriasis were determined. The features of changes in immunological parameters in psoriasis, depending on the severity.

*Key words:* psoriasis; immunopathogenesis; circulating immune complexes

### Authors:

**Barilo A. A.**, PhD, ✉ Researcher of the Clinical Pathophysiology Laboratory of the Research Institute of Medical Problems of the North – a separate division of the FIC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia. **E-mail:** [anntomsk@yandex.ru](mailto:anntomsk@yandex.ru);

**Smirnova S. V.**, PhD, Professor, Head of the Scientific Direction of the Research Institute of Medical Problems of the North – a separate division of the FIC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ СПЕКТРА ПИЩЕВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ ПРИ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ

© 2019 г. А. А. Барило\*, И. В. Борисова, С. В. Смирнова

\*E-mail: anntomsk@yandex.ru

НИИ медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

Бронхиальная астма является одним из наиболее распространенных хронических заболеваний бронхо-легочной системы, поражающих все возрастные группы, и представляет собой глобальную проблему здравоохранения. Распространенность пищевой аллергии среди больных бронхиальной астмой варьируется в широких пределах, что обуславливает актуальность проводимого исследования. Приведены результаты изучения спектра сенсibilизации к пищевым аллергенам и определены особенности пищевой аллергии у детей больных бронхиальной астмой, проживающих на территории Красноярского края.

**Ключевые слова:** пищевая аллергия; бронхиальная астма; аллергический ринит; аллергены

DOI: 10.31857/S102872210006432-0

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3г, научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера — обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», лаборатория клинической патофизиологии.

Смирнова Ольга Валентиновна, тел.: 89135584020 (моб)

E-mail: anntomsk@yandex.ru

**Авторы:**

**Барило А. А.**, к.м.н., н.с. лаборатории клинической патофизиологии Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия;

**Борисова И. В.**, к.м.н., врач аллерголог-иммунолог, Красноярск, Россия;

**Смирнова С. В.**, д.м.н., профессор, руководитель научного направления Научно-исследовательского института медицинских проблем Севера — обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма является одним из наиболее распространенных хронических заболеваний бронхо-легочной системы всех возрастных групп и представляет собой глобальную проблему здравоохранения [1]. В последние годы отмечается прогрессирующий рост распространенности бронхиальной астмы [2]. Проявления

пищевой аллергии могут наблюдаться со стороны верхних и нижних дыхательных путей, а также других органов и систем [3, 4]. Поэтому важно учитывать ассоциации бронхиальной астмы с другими аллергическими заболеваниями, такими как аллергический ринит, конъюнктивит [5]. Распространенность пищевой аллергии среди больных бронхиальной астмой варьирует в широких пределах (от 6 до 80%) [3], что обуславливает актуальность проводимого исследования.

**Целью** настоящего исследования стал анализ особенностей спектра сенсibilизации к пищевым аллергенам у детей больных бронхиальной астмой, проживающих на территории Красноярского края.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены дети, больные бронхиальной астмой (n=60), в возрасте от 1 года до 18 лет (средний возраст —  $7,5 \pm 0,6$  лет) с интермиттирующей и легкой персистирующей формами заболевания. Средняя продолжительность бронхиальной астмы у детей составила  $3,0 \pm 0,5$  лет. Среди обследованных больных бронхиальной астмой преобладали мальчики 63,3% (38).

Проведено специфическое аллергологическое обследование (аллергологический анамнез, определение концентрации общего IgE, специфических IgE к пищевым аллергенам). Уровень общего иммуноглобулина E (IgE, МЕ/мл) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Спектр сенсибилизации к пищевым аллергенам в группах обследуемых проводился с учетом изучения уровня специфических IgE к шести пищевым аллергенам аллергопанели Allergopharma (Германия), включающей аллергены коровьего молока ( $\alpha$ -лактоглобулин,  $\beta$ -лактоглобулин, казеин, бычий сывороточный альбумин), яйца (овальбумин), злаков (глиадин). Критерием сенсибилизации считали повышение уровня специфического IgE выше порогового согласно инструкции производителя: более 0,35 кЕдА/л для овальбумина и глиадина, более 0,38 кЕдА/л для  $\alpha$ -лактоглобулина и  $\beta$ -лактоглобулина, более 0,39 кЕдА/л для бычьего сывороточного альбумина и более 0,40 МЕ/мл для казеина. Для статистического анализа применяли пакет прикладных программ Statistica 6,0. Статистическую обработку данных проводили методами вариационного анализа с использованием t-критерия для качественных признаков. Различия считались статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что у 63,3% (38) детей бронхиальная астма сочеталась с проявлениями круглогодичного аллергического ринита. У больных бронхиальной астмой в 25,6% (16) случаев отмечены проявления сезонного аллергического ринита и в 8,3% (6) — сезонного аллергического риноконъюнктивита.

При оценке концентрации общего IgE в сыворотке крови было обнаружено повышение его концентрации у 58,3% (35) больных бронхиальной астмой. Среднее значение общего IgE в сыворотке крови в составила 109,0 (39,5; 315,5) МЕ/мл.

В проведенном нами исследовании повышенный уровень специфических IgE выявлен у 88,3% (53) больных. При изучении спектра пищевой сенсибилизации определено, что наиболее значимым аллергеном являлось цельное яйцо (овальбумин), сенсибилизация к которому отмечена у 90,6% (48) детей. Так же высокая степень сенсибилизации у детей больных бронхиальной астмой отмечалась к белкам коровьего молока: казеину в 71,7% (38) случаев, бычьему сывороточ-

ному альбумину — 66,0% (35),  $\beta$ -лактоглобулину — 64,2% (34),  $\alpha$ -лактоглобулину — 58,5% (31). Сенсибилизация к глиадину определена у 66,3% (33) больных.

Частота поливалентной сенсибилизации к белкам коровьего молока, яиц, злакам выявлена у 33,9% (18) больных бронхиальной астмой, в то время как моновалентная сенсибилизация отмечена лишь в 11,3% (6) случаев к овальбумину (83,3% (5) случаев) и белкам коровьего молока (16,7% (1) случаев).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что бронхиальная астма у детей, проживающих на территории Красноярского края, характеризуется поливалентной сенсибилизацией к основным пищевым продуктам, где наиболее значимым аллергеном является овальбумин. В меньшей степени при бронхиальной астме определяется сенсибилизация к белкам коровьего молока и глиадину.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Sherenian M. G., Singh A. M., Arguelles L., Balmert L., Caruso D., Wang X., Pongracic J., Kumar R.* Association of food allergy and decreased lung function in children and young adults with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2018; 121:588–93.
2. *Sampson H. A., Aceves S., Bock S. A., James J., Jones S., Lang D., Nadeau K., Nowak-Wegrzyn A., Oppenheimer J., Perry T. T., Randolph C., Sicherer S. H., Simon R. A., Vickery B. P., Wood R., Bernstein D., Blessing-Moore J., Khan D., Lang D., Nicklas R., Oppenheimer J., Portnoy J., Randolph C., Schuller D., Spector S., Tilles S. A., Wallace D., Sampson H. A., Aceves S., Bock S. A., James J., Jones S., Lang D., Nadeau K., Nowak-Wegrzyn A., Oppenheimer J., Perry T. T., Randolph C., Sicherer S. H., Simon R. A., Vickery B. P., Wood R.* Food allergy: a practice parameter update-2014. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 134:1016–25.
3. *Борисова И. В., Смирнова С. В.* Пищевая аллергия у детей. — Красноярск, 2011, 150 с. [*Borisova I. V., Smirnova S. V.* Food allergy in children. — Krasnoyarsk, 2011, 150 p. (In Russ.)]
4. *Borisova I. V., Smirnova S. V.* The peculiarities of food allergies in accordance with the level of injury of respiratory tract in children of Eastern Siberia. *International Journal of Circumpolar Health.* 2013; 72 (1):301–304.
5. *Барило А. А., Борисова И. В., Смирнова С. В.* Дермато-респираторный синдром как проявление пищевой аллергии у детей. *Российский аллергологический журнал.* 2019; 16 (1–2): [*Barilo A. A., Borisova I. V., Smirnova S. V.* The dermatorespiratory syndrome as a manifestation of food allergy in children. *Russian Allergy Journal.* 2019; 16 (1–2): 32–32. (In Russ.)]

## FEATURES OF THE SPECTRUM OF FOOD SENSITIZATION WITH ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN

© 2019 А. А. Барило\*, I. V. Borisova, S. V. Smirnova

\*E-mail: [anntomsk@yandex.ru](mailto:anntomsk@yandex.ru)

*Scientific Research Institute of Medical Problems of the North – a separate division  
of the Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch  
of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia*

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 28.03.2019

Bronchial asthma is one of the most common chronic diseases of broncho-pulmonary system affecting all age groups, and is a global public health problem. The prevalence of food allergies among patients with asthma varies widely, which determines the relevance of the study. The results of studying the spectrum of sensitization to food allergens are given, and the peculiarities of food allergy in children with bronchial asthma living in the Krasnoyarsk Territory are determined.

*Key words:* food allergy; bronchial asthma; allergic rhinitis; allergens

### Authors:

**Barilo A. A.**, ✉ PhD, Researcher of the Clinical Pathophysiology Laboratory of the Research Institute of Medical Problems of the North – a separate division of the FIC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia. **E-mail:** [anntomsk@yandex.ru](mailto:anntomsk@yandex.ru);

**Borisova I. V.**, PhD, doctor allergologist-immunologist, Krasnoyarsk, Russia;

**Smirnova S. V.**, PhD, Professor, Head of the Scientific Direction of the Research Institute of Medical Problems of the North – a separate division of the FIC KSC SB RAS, Krasnoyarsk, Russia.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИ АЛЛЕРГИИ НА КОШКУ У ДЕТЕЙ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ

© 2019 г. Е. А. Басс<sup>1,2</sup>

\*E-mail: bass.ea@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБУН Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения  
Российской академии наук, Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>Государственное автономное учреждение здравоохранения Свердловской области  
Областная детская клиническая больница, консультативно-диагностическая  
поликлиника, Екатеринбург, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Гиперчувствительность к аллергенам кошек является серьезной клинической проблемой во многих странах мира из-за высокой распространенности этих животных. Цель настоящего исследования — оценка спектра сенсибилизации к молекулярным компонентам аллергенов кошки и его роли в течении аллергического ринита у детей. IgE-Антитела к rFeld 1 были выявлены у 91,8% детей, к nFeld 2 — у 16,4%, к rFeld 4 — у 43,8% пациентов. При этом — 56,2% детей с моносенсибилизацией к rFeld 1; 27,4% с выявленными IgE-aT к rFeld 1 и rFeld 4; 8,2% — с IgE-aT к rFeld 1 + nFeld 2 + rFeld 4; и 8,2% — с IgE-aT к nFeld 2 + rFeld 4. Сенсибилизация только к минорным аллергенам не приводила к развитию БА, но обострения АР у этих пациентов возникали чаще. Для оценки прогноза течения заболевания и возможных реакций на перекрестные аллергены мы рекомендуем проведение молекулярной компонентной диагностики.

**Ключевые слова:** аллергия, кошка, молекулярная диагностика, Feld 1

DOI: 10.31857/S102872210006433-1

**Адрес:** 620149, г. Екатеринбург ул. Серафимы Дерябиной,  
д. 32, Областная детская клиническая больница, консульта-  
тивно-диагностическая поликлиника.

Тел./факс: 8 922 293 14 17 (моб.).

**E-mail:** bass.ea@yandex.ru

**Автор:**

**Басс Е. А.**, врач аллерголог-иммунолог, консультативно-  
диагностическая поликлиника ГАУЗ СО ОДКБ, Екатеринбу-  
рг, Россия

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Гиперчувствительность к аллергенам кошек является серьезной клинической проблемой во многих странах мира из-за высокой распространенности этих животных. Частота аллергических заболеваний, связанных с сенсибилизацией к аллергенам кошки, в течение последних десятилетий неуклонно растёт. Это повышает актуальность компонентной молекулярной диагностики для оценки прогноза развития заболевания и возможных реакций на аллергены других животных [1, 2].

**Целью** настоящего исследования явилась оценка спектра сенсибилизации к молекулярным компонентам аллергенов кошки и его роли в течении аллергического ринита у детей.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 73 ребенка в возрасте от 3 до 15 лет (средний возраст  $8,84 \pm 1,93$  лет) с подтвержденным диагнозом аллергический ринит (АР) и наличием sIgE-антител (IgE-aT). В гендерном составе преобладали мальчики (60,3%; 44/73). У всех пациентов была проведена оценка уровня эозинофилии в периферической крови и назальном секрете, уровня общего IgE и эозинофильного катионного белка (ЕСР). Выявление IgE-aT к аллергенным экстрактам кошки и собаки и к основным клинически значимым молекулярным компонентам аллергенов кошки (rFeld 1, nFeld 2, rFeld 4) было проведено на приборе ImmunoCap® (Thermo Fisher Scientific, Sweden) с соответствую-

ющими аллергенными экстрактами, иммобилизованными на твердой фазе. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ IBM® SPSS Statistics® 20.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

IgE-аТ к мажорному аллергену rFeld 1 были выявлены у 91,8% (n=67) детей, к сывороточно-му альбумину nFeld 2 – у 16,4% (n=12), к липокалину rFeld 4 – у 43,8% (n=32) пациентов. На основании выявленного спектра сенсibilизации были выделены 4 группы пациентов: Группа 1 – 41 ребенок (56,2%) с моносенсibilизацией к rFeld 1; Группа 2 – 20 детей (27,4%) с выявленными IgE-аТ к rFeld 1 и rFeld 4; Группа 3 – 6 детей (8,2%) с IgE-аТ ко всем основным клинически значимым аллергенам кошек (rFeld 1 + nFeld 2 + rFeld 4); Группа 4 – 6 детей (8,2%) с выявленной сенсibilизацией только к минорным аллергенам кошки (nFeld 2 + rFeld 4). Значимых различий в возрастном и гендерном составех всех 4-х групп выявлено не было.

При оценке нозологической структуры обращало на себя внимание изолированное течение АР у всех (100%) детей 4 группы и наличие сочетанной патологии в форме БА у 66,7% (n=4) детей 3 группы (p=0,05). Среднетяжелое течение АР и, соответственно, более высокий уровень баллов по шкале SFAR (Score for allergic rhinitis, Оценка аллергического ринита) был выявлен у детей 4 группы (p=0,02). Достоверных различий в тяжести течения БА и атопического дерматита между группами детей не выявлено.

Уровень абсолютной и относительной эозинофилии в общем анализе крови и риноцитограмме, а также значение ЕСР и специфических IgE-аТ к аллергену «эпителий и перхоть кошки» в сыворотке крови у пациентов всех групп существенно не различались (p>0,05). Содержание общего IgE в сыворотке крови пациен-

тов 3 группы было достоверно более высоким (p=0,04).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами результаты спектра сенсibilизации к молекулярным компонентам аллергенов кошки соответствуют литературным данным [1, 2]. Сенсibilизация только к минорным аллергенам кошки (nFeld 2, rFeld 4) не приводила к формированию БА, но обострения АР у этих пациентов возникали чаще. Мы предполагаем, что более высокая частота развития БА у детей с сенсibilизацией к мажорному аллергену кошек rFeld 1 связана с малыми размерами молекулы. А более тяжелое течение АР обусловлено перекрестными реакциями с липокалинами других животных [3].

В ходе проведенного исследования не было выявлено взаимосвязи между лабораторными показателями, используемыми в рутинной практике врача-аллерголога, и спектром сенсibilизации к молекулярным компонентам аллергенов кошки. Таким образом, для оценки прогноза течения аллергической патологии и возможных реакций на аллергены других животных у пациентов с сенсibilизацией к аллергенам кошки мы рекомендуем проведение молекулярной компонентной диагностики.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Dolgova A. S., Sudina A. E., Cherkashina A. S., Stukolova O. A.* Component-resolved microarray analysis of IgE sensitization profiles to Feliscatus major allergen molecules in Russian cat-allergic patients. *Scand J Clin Lab Invest.* 2018 Feb–Apr;78(1–2):81–86.
2. *Ukleja-Sokołowska N., Gawrońska-Ukleja E., Żbikowska-Gotz M., Socha E., Lis K., Sokołowski L., Kuźmiński A., and Bartuzi Z.* Analysis of feline and canine allergen components in patients sensitized to pets. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2016; 12: 61.
3. *Uriarte S. A., Sastre J.* Clinical relevance of molecular diagnosis in pet allergy. *Allergy.* 2016 Jul;71(7):1066–8.

## MOLECULAR COMPONENT-RESOLVED DIAGNOSTICS FOR CAT ALLERGY IN CHILDREN WITH ALLERGIC RHINITIS

© 2019 E. A. Bass<sup>1,2</sup>

\*E-mail: bass.ea@yandex.ru

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Institution of Science Institute of Immunology and Physiology  
of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia;

<sup>2</sup>State Autonomous Healthcare Institution of Sverdlovsk Region Regional Children's Clinical Hospital,  
consultative and diagnostic clinic, Yekaterinburg, Russia

**Received:** 14.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

Hypersensitivity to cat allergens is a serious clinical problem in many countries because of the high prevalence of these animals. The aim of this study is to assess the spectrum of sensitization to the cat allergen's molecular components and its role in allergic rhinitis in children. IgE-aB to rFel d 1 were detected in 91.8% of children, to nFel d 2 – in 16.4%, to rFel d 4 – in 43.8% of patients. At the same time – 56.2% of children were monosensitized to rFel d 1; 27.4% with identified IgE-aB to rFel d 1 and rFel d 4; 8.2% – from IgE-aB to rFel d 1 + nFel d 2 + rFel d 4; and 8.2% – with IgE-aB to nFel d 2 + rFel d 4. Sensitization only to minor allergens did not lead to the development of asthma, but exacerbations of AR in these patients occurred more frequently. To assess the prognosis of the disease and possible reactions to cross-allergens, we recommend component-resolved diagnostics.

*Key words:* allergy, cat, molecular diagnostics, Fel d 1

**Author:**

**Bass E. A.**, Allergist-immunologist, Consultative and Diagnostic Clinic, Regional Children Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russia.

## СПОСОБНОСТЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ИНАКТИВИРОВАТЬ ЛИЗОЦИМ ПОД ВЛИЯНИЕМ СУПЕРНАТАНТОВ АССОЦИАЦИЙ БИФИДОБАКТЕРИЙ

© 2019 г. А. В. Бекпергенова<sup>1\*</sup>, Н. Б. Перунова<sup>1</sup>, С. В. Андриющенко<sup>1</sup>,  
И. А. Здвижкова<sup>1</sup>, А. Р. Миронова<sup>2</sup>

\*E-mail: nsavasteeva@gmail.com

<sup>1</sup>ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН,  
Оренбург, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ Оренбургская областная клиническая инфекционная больница, Оренбург, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 12.03.2019

Представлены материалы по изучению влияния супернатантов ассоциаций бифидобактерий на антилизоцимную активность микроорганизмов. Выявлено увеличение антилизоцимной активности у штаммов лактозопозитивных негемолитических *E. coli*, изолированных при эубиозе кишечника человека, и, напротив, снижение у гемолитических *E. coli*, *S. aureus* и *C. albicans*, выделенных при дисбиозе. Имеющиеся материалы вносят вклад в исследование механизмов формирования микросимбиоза при ассоциативном симбиозе человека и способствуют выявлению штаммов бифидобактерий, пригодных в качестве про- и метабитиков.

**Ключевые слова:** лизоцим, персистенция, антилизоцимная активность, бифидобактерии, микробные ассоциации, эубиоз, дисбиоз, пробиотики

DOI: 10.31857/S102872210006434-2

Адрес: 460000 Оренбург, ул. Пионерская, д.11, ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН», лаборатория биомониторинга и молекулярно-генетических исследований, Бекпергенова Анастасия Владимировна. Тел. 89128467836 (моб.).

E-mail: nsavasteeva@gmail.com

**Авторы:**

**Бекпергенова А. В.**, научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Перунова Н. Б.**, д.м.н., профессор РАН, заведующая лабораторией биомониторинга и молекулярно-генетических исследований ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Андриющенко С. В.**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Здвижкова И. А.**, научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Миронова А. Р.**, заведующая бактериологической лабораторией, ГБУЗ Оренбургская областная клиническая инфекционная больница, Оренбург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Условно-патогенные микроорганизмы, стремясь выжить в организме хозяина, выработали различные способы уклонения от иммунной системы макроорганизма, в том числе за счет способности микробиоты к персистенции, оказавшейся универсальным биологическим феноменом. К секреторным факторам персистенции была отнесена способность микроорганизмов специфически инактивировать лизоцим — один из наиболее распространенных защитных субстратов человека. Данный признак был определен как антилизоцимная активность, который встречался у большинства видов микроорганизмов, а его роль в качестве маркера персистенции была доказана на модели экспериментальной инфекции [1].

С другой стороны, защита биотопа хозяина от инфекции традиционно связана с нормальной (доминантной) микробиотой, способной сдерживать рост и размножение патогенов за

счет продукции антимикробных субстанций, конкуренции за рецепторы адгезии и питательные вещества и др. [2]. В биотопе дистального отдела толстого кишечника человека доминантной группой бактерий являются бифидобактерии, однако недостаточно изучены влияние их ассоциаций на биологические свойства условно-патогенных микроорганизмов с использованием в качестве «биомишени» антилизоцимной активности микроорганизмов. Решение этих вопросов могло бы способствовать как получению новых сведений о межмикробных взаимодействиях, так и отбору композиций облигатно-анаэробных бактерий, пригодных в качестве про- и метабитиков для коррекции дисбиоза толстого кишечника человека.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение влияния супернатантов ассоциации бифидобактерий на антилизоцимную активность условно-патогенных микроорганизмов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы по 6 штаммов микроорганизмов видов *B. bifidum*, *B. longum*, *E. coli* лактозопозитивная, негемолитическая, *E. coli* лактозонегативная, гемолитическая (лак-, гем+), *S. aureus* и *C. albicans*, изолированных от пациентов при обследовании на дисбиоз кишечника. Идентификацию микроорганизмов проводили с помощью время пролетной масс-спектрометрии (Bruker Daltonics, Германия). При исследовании влияния ассоциаций бифидобактерий на биологические свойства условно-патогенных микроорганизмов использовали супернатант микробной ассоциации, полученной при совместном культивировании, который соинкубировали с микробным клеткам. Для выявления антилизоцимной активности (АЛА) бактерий использовали фотометрический метод О. В. Бухарина с соавт. (1999) [1]. Результаты работы обработаны методами параметрической статистики с использованием критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что при влиянии супернатантов ассоциации бифидобактерий на микроорганизмы, выделенные в условиях дисбиоза, про-

исходит снижение показателя антилизоцимной активности у исследуемых штаммов. У лактозонегативной гемолитической кишечной палочки снижались показатели исследуемого свойства (с  $0,4 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОП до  $0,17 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОП) ( $p < 0,05$ ). Под влиянием супернатантов *B. bifidum*-*B. longum* у *S. aureus* и грибов *C. albicans* в  $67 \pm 1,8\%$  также было отмечено снижение показателя антилизоцимной активности с  $0,2 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОП до  $0,1 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОП и с  $0,3 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОП до  $0,1 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОП ( $p < 0,05$ ), соответственно ( $p < 0,05$ ). Напротив, под действием супернатантов ассоциаций бифидобактерий у всех исследуемых штаммов лактозопозитивной негемолитической кишечной палочки происходило увеличение АЛА с  $0,19 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОП до  $0,31 \pm 0,1$  мкг/мл\*ОП ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, при исследовании влияния супернатантов, полученных при сокультивировании штаммов *B. bifidum* и *B. longum*, выявлено увеличение антилизоцимной активности у штаммов лактозопозитивных негемолитических *E. coli*, изолированных при эубиозе кишечника человека, и, напротив, снижение у гемолитических *E. coli*, *S. aureus* и *C. albicans*, выделенных при дисбиозе. Поскольку бифидобактерии являются важнейшими представителями облигатно-анаэробного звена кишечника человека, изменение уровня антимикробного белка лизоцима условно-патогенных микроорганизмов под действием исследуемых ассоциаций *Bifidobacterium spp.*, может иметь значение при реализации доминантной микробиотой колонизационной резистентности биотопа.

Работа выполнена при грантовой поддержке Программы УрО РАН «Фундаментальные науки – медицине», проект № 18-7-8-34.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Бухарин О. В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999, 322. [Bukharin O. V. Persistence of pathogenic bacteria. M.: Medicine, 1999, 322.]
2. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. М.: ГАРАНТЪ. 1998, 1, 288. [Shenderov B. A. Medical microbial ecology and functional nutrition. M.: GARANT. 1998, 1, 288].

**ABILITY OF CONDITIONALLY-PATHOGENIC MICROORGANISM  
TO INACTIVATE ANTI-MICROBIAL PROTEIN BY LYSOZYM  
UNDER THE INFLUENCE OF METABOLITES ASSOCIATION  
OF BIFIDOBACTERIA**

© 2019 A. V. Bekpergenova<sup>1\*</sup>, N. B. Perunova<sup>1</sup>, S. V. Andryushenko<sup>1</sup>,  
I. A. Zdvizhkova<sup>1</sup>, A. R. Mironova<sup>2</sup>

\*E-mail: nsavasteeva@gmail.com

<sup>1</sup>FGBUN Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia;

<sup>2</sup>GBUZ Orenburg Regional Clinical Infectious Diseases Hospital, Orenburg, Russia

Received: 27.02.2019. Accepted: 12.03.2019

Materials on the effect of the supernatants of the associations of bifidobacteria on the antilysozyme activity of microorganisms are presented. An increase in the antilysozyme activity was detected in the lactosopositive non-hemolytic strains of *E. coli* isolated during human intestinal eubiosis, and, conversely, a decrease in hemolytic *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans* isolated in dysbiosis. The available materials contribute to the study of the mechanisms of formation of microsymbiosis in the associative symbiosis of humans and contribute to the identification of strains of bifidobacteria, suitable as pro- and metabiotics.

*Key words:* lysozyme, persistence, antilysozyme activity, bifidobacteria, microbial associations, eubiosis, dysbiosis, probiotics

**Authors:**

**Bekpergenova A. V.**, ✉ Researcher, Laboratory of Biomonitoring and Molecular Genetic Research, FGBUN Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia, Orenburg, Russia. **E-mail:** nsavasteeva@gmail.com;

**Perunova N. B.**, PhD, Professor RAS, Associate Professor Laboratory of Biomonitoring and Molecular Genetic Research, FGBUN Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia, Orenburg, Russia;

**Andryushenko S. V.**, PhD, Associate Professor Laboratory of Biomonitoring and Molecular Genetic Research, FGBUN Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia, Orenburg, Russia;

**Zdvizhkova I. A.**, Researcher, Laboratory of Biomonitoring and Molecular Genetic Research, FGBUN Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia, Orenburg, Russia;

**Mironova A. R.**, Head of Bacteriological Laboratory, GBUZ Orenburg Regional Clinical Infectious Diseases Hospital, Orenburg, Russia.

## РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D (VDR FokI) В РАЗВИТИИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ У РУССКИХ ЧЕЛЯБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2019 г. С. В. Беляева\*, Д. С. Сташкевич

\*E-mail: shshvetlana@yandex.ru

ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 14.03.2019

Впервые проведен анализ гена рецептора витамина D у больных туберкулезом легких представителей русской популяции Челябинской области. Установлено, что частота встречаемости редкого аллеля FokI(f) у больных не отличается от контрольной. У больных с очаговой формой не обнаружен генотип FokI(f/f).

**Ключевые слова:** туберкулез легких, полиморфизм генов, рецептор витамина D, FokI

DOI: 10.31857/S102872210006435-3

Адрес: 454001, г. Челябинск, ул. Братьев Кашириных, 129. ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», биологический факультет, кафедра микробиологии, иммунологии и общей биологии, Беляева Светлана Валерьевна. Тел.: 8 908 052 18 66 (моб.).

E-mail: shshvetlana@yandex.ru

**Авторы:**

**Беляева С. В.**, к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии, Челябинск, Россия;

**Сташкевич Д. С.**, к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии, Челябинск, Россия.

Туберкулез является одной из самых актуальных проблем мирового здравоохранения [1]. До появления антибиотиков больных направляли на гелиотерапию, которая способствует выработке витамина D в организме. Современные эпидемиологические и лабораторные исследования также свидетельствуют о том, что недостаточность витамина D коррелирует с повышенной восприимчивостью к туберкулезу [2]. Витамин D оказывает плейотропное действие через рецептор витамина D (VDR), который присутствует на большинстве клеток и участвует в активации врожденного иммунитета против внутриклеточных паразитов, особенно микобактерий. Поэтому полиморфизмы гена VDR активно исследуют для поиска ассоциации с развитием туберкулеза легких в различных популяциях [1, 3, 4]. SNP полиморфизм гена VDR FokI(F/f) расположен в экзоне 2 на длинном плече 12 хромосомы и влияет

на качество связи витамина и рецептора. Полиморфизмы данного гена кодируют продукты с разной биологической активностью. С аллель (или F) кодирует образование более короткого продукта (424 аминокислоты) VDR, который характеризуется большей активностью (в 1,7 раза) по сравнению с более длинным (427 аминокислоты) продуктом, который кодирует рецессивный аллель T (или f). Исследования показали, что полиморфизм FokI(f) связан с риском развития туберкулеза у населения Восточной Азии среди разных этнических групп, а в Южной Индии генотип FokI(F/F) увеличивает риск развития туберкулеза у пациентов мужского пола [3, 4].

**Цель исследования.** Оценить особенности частоты встречаемости полиморфизма гена VDR (FokI) у больных и здоровых лиц, с целью выделения маркеров потенциального риска развития активного туберкулеза легких и его клинических форм.

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Исследуемую группу составили 86 больных туберкулезом легких – пациенты ГБУЗ «Челябинский областной клинический противотуберкулезный диспансер», и 85 здоровых доноров ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови». Группы относились к русской популяции Челябинской области. Популяционная

принадлежность определялась по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения (согласно рекомендациям 8-го Международного Симпозиума в 1980 г., Лос-Анджелес, США). Группы больных и контроля имели одинаковый социально-экономический статус (социально-адаптированные слои населения). Сравнение иммуногенетических показателей проводили в группах больных с различной степенью поражения органа-мишени согласно российской клинической классификации (Российская клиническая классификация, Приказ МЗ РФ от 21.03.2003 № 109): с инфильтративной, очаговой и фиброзно-кавернозной формами туберкулеза легких. Генотипирование гена VDR (FokI) осуществляли методом ПДРФ (праймеры производства НПК «Синтол», Москва; рестриктаза FokI ООО «СибЭнзим», Новосибирск), с последующей детекцией методом электрофореза в 3% агарозном геле. Для статистической обработки использовались стандартные генетические методы с применением пакета прикладных программ «Statistica 8.0 for Windows».

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При проведении сравнительного анализа распределения аллелей и генотипов гена VDR между группами больных и контрольной достоверные различия не были обнаружены.

Учитывая данные литературы, что существуют гендерные различия в частоте встречаемости туберкулеза (у мужчин встречается в 3 раза чаще) [1], мы провели сравнительный анализ распределения полиморфизма гена VDR с учетом половых особенностей. У мужчин больных туберкулезом была повышена частота встречаемости гетерозиготного генотипа FokI(F/f) по сравнению с контрольной группой на уровне тенденции (57% и 41%, соответственно,  $p=0,090$ ).

Широкий диапазон клинических форм туберкулеза свидетельствует о том, что разные наборы генов участвуют в патогенезе различных клинических форм [1]. Поэтому на следующем этапе исследования мы провели сравнение распределения аллелей и генотипов гена VDR у больных с инфильтративной, очаговой и фиброзно-кавернозной формами туберкулеза легких. Было обнаружено, что у больных с распространенной инфильтративной формой туберкулеза на уровне тенденции снижена частота гетерозиготного генотипа FokI(F/f) по сравнению с очаговой формой (46% и 69% соответственно,  $p=0,095$ ). Кроме того, у больных с очаговой формой не встречался

редкий генотип FokI(f/f). Данные различия достоверны в сравнении с инфильтративной формой ( $p=0,047$ ), у больных с которой данный генотип встречался с наибольшей частотой.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы туберкулез стал характеризоваться высокой полирезистентностью возбудителя болезни к противотуберкулезным препаратам. Поэтому приоритетным направлением исследований является поиск дополнительных лекарственных средств, таких, как витамин D, уровень эффективности которого при туберкулезе зависит от полиморфизма VDR [2, 4].

В результате нашего исследования установлено, что у русских Челябинской области частота редкого аллеля FokI(f) соответствует европеоидной (36%), однако различия по частоте встречаемости аллелей и генотипов гена VDR между группами больных и контрольной не достигали статистической значимости. В то же время для больных с различной степенью поражения органа-мишени и тяжестью были характерны достоверные различия: у больных с очаговой формой не обнаружен генотип FokI(f/f). Вероятно, отсутствие данного генотипа обеспечивает более благоприятное течение заболевания, а его носительство является причиной распространения процесса. Учитывая данные о способности витамина D стимулировать дифференцировку лимфоцитов и врожденные иммунные механизмы макрофагов, а также ослаблять развитие аутоиммунитета, в настоящее время рассматривают возможность исправления дисфункций VDR при хронических инфекционных заболеваниях [2], поэтому возникает необходимость проведения дальнейших молекулярно-генетических исследований ассоциаций полиморфных вариантов гена VDR с развитием активных форм туберкулеза легких.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Беляева С. В., Сташкевич Д. С. Роль полиморфизмов гена TNFA в формировании различных вариантов воспалительного ответа при туберкулезе легких у русских Челябинской области. Российский иммунологический журнал. 2014, 8(17), 3, 775–778. [Beliaeva S. V., Stashkevich D. S. The role of TNFA gene polymorphisms in the formation of different variants of the inflammatory response in pulmonary tuberculosis in Russians of Chelyabinsk region. Russian Journal of Immunology. 2014, 8(17), 3, 775–778].
2. Беляева И. В., Николаев А. В., Чурилов Л. П., Яблонский П. К. Кателицидины, витамин D и туберку-

- лез. Вестник Санкт-Петербургского университета. 2013, 11, 3, 3–18. [Belyaeva I. V., Nikolaev A. V., Churilov L. P., Yablonskiy P. K. Cathelicidins, vitamin d and tuberculosis. Vestnik SPBGU. 2013, 11, 3, 3–18].
3. Cao Y, Wang X, Cao Z, Cheng X. Vitamin D receptor gene FokI polymorphisms and tuberculosis susceptibility: ametaanalysis. Archives of Medical Science. 2016, 12, 1118–34.
4. Harishankar M., Selvaraj P. and Bethunaickan P. Influence of Genetic Polymorphism Towards Pulmonary Tuberculosis Susceptibility. Frontiers in Medicine (Lausanne). 2018; 5, 213.

## ROLE OF GENE POLYMORPHISM OF VITAMIN D RECEPTOR (VDR FokI) IN THE DEVELOPMENT OF PULMONARY TUBERCULOSIS IN RUSSIAN CHELYABINSK REGION

© 2019 S. V. Belyaeva\*, D. S. Stashkevich

\*E-mail: shshvetlana@yandex.ru  
Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

Received: 27.02.2019. Accepted: 14.03.2019

For the first time the analysis of the VDR gene in Russian patients with pulmonary tuberculosis living in Chelyabinsk region has been carried out. It is established that the frequency of occurrence of allele FokI(f) in patients does not differ from the control. A genotype FokI(f/f) was not found in patients with a focal form.

*Key words:* pulmonary tuberculosis, genes polymorphism, vitamin D receptor, FokI

### Authors:

**Belyaeva S. V.**, ✉ PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** shshvetlana@yandex.ru;

**Stashkevich D. S.**, PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ И ТРЕТИЧНЫХ АНТИТЕЛ К ДВУМ ПРОИЗВОДНЫМ МОРФИНА

© 2019 г. А. Г. Берзина<sup>1\*</sup>, Л. И. Ульянова<sup>1</sup>, Н. Б. Гамалея<sup>1</sup>,  
Т. А. Климова<sup>1</sup>, А. В. Трофимов<sup>2</sup>, Н. В. Станкова<sup>3</sup>

\*E-mail: berzina07@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии  
им. В. П. Сербского» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых  
биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России, Московская область,  
Красногорский район, пос. Светлые горы, Россия

Поступила: 25.02.2019. Принята: 11.03.2019

На основе первичных мышинных моноклональных (МАт1) антител к двум производным морфина — 3-карбоксиметильному (КММ) и 6-гемисукцинильному (ГСМ) были получены лошадиные антиидиотипические антитела (Ат2). Иммунизация кроликов и мини-свиней Ат2 антителами приводила к образованию третичных антител (Ат3). Установлено, что Ат2 антитела обладают морфиноподобными свойствами — стимулируют синтез ДНК в клетках глиобластомы человека линии Т98G, экспрессирующих на мембране значительное количество опиоидных рецепторов. Добавление в систему *in vitro* Ат3 антител приводило к отмене стимулирующего эффекта.

**Ключевые слова:** антиидиотипические антитела, иммуноферментный анализ, клеточная культура глиобластомы человека линии Т98G, моноклональные, производные морфина, синтез ДНК

DOI: 10.31857/S102872210006436-4

**Адрес:** 119002 Москва, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В. П. Сербского» Минздрава России, филиал ННЦ наркологии, лаборатория иммунохимии, Берзина Ася Григорьевна. Тел.: +7 (499) 241 70 83, 8 925 237 27 10(моб.).

**E-mail:** berzina07@mail.ru

### Авторы:

**Берзина А. Г.**, к.б.н., с.н.с. лаборатории иммунохимии ФГБУ «ФМИЦПН им. В. П. Сербского» Минздрава России, Москва, Россия;

**Ульянова Л. И.**, д.б.н., в.н.с. лаборатории иммунохимии ФГБУ «НМИЦ ПН им. В. П. Сербского» Минздрава России, Москва, Россия;

**Гамалея Н. Б.**, д.м.н., проф., заведующая лабораторией иммунохимии ФГБУ «НМИЦ ПН им. В. П. Сербского» Минздрава России, Москва, Россия;

**Климова Т. А.**, к.б.н., н.с. лаборатории иммунохимии ФГБУ «НМИЦ ПН им. В. П. Сербского» Минздрава России, Москва, Россия;

**Трофимов А. В.**, руководитель группы, ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

**Станкова Н. В.**, заведующая лабораторией, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России, Московская область, Красногорский район, пос. Светлые горы, Россия.

По данным ВОЗ, число лиц, употребляющих наркотики, в мире составляет более 210 млн. чел, что соответствует 3% из 7 млрд. населения земного шара, подавляющее большинство — около 80%, составляют больные с зависимостью от опиатов [1]. Сравнительно недавно стали исследовать возможности иммунотерапии — вакцинации больных с целью лечения наркотической зависимости. Перспективным направлением является использование в качестве иммуногенов антиидиотипических (вторичных) антител [2, 3]. При разработке антиидиотипической вакцины от опиатов нами были использованы первичные моноклональные антитела МАт1 к 3-карбоксиметильному (КММ) и 6-гемисукцинильному (ГСМ) производным морфина.

**Целью работы** явилось получение Ат2 антител лошади к двум производным морфина на основе МАт1 антител, индукция Ат3 иммунного ответа в ксеногенных системах — кролики, мини-свиньи, а также оценка антигенных и биологических свойств Ат2 и Ат3 антител.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поликлональные антиидиотипические антитела лошади к двум производным морфина были выделены методом аффинной хроматографии на CNBr-сефарозе 4В по модифицированной нами методике [4] из сыворотки крови лошади, иммунизированной суммарным препаратом МАТ1 (клоны К11 и Г1) в дозе 20 мкг/кг по схеме: в/м инъекция с полным адьювантом Фрейнда (Sigma Aldrich), через 14 дней п/к инъекция с неполным адьювантом Фрейнда в область шейных лимфоузлов и через 60 дней в/в введение 2 мг препарата МАТ1 в 2 мл физиологического раствора. Антигенные свойства Ат2 антител проверяли с помощью «прямого» и «сэндвич» методов ИФА с использованием меченных пероксидазой хрена (Sigma Aldrich) Ат1 кроличьих антител к тем же производным морфина. В качестве положительного контроля в реакции использовали конъюгат 2-р-карбокси-фенилазаметильного производного морфина с лизоцимом (ФАМ-лиз). Ат3 иммунный ответ изучали на кроликах породы Новозеландский белый и мини-свиньях Светлогорской популяции. Титр Ат3 антител в сыворотках крови определяли с помощью непрямого метода ИФА, используя в качестве антигена на твердой фазе ФАМ-лиз. Для оценки Ат2 антител по способности проявлять морфиноподобные свойства *in vitro*, была использована культура глиобластомы человека линии Т98G с ярко выраженной экспрессией опиоидных рецепторов. Биологический эффект Ат2 и Ат3 антител в широком диапазоне доз (от 0,39 до 25 мкг на 1 мл полной питательной среды – ППС) проверяли по их способности влиять на синтез ДНК в культуре клеток в сравнении с действием морфина и налоксона, обладающих агонистическим и антагонистическим действием по отношению к  $\mu$ -опиатным рецепторам. Культивирование клеток и постановку экспериментов проводили в 96-луночных плоскодонных планшетах, как было указано ранее в статье [5]. Интенсивность биологического эффекта антител и ПАВ оценивали по активности синтеза ДНК в клеточных культурах, которую измеряли по скорости включения метил- $^3\text{H}_1$ -тимидина во вновь синтезируемую ДНК и выражали в импульсах в мин (имп/мин).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате иммунизации лошади МАТ1 антителами к двум производным морфина была получена антиидиотипическая сыворотка с ти-

тром –  $10^{-5}$ . Аффинная очистка Ат2 антител на иммуносорбенте CNBr-сефароза 4В + Ат1 свиной к тем же производным морфина позволила избавиться от балластных антител к Fc-фрагменту мыши. Проверка антигенных свойств аффинных Ат2 антител лошади с помощью прямого метода ИФА показала, что они положительно реагируют с мечеными ферментом Ат1 антителами кролика, аналогично антигену ФАМ-лиз. В сыворотках крови кроликов и мини-свиной, иммунизированных антиидиотипическими антителами к производным морфина, были определены титры третичных антител. Так, титр Ат3 в сыворотке кролика на 45-й день от начала иммунизации составил  $1,5 \times 10^{-3}$ , у мини-свиной –  $3 \times 10^{-3}$ . Для оценки действия широкого диапазона доз Ат2 антител (0,39–25 мкг в 1 мл ППС) и агониста опиоидных рецепторов – морфина показали, что Ат2 антитела лошади активируют синтез ДНК в культуре клеток Т98G аналогично действию морфина. Пик усиления эффекта синтеза ДНК морфином наблюдался при дозе 6,25 мг/мл и был равен  $2214,7 \pm 194$  против  $1167,8 \pm 100,3$  имп/мин в культуре без внесения морфина, в то время как при действии Ат2 антител этот эффект наблюдался при дозе 3,125 мкг/мл и был менее выражен ( $2028,2 \pm 206$  имп/мин). При одновременном введении налоксона с морфином или Ат2 антителами в культуры клеток Т98G было установлено, что налоксон полностью блокирует не только стимулирующий эффект синтеза ДНК в культурах Т98G, вызванный морфином, но и полностью устраняет эффект стимуляции, вызванный Ат2 антителами при всех исследованных концентрациях препаратов. Тестирование кроличьих и свиных Ат3 антител в разработанной нами системе показало, что они, независимо от видовой принадлежности, отменяют стимулирующее действие морфина на синтез ДНК в клетках, т.е. обладают Ат1-подобными свойствами, что было показано ранее при тестировании первичных антител к КММ и ГСМ.

Таким образом, полученные нами поликлональные Ат2 могут рассматриваться как имитатор морфина для индукции Ат1-подобного иммунного ответа.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Всемирный доклад о наркотиках. Управление Организации Объединенных Наций по наркотикам и преступности, 2015. Организация Объединенных Наций: Нью-Йорк. World Drug Report. United

- Nations Office on Drugs and Crime, 2015. United Nations: New York.
- Schabacker D. S., Kirschbaum K. S., Segre M. Exploring the feasibility of an anti-idiotypic cocaine vaccine: analysis of the specificity of anticocaine antibodies (Ab1) capable of inducing Ab2 anti-idiotypic antibodies. *Immunology*. 2000, 100, 48–56.
  - Гамалея Н. Б., Берзина А. Г., Ульянова Л. И. Методологические основы создания вакцины для иммуноотерапии зависимости от опиатов. *Вопросы наркологии*. 2017, № 4–5, 32–56. [Gamaley N. B., Berzina A. G., Ulyanova L. I. Methodological basis for development of a vaccine for opiate dependence immunotherapy. *Journal of addiction Problems*. 2017, no. 4–5, 32–56.]
  - Кулаев Д. В., Насибов С. М., Маркин С. С., Бобков Ю. Г., Семенов М. П. Хроматографический способ выделения альфа-фетопротеина. Патент на изобретение RU № 2094078, 1997. [Kulaev D. V., Nasibov S. M., Markin S. S., Bobkov Yu. U., Semenov M. P. Chromatographic method for the isolation of alpha-fetoprotein. Patent RU2094078, 1997]
  - Гамалея Н. Б., Ульянова М. А., Берзина А. Г., Ульянова Л. И. Тестирование психоактивных веществ и антител к ним в модели *in vitro*. *Наркология*. 2014, № 11, 37–41. [Gamaley N. B., Ulyanova M. A., Berzina A. G., Ulyanova L. I. Testing of psychoactive substances and antibodies against them in an *in vitro* model. *Narcology*. 2014, no. 11, 37–41.]

## SOME BIOLOGICAL FEATURES OF ANTI-IDIOTYPIC AND TERTIARY ANTIBODIES AGAINST TWO MORPHINE DERIVATIVES

© 2019 A.G. Berzina<sup>1\*</sup>, L. I. Ulyanova<sup>1</sup>, N. B. Gamaley<sup>1</sup>, T. A. Klimova<sup>1</sup>, A. V. Trofimov<sup>2</sup>, N. V. Stankova<sup>3</sup>

\*E-mail: berzina07@mail.ru

<sup>1</sup>V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>The State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, FMBA of Russia, St Petersburg, Russia;

<sup>3</sup>Scientific Center for Biomedical Technology, FMBA of Russia, Settlement Svetlye Gory, Russia

Received: 25.02.2019. Accepted: 11.03.2019

The horse anti-idiotypic antibodies (Ab2) were obtained on the base of 2 mouse monoclonal antibodies (mAb) specific for two morphine derivatives – 3-0-carboxymethyl (CMM) and 6-hemisuccinyl (GSM). Immunization of rabbits and mini-pigs with Ab2 led to the formation of tertiary antibodies (Ab3). It was found that Ab2 antibodies have morphine-like properties, i.e. stimulate DNA synthesis in cultured human glioblastoma cells of the T98G line, which expresses a significant amount of opioid receptors on cell membrane. The addition of Ab3 antibodies to the System *in vitro* led to the abolition of the stimulating effect.

**Key words:** anti-idiotypic antibodies, enzyme linked immunoassay, cell culture of human glioblastoma T98G line, monoclonal antibodies, morphine derivatives, DNA synthesis

### Authors:

**Berzina A. G.**, ☒ PhD, senior researcher, V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. **E-mail:** berzina07@mail.ru;

**Ulyanova L. I.**, doctor of biological sciences, leading researcher, V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia;

**Gamaley N. B.**, doctor of medical sciences, professor, head of laboratory, V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia;

**Klimova T. A.**, PhD, senior researcher, V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia;

**Trofimov A. V.**, group leader, The State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, FMBA of Russia, St Petersburg, Russia;

**Stankova N. V.**, PhD, head of laboratory, Scientific Center for Biomedical Technology, FMBA of Russia, Moscow region, Krasnogorsk, Settlement Svetlye Gory, Russia.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТАТИНОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕИНФЕКЦИОННОГО УВЕИТА

© 2019 г. А. А. Бирюкова<sup>1</sup>, И. В. Ширинский<sup>2\*</sup>

\*E-mail: [ivan.shirinsky@gmail.com](mailto:ivan.shirinsky@gmail.com)

<sup>1</sup>ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С. Н. Федорова, Новосибирский филиал, Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 18.03.2019

Ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А редуктазы (статины) применяются для лечения сердечно-сосудистых заболеваний и дислипидемии. Иммуномодулирующие и противовоспалительные свойства статинов и их хорошая переносимость являются обоснованием использования этой группы препаратов при ряде аутоиммунных заболеваний, включая неинфекционный увеит. В статье приводятся данные литературы об использовании статинов при экспериментальных моделях аутоиммунного увеита и об эпидемиологических исследованиях, свидетельствующих о профилактическом действии статинов на развитие увеита у человека. В проведенном нами пилотном рандомизированном открытом исследовании была показана эффективность и безопасность терапии неинфекционного увеита симвастатином в сочетании со стандартной терапией. Заключается, что имеющиеся экспериментальные и клинические данные обосновывают проведение рандомизированного, плацебо-контролируемого исследования статинов при увеите.

**Ключевые слова:** ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А редуктазы, неинфекционный увеит, статины

DOI: 10.31857/S102872210006437-5

**Адрес:** 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клинической иммунофармакологии, Ширинский Иван Валерьевич. Тел./факс: +7 (383) 222-26-74, факс +7 (383) 222-70-28  
**E-mail:** [ivan.shirinsky@gmail.com](mailto:ivan.shirinsky@gmail.com)

### Авторы:

**Бирюкова А. А.**, заочный аспирант, врач-офтальмолог, ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С. Н. Федорова, Новосибирский филиал, Новосибирск, Россия;

**Ширинский И. В.**, в. н. с., д. м. н., врач-ревматолог, клинический исследователь, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клинической иммунофармакологии, Новосибирск, Россия;

Неинфекционный увеит — это гетерогенная группа заболеваний, общими звеньями патогенеза которых является возникновение аутоиммунного ответа к собственным тканям структур глаза. Распространенность увеитов в общей структуре глазной патологии варьирует в пределах 7–30%. Увеит является причиной 10–15% случаев слепоты в развитых странах.

Основой лечения увеита являются применяемые локально и системно глюкокортикостероиды, противовоспалительные и иммуносупрессивные препараты (метотрексат, азатиоприн, микофенолат мофетил, циклофосфан) [1]. Использование этих групп лекарств сопряжено с развитием ряда побочных эффектов, из которых наиболее серьезными являются повышение риска развития инфекций и злокачественных опухолей.

Ингибиторы 3-гидрокси-3-метил коэнзим А редуктазы (статины) используются для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и терапии дислипидемии. Показано, что кроме липид-корректирующего действия статины обладают противовоспалительным и иммуномодулирующим эффектами. Плейотропные свойства статинов и их хорошая переносимость обосновывают возможность применения этой группы препаратов при различных аутоиммунных заболеваниях, включая неинфекционный увеит.

В нескольких исследованиях изучалась эффективность статинов при экспериментальном

аутоиммунном увеоретините (ЭАУ) у грызунов. Так, Harry et al показали, что терапия ловастатином приводит к уменьшению выраженности воспаления глаза, снижению проницаемости сосудов сетчатки и ее лейкоцитарной инфильтрации. Эти эффекты аторвастатина сопровождались уменьшением антиген-индуцированной пролиферации Т-клеток и уменьшением продукции  $IFN\gamma$  и IL-10 [2]. Kohno et al сравнивали пероральный прием аторвастатина и интраперитонеальное введение ловастати́на у крыс с ЭАУ. Оба препарата уменьшали клинические и гистологические проявления заболевания и приводили к подавлению гиперчувствительности замедленного типа, антиген-индуцированной пролиферации лимфоцитов и продукции ими  $IFN\gamma$  [3]. Возможность профилактического действия статинов на развитие увеита продемонстрирована при анализе эпидемиологических данных. Так, Yunker et al в исследовании «случай-контроль» показали тенденцию к уменьшению частоты развития воспалительных заболеваний глаз у людей, принимавших статины (отношение шансов, ОР – 0.5, 95% доверительный интервал, ДИ – 0.2–1.23,  $p = 0.13$ ). При анализе данных «Тихоокеанского Исследования Воспаления Глаза», полученных на 217061 пациенте, было продемонстрировано достоверное уменьшение риска увеита на 48% у больных, принимавших статины (ОШ 0.52, 95% ДИ – 0.29–0.94,  $p = 0.03$ ) [4].

Результаты экспериментальных исследований на животных и эпидемиологические данные послужили обоснованием для проведения нами рандомизированного открытого исследования эффективности и безопасности симвастатина при неинфекционном увеите. Пятьдесят больных были рандомизированы в соотношении 1:1

к приему симвастатина в сочетании со стандартной терапией и к приему одной стандартной терапии в течение двух месяцев. Лечение симвастатином было ассоциировано с достоверно более частым достижением контроля за болезнью (96% в группе симвастатина, 44% – в контрольной группе,  $p < 0.01$ ), уменьшением воспаления в передней камере глаза, улучшением остроты зрения [5].

Таким образом, данные литературы и результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что использование статинов может быть эффективной и безопасной стратегией лечения неинфекционного увеита и обосновывают проведение дальнейших рандомизированных контролируемых исследований.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Durrani K., Zakka F.R., Ahmed M., Memon M., Siddique S.S., Foster C.S. Systemic therapy with conventional and novel immunomodulatory agents for ocular inflammatory disease. *Surv Ophthalmol* 2011, 56(6):474–510.
2. Harry R., Gegg M., Hankey D., Zambarakji H., Pryce G., Baker D., Calder V., Adamson P., Greenwood J. Suppression of autoimmune retinal disease by lovastatin does not require Th2 cytokine induction. *J Immunol* 2005, 174(4):2327–2335.
3. Kohno H., Sakai T., Saito S., Okano K., Kitahara K. Treatment of experimental autoimmune uveoretinitis with atorvastatin and lovastatin. *Exp Eye Res* 2007, 84(3):569–576.
4. Borkar D.S., Tham V.M., Shen E., Parker J.V., Uchida A., Vinoya A.C., Acharya N.R. Association between statin use and uveitis: results from the Pacific Ocular Inflammation study. *Am J Ophthalmol* 2015, 159(4):707–713.
5. Shirinsky I.V., Biryukova A.A., Shirinsky V.S. Simvastatin as an Adjunct to Conventional Therapy of Non-infectious Uveitis: A Randomized, Open-Label Pilot Study. *Curr Eye Res* 2017, 42(12):1713–1718.

## USE OF STATINS FOR THE TREATMENT OF NON-INFECTIOUS UVEITIS

© 2019 A. A. Biryukova<sup>1</sup>, I. V. Shirinsky<sup>2\*</sup>

\*E-mail: [ivan.shirinsky@gmail.com](mailto:ivan.shirinsky@gmail.com)

<sup>1</sup>S. N. Fyodorov Eye Microsurgery Complex, Novosibirsk Branch, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia

Received: 01.03.2019. Accepted: 18.03.2019

Inhibitors of inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase or statins, are used for the treatment of cardiovascular diseases and dyslipidemia. Immunomodulating and anti-inflammatory properties of statins provide a rationale for their use in various autoimmune diseases including non-infectious uveitis. In this article we present literature data on the use of statins in the experimental models of non-infectious uveitis and on the epidemiological studies showing prophylactic effect of statins against uveitis. In our pilot, open-label, randomized study we demonstrated efficacy and safety of treatment of uveitis with simvastatin in addition to conventional treatment. In conclusion, current data provide a rationale for a randomized, placebo controlled study of statins in uveitis.

*Key words:* inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase; non-infectious uveitis, statins

### Authors:

**Biryukova A. A.**, PhD student, ophthalmologist, S. N. Fyodorov Eye Microsurgery Complex, Novosibirsk Branch, Novosibirsk, Russia; **Shirinsky I. V.**, ✉ leading research scientist, MD, PhD, Laboratory of Clinical Immunopharmacology, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** [ivan.shirinsky@gmail.com](mailto:ivan.shirinsky@gmail.com)

## АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА И ФУНКЦИИ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ В ДИНАМИКЕ Т-КЛЕТОЧНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ И СТАНДАРТНОЙ ТЕРАПИИ

© 2019 г. Е. А. Блинова\*, А. Е. Макарова, Е. А. Пашкина,  
Д. В. Демина, В. А. Козлов

\*E-mail: blinovaelena-85@yandex.ru

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной  
и клинической иммунопатологии», Новосибирск, Россия

Поступила: 19.02.2019. Принята: 06.03.2019

В работе представлена клиничко-иммунологическая характеристика пациентов с бронхиальной астмой, получавших стандартную терапию и Т-клеточную иммунотерапию. После проведения клеточной терапии происходило улучшение показателей функции внешнего дыхания, увеличение числа CD8<sup>+</sup> лимфоцитов, уменьшение содержания CD19<sup>+</sup> клеток, а также снижение уровня IgE при атопической форме заболевания, что указывает на эффективность данного подхода. У пациентов со стандартной терапией динамика исследуемых показателей отсутствовала.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, клеточная иммунотерапия, стандартная терапия, иммунный статус, функция внешнего дыхания

DOI: 10.31857/S102872210006438-6

Адрес: 630099 Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунопатологии», лаборатория клинической иммунопатологии, Блинова Елена Андреевна. Тел./факс: +7 (383) 227 01 35, 8913 733 64 59 (моб.).

E-mail: blinovaelena-85@yandex.ru

### Авторы:

**Блинова Е. А.**, к.б.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунопатологии», Новосибирск, Россия;

**Макарова А. Е.**, врач-вакцинолог клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунопатологии», Новосибирск, Россия;

**Пашкина Е. А.**, к.б.н., н.с. лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунопатологии», Новосибирск, Россия;

**Демина Д. В.**, к.м.н., заведующая отделением аллергологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунопатологии», Новосибирск, Россия;

**Козлов В. А.**, академик РАН, д.м.н., заведующий лабораторией клинической иммунопатологии, научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунопатологии», Новосибирск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Базисная терапия бронхиальной астмы (БА) включает применение ингаляционных глюкокортикостероидов в комбинации с β<sub>2</sub>-агонистами длительного действия, тем не менее, у части пациентов не удается достичь контроля над заболеванием [1]. Современные подходы к терапии направлены на поиск биологических препаратов, воздействующих на патогенетические звенья и ремоделирование дыхательных путей, и при этом обладающих хорошей переносимостью и слабо выраженными побочными эффектами. К таким подходам относится иммунотерапия на основе аутологичных активированных Т-клеток.

**Целью работы** было сравнение показателей иммунного статуса и функции внешнего дыхания у пациентов с бронхиальной астмой в начале и на 2, 7 месяцы получения стандартной терапии и иммунотерапии аутологичными активированными Т-клетками для последующей оценки эффективности лечения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 9 пациентов со среднетяжелой БА, получавших стандартную терапию в виде ингаляционных глюкокортикостероидов и комбинированных препаратов, и 23 пациента со среднетяжелой БА, получавших дополнительно к базисной клеточную иммунотерапию. Все пациенты получали лечение в клинике иммунопатологии НИИФКИ. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом НИИФКИ, все манипуляции производились после подписания пациентом информированного согласия. Аутологичные активированные Т-клетки в дозе 30–60 млн. вводили подкожно по схеме: 4 инъекции кратностью 1 раз в неделю и 6 инъекций кратностью 1 раз в месяц. Аутологичные активированные Т-клетки получали в асептических условиях в соответствии с разработанным лабораторным регламентом [2]. Определение показателей иммунного статуса осуществлялось в клинико-диагностической лаборатории Клиники иммунопатологии НИИФКИ. Оценку функции внешнего дыхания у пациентов проводили методом спирометрии. Исследование динамики показателей проводили в начале, на 2 и 7 месяцы терапии. Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Statistica 6.0. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Иммунотерапия аутологичными активированными Т-клетками характеризовалась хорошей переносимостью: однократные местные побочные реакции в виде покраснения, припухлости и болезненности в месте введения были зарегистрированы у трех пациентов, т.е. в 13% случаев.

Оценка функции внешнего дыхания у пациентов с иммунотерапией выявила достоверное увеличение показателя форсированной жизненной емкости легких и индекса Тиффно к окончанию иммунотерапии (через 7 месяцев), увеличение ОФВ<sub>1</sub> имело характер тенденции ( $p = 0,08$ ). В группе пациентов со стандартной терапией достоверных изменений показателей функции внешнего дыхания не было выявлено.

В ходе обоих видов терапии уровень IgE не изменялся у пациентов с эндогенной формой заболевания. У пациентов с атопической формой заболевания достоверное снижение IgE на-

блюдалось через 2 месяца и через 7 месяцев от начала лечения и только в группе пациентов, получавших иммунотерапию. К окончанию лечения уровень IgE снизился на 30%, что можно рассматривать как маркер клинической эффективности лечения.

Отличий по показателям иммунного статуса между группами пациентов выявлено не было. Однако в динамике иммунотерапии происходило достоверное снижение количества CD19<sup>+</sup> В-лимфоцитов через 2 месяца и через 7 месяцев от начала лечения. К окончанию иммунотерапии достоверно увеличивалось количество цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитов. Показатели иммунного статуса в динамике стандартной терапии достоверно не изменялись.

Исследователями показано, что для тяжелой формы астмы характерны достоверное снижение числа CD8<sup>+</sup> лимфоцитов и повышенное содержание В-лимфоцитов в периферической крови [3], а также другие сдвиги в показателях иммунного статуса, отражающие хронический воспалительный процесс. Поэтому наблюдаемые нами изменения иммунокомпетентных клеток в ходе иммунотерапии, говорят о воздействии данного подхода на патогенетические звенья БА.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая снижение симптомов и проявлений заболевания, положительную динамику сыровоточного IgE, изменение значимых показателей иммунного статуса, полученные результаты свидетельствуют о клинической эффективности иммунотерапии аутологичными активированными Т-клетками в лечении бронхиальной астмы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA) 2015. – [www.ginasthma.com](http://www.ginasthma.com).
2. Патент RU № 2652752 С1. *Блинова Е. А., Пашикина Е. А., Тевс А. Е., Непомнящих В. М., Леонова М. И., Демина Д. В., Козлов В. А.* «Способ лечения бронхиальной астмы» // опубликован 28.04.2018 г. Бюллетень № 13. [Patent RU № 2652752 С1. *Blinova E. A., Pashkina E. A., Tevs A. E., Nepomnyashchikh V. M., Leonova M. I., Demina D. V., Kozlov V. A.* «Method of treatment for bronchial asthma» // published 28.04.2018 Bulletin № 13].
3. *Скибо Ю. В., Курмаева Н. Ш., Цибулькина В. Н., Абрамова З. И.* Структура основных популяций лимфоцитов у больных атопической бронхиальной астмой разной степени тяжести // Практическая медицина. 2012. – № 9 (65). – С. 154–158.

[Skibo Y. V., Kurmaeva N. S., Tsibulkina V. N., Abramova Z. I. The structure of the main populations of lym-

phocytes in patients atopic asthma of varying severity // Practical medicine. 2012. — № 9 (65). — P. 154–158]

## ANALYSIS OF IMMUNOLOGICAL INDEXES AND EXTERNAL BREATH FUNCTION IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA UNDER THE TREATMENT WITH T-CELL IMMUNOTHERAPY AND STANDARD THERAPY

© 2019 E. A. Blinova\*, A. E. Makarova, E. A. Pashkina, D. V. Demina, V. A. Kozlov

\*E-mail: [blinovaelena-85@yandex.ru](mailto:blinovaelena-85@yandex.ru)

Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia

Received: 19.02.2019. Accepted: 06.03.2019

The study presents the clinical and immunological characteristics of patients with bronchial asthma, which had administrated with standard therapy and T-cell immunotherapy. After cell therapy, it was shown an improvement of external breath function, an increase in the number of CD8<sup>+</sup> lymphocytes, a decrease in CD19<sup>+</sup> cell subset, as well as a reducing of IgE level in the atopic form of the disease. All together it indicates the effectiveness of cell therapy. In patients with standard therapy, there was no change of investigated parameters in dynamics.

*Key words:* bronchial asthma, cell immunotherapy, standard therapy, immunological status, external breath function

### Authors:

**Blinova E. A.**, ✉ PhD, senior researcher of the Laboratory of Clinical immunopathology Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia. **E-mail:** [blinovaelena-85@yandex.ru](mailto:blinovaelena-85@yandex.ru);

**Makarova A. E.**, vaccinologist of Clinic of immunopathology Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia;

**Pashkina E. A.**, PhD, researcher of the Laboratory of Clinical immunopathology Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia;

**Demina D. V.**, Head of the allergology department of Clinical immunopathology Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia;

**Kozlov V. A.**, academic RAS, M.D. D.S., Head of the Laboratory of Clinical immunopathology, scientific adviser Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia.

## АНАЛИЗ ПРИЧИН ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ОСОБЕННОСТЕЙ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ КУРСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2019 г. А. Д. Богомазов\*, Л. Ю. Зайцева, А. С. Серёжкина

\*E-mail: bogomazov71@mail.ru

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Курск, Россия

Поступила: 25.02.2019. Принята: 15.03.2019

Рост аллергических заболеваний в мире привлекает к этой проблеме все больше специалистов. По данным работ, проведенных в ГНЦ – Институте иммунологии МЗ РФ, распространенность аллергических заболеваний в различных регионах России колеблется от 15,0 до 35,0%. В нашем исследовании, проведенном на территории Курской области, мы изучили причины возникновения, а также особенности диагностики атопических заболеваний у детей.

**Ключевые слова:** атопические заболевания, бронхиальная астма, аллергический ринит, атопический дерматит, сенсибилизация, IgE

DOI: 10.31857/S102872210006442-1

**Адрес:** 305041 Курск, ул. К. Маркса, д. 3, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра педиатрии, Богомазов Алексей Дмитриевич. Тел.: 8 (910) 273 13 49 (моб.)

**E-mail:** bogomazov71@mail.ru

**Авторы:**

**Богомазов А. Д.**, к.м.н., доцент кафедры педиатрии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

**Зайцева Л. Ю.**, к.м.н., доцент кафедры педиатрии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

**Серёжкина А. В.**, ассистент кафедры педиатрии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия.

Самая частая ассоциация аллергических заболеваний – это бронхиальная астма (БА), аллергический ринит (АР) и атопический дерматит (АД). БА является актуальной проблемой здравоохранения. В мире около 300 млн. больных БА. АР и АД часто предшествуют БА и многими исследователями признаются как факторы риска ее развития [1, 2]. Основной причиной развития данных заболеваний является сенсибилизация организма к различным аллергенам. Во многих работах исследуется влияние уровня IgE на течение и прогноз различных аллергических заболе-

ваний. Концентрация его очень мала и составляет всего 0,004% от всех иммуноглобулинов [3]. Однако именно он рассматривается, как ключевой в возникновении реакций немедленного типа.

**Целью исследования** являлось изучение спектра сенсибилизации детей на территории Курской области, а также оценка диагностической значимости определения уровня общего IgE в сыворотке крови.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалами и методами послужило анкетирование и анализ историй болезней 302 пациентов проходивших лечение в аллергологическом отделении ОДКБ г. Курска в возрасте 3–17 лет, страдающих БА, АР и АД. Все эти пациенты обследованы на уровень общего IgE сыворотки методом ИФА, а также им проведены скарификационные кожные пробы (СКП).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проанализировав полученные данные нами было установлено, что при проведении СКП роли аллергенов распределились следующим образом:

1) травы: при БА астме преобладали реакции на полынь (22,0%), при аллергическом рините – на пырей (17,3%);

2) деревья: при БА чаще выявлялась сенсibilизация к аллергенам ольхи (10,8%) и березы (8,4%), при аллергическом рините к аллергенам березы (9,3%);

3) бытовые аллергены (домашняя пыль и клещи домашней пыли): сенсibilизация отмечена у 68,0% пациентов страдающих БА, 47,3% АР и 27,6% АД;

4) пищевые аллергены: при АД у 11,4% – белки куриного яйца, а при БА и АР у 5,3% – мед и 4,0% – лимон.

Чаще всего (65,0%), повышение общего IgE выявлялось у пациентов, которым был установлен диагноз АР, и лишь у 16,0% детей страдающих АД. При повторных обращениях, через 3 месяца, снижение уровня общего IgE отмечено только у 7,0% детей, при этом улучшение состояния на фоне проводимой терапии отмечали более 80,0% пациентов. У 2,0% больных с БА уровень IgE вырос, однако эти пациенты отмечали положительную динамику после проведенной стандартной базисной терапии. Отдельно следует остановиться на связи курения с уровнем общего Ig E. По данным литературы курение матери оказывает прямое действие на калибр развивающихся бронхов у плода, что сказывается на функции легких [4]. Нами установлены высокие корреляции между курением родителей и уровнем Ig E. Курение отца  $r=0,04$ ; курение матери  $r=0,003$ ; курение в квартире  $r=0,001$ . В настоящее время большое внимание предается изучению роли антиоксидантной системы в развитии аллергических реакций. В зависимости от полиморфизма генов кодирующих ферменты этой системы, формируются индивидуальные особенности редукс-гомеостаза и его ответной реакции на окислительный стресс [5].

## ВЫВОДЫ

- одной из главных причин, вызывающих обострения аллергических заболеваний у детей являются бытовые и пыльцевые аллергены;

- выявлено увеличение уровня IgE в сыворотке крови у детей курящих родителей;

- обследование пациентов на определение уровня общего IgE, не является четким диагностическим и прогностическим критерием аллергических заболеваний.

Таким образом, можно сделать заключение о большом разнообразии причин, приводящих к возникновению и обострению аллергических заболеваний у детей. При этом назначение определения общего иммуноглобулина E должно выполняться только врачом аллергологом-иммунологом, так как трактовка выявленных изменений неоднозначна и приводит к ошибкам в дальнейших действиях врача (назначение расширенных диет и т.д.).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы / под ред. А.С. Белевского. – М.: Российское респираторное общество, 2012. – 108 с., ил.]. 1. Аллергические болезни у детей: Руководство для врачей (Под ред. М.Я. Студеникина, И.И. Балаболкина). – М.: Медицина, 2003. – 352 с.
2. Яковлева А. В., Богомазов А. Д. Особенности клинического течения атопических заболеваний в зависимости от сочетания различных нозологических форм (бронхиальная астма, атопический дерматит, аллергический ринит). В сборнике: Материалы X Юбилейной Международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков. Под редакцией В.А. Лазаренко, И.Э. Есауленко, Р.Ш. Хасанова. 2016. С. 472.
3. Науга М., Гершвин М. Э. Секреты аллергологии и иммунологии. (Пер. с англ. Под ред. акад. РАМН Р.М. Хаитова). – М.: «Издательство Бином», 2004. – 320 с.
4. Simpson A, Maniatis N, Jury F, Cakebread JA, Lowe LA, Holgate ST, Woodcock A, Ollier WE, Collins A, Custovic A, Holloway JW, John SL. Polymorphisms in a disintegrin and metalloprotease 33 (ADAM33) predict impaired early-life lung function. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 55–60.
5. Полоников А. В., Иванов В. П., Богомазов А. Д., Солодилова М. А. Генетико-биохимические механизмы вовлеченности ферментов антиоксидантной системы в развитие бронхиальной астмы, Биомедицинская химия, 2015. Т. 61. – N4. – С. 427–439. [Polonikov A. V., Ivanov V. P., Bogomazov A. D., Solodilova M. A. Genetic and biochemical mechanisms of involvement of antioxidant defense enzymes in the development of bronchial asthma // *Biologicheskaya himiya*. 2015. Т. 61. – N4. – С. 427–439.]

**ANALYSIS OF THE CAUSES OF EMERGIND AND PECULIARITIES  
OF THE DIAGNOSTICS OF ALLERGIC DISEASES IN CHILDREN  
LIVING ON THE TERRITORY OF THE KURSK REGION**

© 2019 A. D. Bogomazov\*, L. Yu. Zaitseva, A. S. Seryozhkina

\*E-mail: bogomazov71@mail.ru

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

**Received:** 25.02.2019. **Accepted:** 15.03.2019

The growth of allergic diseases in the world attracts more and more specialists to this problem. According to the work carried out at the State Research Center – Institute of Immunology, Ministry of Health of the Russian Federation, the prevalence of allergic diseases in different regions of Russia ranges from 15.0 to 35.0%. In our study, conducted on the territory of the Kursk region, we studied the causes of, as well as the features of the diagnosis of atopic diseases in children.

*Key words:* atopic diseases, bronchial asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis, sensitization, IgE

**Authors:**

**Bogomazov A. D.**, ✉ PhD, Associate Professor, Department of Pediatrics, Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

**E-mail:** bogomazov71@mail.ru;

**Zaitseva L. Yu.**, PhD, Associate Professor, Department of Pediatrics, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Seryozhkina A. V.**, Assistant of the Department of Pediatrics, Kursk State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Kursk, Russia.

## ВЛИЯНИЕ ИНТЕРВАЛЬНОЙ ГИПОКСИТЕРАПИИ И ЭНТЕРАЛЬНОЙ ОКСИГЕНОТЕРАПИИ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКУЮ РЕАКТИВНОСТЬ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

© 2019 г. И. Х. Борукаева\*, З. Х. Абазова, М. Р. Рагимбекова, Ф. Х. Темиржанова

\* E-mail: irborukaeva@yandex.ru

ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия

Поступила: 23.02.2019. Принята: 13.03.2019

Бронхиальная астма – классическое, антигенспецифическое заболевание, в формировании которого решающее значение имеет реагизависимый тип аллергической реакции. Комбинированное применение интервальной гипокситерапии и энтеральной оксигенотерапии оказалось эффективным методом улучшения иммунологической реактивности у больных бронхиальной астмой. Достоверное возрастание содержания IgA в крови привело к усилению противомикробного и противовирусного иммунитета. Уменьшение содержания IgE в крови можно рассматривать как проявление уменьшения хронического воспалительного процесса в бронхиальном дереве больных и усиления противоинфекционного иммунитета. Достоверное увеличение содержания Т-лимфоцитов привело к улучшению клеточного и гуморального звеньев иммунитета и уменьшению иммунорегуляторного индекса

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, иммунологическая реактивность, интервальная гипокситерапия, энтеральная оксигенотерапия

DOI: 10.31857/S102872210006443-2

**Адрес:** 360000, Нальчик, ул. И. Арманд, 1, ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Борукаева Ирина Хасанбиевна. Тел. +79280807731(моб.). E-mail: irborukaeva@yandex.ru

**Авторы:**

**Борукаева И. Х.**, д.м.н., профессор кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия;

**Абазова З. Х.**, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия;

**Рагимбекова М. Р.**, аспирант кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия;

**Темиржанова Ф. Х.**, студентка 4 курса медицинского факультета ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова», Нальчик, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

В связи с высокой распространенностью бронхиальной астмы во всем мире изучение па-

тогенеза и разработка новых методов лечения остается одной из важнейших проблем современной иммунологии [1]. Бронхиальная астма нередко является причиной инвалидизации детей, часто продолжается в зрелом возрасте и приводит к ухудшению качества жизни больных и развитию серьезных осложнений [1, 2]. Поэтому весьма важным для клинической медицины является разработка эффективных методов лечения бронхиальной астмы, основанных на знании механизмов патогенеза. Комбинированное использование интервальной гипокситерапии (ИГТ) и энтеральной оксигенотерапии весьма эффективно для лечения некоторых заболеваний [3, 4].

**Цель работы:** выявить влияние комбинированного применения интервальной гипокситерапии (ИГТ) и энтеральной оксигенотерапии на иммунологическую реактивность у больных бронхиальной астмой.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОД

Обследовано 320 больных с бронхиальной астмой легкой и средней степенью тяжести. Больные были разделены на 2 возрастные группы: 8–12 лет и 13–16 лет. Комбинированное лечение, включающее ИГТ и энтеральную оксигенотерапию, прошли все больных бронхиальной астмой.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У больных совместное применение ИГТ и энтеральной оксигенотерапии оказало существенное влияние на иммунологическую реактивность. После комбинированного метода отмечалось достоверное ( $p < 0,01$ ) увеличение количества Т-лимфоцитов CD3<sup>+</sup>, Т-лимфоцитов CD4<sup>+</sup>. Об улучшении клеточного звена иммунитета свидетельствовало достоверное ( $p < 0,01$ ) возрастание содержания Т лимфоцитов CD8<sup>+</sup>. После лечения достоверно ( $p < 0,01$ ) возросло содержание иммуноглобулинов А, М и G. Важным результатом комбинированного метода лечения явилось достоверное ( $p < 0,001$ ) уменьшение содержания в крови общего иммуноглобулина Е у всех больных, что свидетельствовало об уменьшении хронического воспалительного процесса в бронхиальном дереве. Достоверно ( $p < 0,05$ ) снизилось содержание ЦИК у всех больных, что характеризовало снижение сенсибилизации.

Достоверное возрастание содержания IgA в крови привело к усилению противомикробного и противовирусного иммунитета. Уменьшение содержания IgE в крови можно рассматривать как проявление уменьшения хронического воспалительного процесса в бронхиальном дереве больных и усиления противоинфекционного иммунитета. Достоверное увеличение содержания Т-лимфоцитов привело к улучшению клеточного и гуморального звеньев иммунитета и уменьшению иммунорегуляторного индекса. Комбинированный метод лечения оказал на детей 8–12 лет более выраженный эффект, чем на больных 13–16 лет, что можно объяснить гормональными изменениями в подростковом периоде. Изменения показателей у больных 13–16 лет также были достоверными, что доказывает эффективность комбинированного лечения и у этой категории больных.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, для больных бронхиальной астмой комбинированный метод лечения оказался эффективным средством коррекции иммунологической реактивности. Он способствовал усилению противомикробного, противовирусного, противовоспалительного иммунитета.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Иванова Е. В., Биличенко Т. Н., Чучалин А. Г. Заболеваемость и смертность населения трудоспособного возраста России по причине болезней органов дыхания в 2010–2012 гг. // Пульмонология. – 2015. – № 3. – С. 291–297. [Ivanova E. V., Biliichenko T. N., Chuchalin A. G. Morbidity and mortality of the working-age population of Russia due to respiratory diseases in 2010–2012. // Pulmonology. – 2015. – № 3. – p. 291–297.]
2. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (GINA): Пересмотр 2017 г.: пер. с англ. М. – 2017. – 160 с. [Global strategy for the treatment and prevention of bronchial asthma (GINA): Revision of 2017: trans. from English M. – 2017. – 160 p.]
3. Борукаева И. Х., Шауцуква Л. З., Шавеева Ф. В. Нормобарическая интервальная гипокситерапия и энтеральная оксигенотерапия в лечении подростков с бронхиальной астмой. Современные проблемы науки и образования. 2015; 5; URL: [www.science-education.ru/128-22605](http://www.science-education.ru/128-22605) (дата обращения: 06.11.2015). [Borukaeva I. Kh., Shautsukova L. Z., Shavaeva F. V. Normobaric interval hypoxithery and enteral oxygen therapy in the treatment of adolescents with bronchial asthma. Modern problems of science and education. 2015; five; URL: [www.science-education.ru/128-22605](http://www.science-education.ru/128-22605) (appeal date: 11/06/2015).]
4. Агапитов А. Е. Обоснование и применение энтеральной оксигенотерапии как метода первичной медицинской профилактики основных неинфекционных заболеваний. // В кн.: Актуальные вопросы развития профилактической медицины и формирования здорового образа жизни: Сборник научных статей / под ред. А. Е. Агапитова. Иркутск: РИО ИГИУВа. – 2016. – 152 с. [Agapitov A. E. The rationale and use of enteral oxygen therapy as a method of primary medical prevention of major non-communicable diseases. // In the book: Actual issues of the development of preventive medicine and the formation of a healthy lifestyle: Collection of scientific articles / ed. A. E. Agapitova. Irkutsk: RIO IGIUV. – 2016. – 152 c.]

**EFFECT OF INTERVAL HYPOXYTHERAPY AND ENTERAL  
OXYGENOTHERAPY ON IMMUNOLOGICAL REACTIVITY  
IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA**

© 2019 **I. Kh. Borukaeva\***, **Z. Kh. Abazova**, **M. R. Ragimbekova**,  
**F. Kh. Temirzhanova**

*\*E-mail: irborukaeva@yandex.ru*

*Kabardino-Balkarian State University named after Kh. M. Berbekova,  
Nalchik, Russia,*

**Received:** 23.02.2019. **Accepted:** 13.03.2019

Bronchial asthma is a classic, antigen-specific disease, in the formation of which the reagin-dependent type of allergic reaction is crucial. The combined use of interval hypoxitherapy and enteral oxygen therapy has proven to be an effective method for improving immunological reactivity in patients with bronchial asthma. A significant increase in the content of IgA in the blood led to increased antimicrobial and antiviral immunity. The decrease in the content of IgE in the blood can be seen as a manifestation of a decrease in the chronic inflammatory process in the bronchial tree of patients and an increase in anti-infective immunity. A significant increase in the content of T-lymphocytes led to an improvement in cellular and humoral immunity and a decrease in immuno-regulatory index.

*Key words:* bronchial asthma, immunological reactivity, interval hypoxitherapy, enteral oxygen therapy

**Authors:**

**Borukaeva I. Kh.**, ✉ Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Normal and Pathological Physiology of the Kabardino-Balkarian State University named after Kh. M. Berbekova, Nalchik, Russia. **E-mail:** irborukaeva@yandex.ru;

**Abazova Z. Kh.**, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Normal and Pathological Physiology of the Kabardino-Balkarian State University named after Kh. M. Berbekova, Nalchik, Russia;

**Ragimbekova M. R.**, Postgraduate Student, Department of Normal and Pathological Physiology, Kabardino-Balkarian State University named after Kh. M. Berbekova Nalchik, Russia;

**Temirzhanova F. Kh.**, 4th year student of the Medical Faculty of the Kabardino-Balkarian State University named after Kh. M. Berbekova, Nalchik, Russia.

## ИМУНОРЕАБИЛИТАЦИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

© 2019 г. Н. А. Быстрова\*, А. А. Шульгинова, О. А. Суняйкина, Д. О. Машошина

\*E-mail: nabistrova@gmail.com

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Курск, Россия

Поступила: 24.02.2019. Принята: 14.03.2019

Обследовано 26 пациентов неврологического отделения БМУ «Курская областная клиническая больница» с хронической ишемией мозга II стадии на фоне гипертонической болезни II стадии. Все были разделены поровну методом случайной рандомизации и получали в течение две недели комплексную базовую фармакологическую терапию (эналаприл, винпоцетин, цераксон и мексикор). Половина пациентов дополнительно получали полиоксидоний. Иммунные нарушения оценивали по показателям в периферической крови функционально-метаболической активности нейтрофилов, уровню в плазме цитокинов, компонентов комплемента и их ингибиторов. До начала лечения выявлены нарушения, свидетельствующие о наличии иммунного воспаления. Включение в комплексную фармакотерапию полиоксидония эффективно корректирует измененные показатели иммунного статуса.

**Ключевые слова:** хроническая ишемия мозга, иммунные нарушения, полиоксидоний

DOI: 10.31857/S102872210006444-3

**Адрес:** 305041 Курск, ул. Карла Маркса, д.3; ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра биологической химии. Быстрова Наталья Анатольевна.  
Тел.: +7 (4712) 588146, +7910 3145209 (моб.).

**E-mail:** nabistrova@gmail.com

**Авторы:**

**Быстрова Н. А.**, д.м.н., профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

**Шульгинова А. А.**, к.м.н., ассистент кафедры неврологии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

**Суняйкина О. А.**, к.м.н., доцент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

**Машошина Д. О.**, студентка 5 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

Основными причинами возникновения хронической ишемии мозга (ХИМ) являются атеросклероз, артериальная гипертония, сахарный диабет, сочетание данных патологий, а в его патогенезе большое значение имеет активация перекисного окисления липидов, оксидантный стресс, иммунологическая и эндотелиальная

дисфункция, воспаление [1–5]. Совершенствование представлений о роли иммунитета в патогенезе ХИМ имеет большое значение для обоснованного применения иммуномодуляторов в комплексной фармакотерапии данного заболевания.

В связи с этим целью исследования стало установление эффективности полиоксидония в коррекции иммунных нарушений у пациентов с хронической ишемией головного мозга.

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Обследовано 26 пациентов неврологического отделения БМУ «Курская областная клиническая больница» с ХИМ II стадии на фоне гипертонической болезни II стадии. Все были разделены поровну методом случайной рандомизации и получали в течение 14 дней комплексную базовую фармакологическую терапию (БФТ) (эналаприл, винпоцетин, цераксон и мексикор). Половина пациентов дополнительно получали полиоксидоний. Контрольную группу составили 15 здоровых доноров. Цитокины (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IFN $\gamma$ , IL-2, IL-17,

IL-18, G-CSF, IL-4, IL-10, IL-1RA), выявляли методом твердофазного ИФА с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), компоненты системы комплемента (C<sub>3</sub>, C<sub>3a</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>5a</sub>) и фактор Н диагностическим набором ООО «Цитокин» (Россия). Фагоцитарную активность полиморфно-ядерных лейкоцитов крови оценивали по фагоцитарному индексу (ФИ), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ). Активность кислород-зависимых систем нейтрофилов оценивали спектрофотометрически по реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), спонтанного и стимулированного зимозаном (НСТ-сп., НСТ-ст.), индексу стимуляции и функциональному резерву нейтрофилов (ИСН, ФРН). С помощью пакета компьютерной программы Statistica 8 проводили статистическую обработку результатов путем вычисления медианы (Me) с межквартильным интервалом (P25; P75). Существенность различий оценивали по U-критерию. Статистически значимыми считали различия с  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В плазме крови больных ХИМ до начала лечения установлено повышение концентрации про- (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17 и IL-18), противовоспалительных (IL-4, IL-10 и IL-1RA), IFN $\gamma$ , IL-2, G-CSF цитокинов, снижение содержания C<sub>3</sub> и C<sub>5</sub>-компонентов комплемента, C<sub>1</sub>-ингибитора, повышение компонентов C<sub>3a</sub> и C<sub>5a</sub>. Уровень C<sub>4</sub>, ингибитора фактора Н, активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов (ФИ, ФЧ и ИАФ) осталась в пределах значений здоровых доноров, но выявлено повышение всех исследованных параметров активности кислород-зависимых систем полиморфно-ядерных лейкоцитов (НСТ-сп., НСТ-ст., ФРН, ИСН).

После курса БФТ у пациентов с ХИМ нормализовалась концентрация компонентов комплемента C<sub>3</sub> и C<sub>3a</sub>, в сторону значений здоровых доноров корригировался уровень C<sub>5</sub> и C<sub>5a</sub>, провоспалительных цитокинов, еще больше повышалось содержание IFN $\gamma$ , IL-4 и IL-1RA. Показатели функционально-метаболической активности нейтрофилов не изменились. Включение в схему фармакотерапии полиоксидония дополнительно, по сравнению с БФТ, нормали-

зовало в плазме крови содержание IL-17, G-CSF, C<sub>5</sub>-компонента комплемента, корригировало в сторону значений здоровых доноров концентрацию TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-2, C<sub>3a</sub>-компонента, кислород-зависимую активность нейтрофилов и еще в большей степени повышало содержание всех исследованных противовоспалительных цитокинов и ингибиторов системы комплемента.

Полученные данные свидетельствуют о серьезных иммунных нарушениях при ХИМ, которые достаточно успешно корригируются введением полиоксидония в базовую фармакологическую терапию.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Гаврилюк Е. В., Конопля А. И., Караулов А. В. Роль иммунных нарушений в патогенезе артериальной гипертонии. Иммунология. 2016, 37(1), 29–35. [Gavriiliuk E. V., Konoplya A. I., Karaulov A. V. Role of immune disturbances in the pathogenesis of the arterial hypertension. Immunologiya. 2016, 37(1), 29–35.]
2. Гусев Е. И., Чуканова А. С. Современные патогенетические аспекты формирования хронической ишемии мозга. Журнал неврологии и психиатрии. 2015, 115(3), 4–8. [Gusev E. I., Chukanova A. S. Modern pathogenetic aspects of development of cerebral chronic ischemia. Journal of neurology and psychiatry. 2015, 115(3), 4–8.]
3. Конопля А. И., Ласков В. Б., Шулгинова А. А. Иммунные и оксидантные нарушения у больных хронической ишемией мозга и их коррекция. Журнал неврологии и психиатрии. 2015, 115(11), 28–32. [Konoplya A. I., Laskov V. B., Shul'ginova A. A. Immune and oxygen disturbances in patients with chronic cerebral ischemia and their correction. Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S. S. Korsakova. 2015, 115(11), 28–32.]
4. Неврология: национальное руководство. / Под ред. Боголепова А. Н., Мартынов М. Ю. ГЭОТАР-Медиа, Москва 2018. том 1 (2-е издание, перер. и доп.), 880. [Nevrologiya: nacional'noe rukovodstvo. / Pod red. Bogolepova A. N., Martynov M. Yu. GENOTAR-Media, Moskva 2018. tom 1 (2-e izdanie, perer. i dop.), 880.]
5. Шулгинова А. А., Конопля А. И., Быстрова Н. А., Гаврилюк В. П., Караулов А. В. Коррекция иммунных нарушений при хронической ишемии головного мозга. Медицинская иммунология. 2018, 20(3), 401–410. [Shulginova A. A., Konoplya A. I., Bystrova N. A., Gavriilyuk V. P., Karaulov A. V. Correction of immune disorders in chronic cerebral ischemia. Medical immunology. 2018, 20(3), 401–410.]

## IMMUNORABILITATION IN CHRONIC ISCHEMIA OF THE BRAIN

© 2019 N. A. Bystrova\*, A. A. Shulginova, O. A. Sunyaykina,  
D. O. Mashoshina

\*E-mail: nabistrova@gmail.com  
Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Received: 24.02.2019. Accepted: 14.03.2019

We examined 26 patients of the neurological department of the BMU “Kursk Regional Clinical Hospital” with chronic cerebral ischemia stage II against the background of hypertensive disease stage II. All were divided equally by random randomization and within two weeks received a comprehensive basic pharmacological therapy (enalapril, vinpocetine, ceraxon and mexicor). Half of the patients additionally received polyoxidonium. Immune disorders were assessed by indicators in the peripheral blood of the functional metabolic activity of neutrophils, plasma levels of cytokines, complement components and their inhibitors. Prior to treatment, violations indicating the presence of immune inflammation were identified. Inclusion of polyoxidonium into the complex pharmacotherapy effectively corrects the altered immune status parameters.

*Key words:* chronic brain ischemia, immune disorders, polyoxidonium

### Authors:

**Bystrova N. A.**, ✉ Doctor of Medicine, Professor, Department of Biochemistry, Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

**E-mail:** nabistrova@gmail.com;

**Shulginova A. A.**, PhD in Medicine, Assistant of the Department of Neurology and Neurosurgery, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Sunyaykina O. A.**, PhD in Medicine, Associate Professor, Department of Biochemistry, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Mashoshina D. O.**, 5th year student of the medical faculty of the Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

## ВОЗМОЖНОСТИ ЛАБОРАТОРИИ В ДИАГНОСТИКЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

© 2019 г. Н. В. Бычкова<sup>1,2</sup>

E-mail: BNV19692007@yandex.ru

<sup>1</sup>ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>СПбГМУ им. академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Реакции лекарственной гиперчувствительности не часто встречаются в популяции, но в каждом конкретном случае представляют серьезную проблему для пациентов и медиков. Диагностика лекарственной гиперчувствительности состоит из комплекса клинических и лабораторных методов. Перспективным методом *in vitro* диагностики является тест активации базофилов. В исследовании показана высокая диагностическая значимость данного теста в определении сенсибилизации к рентгеноконтрастным веществам и местным анестетикам. Наличие сенсибилизации *in vitro* к лекарственным препаратам может носить латентный характер и клинически проявиться лишь при нарушении регуляторных возможностей организма.

**Ключевые слова:** лекарственная гиперчувствительность, тест активации базофилов

DOI: 10.31857/S102872210006446-5

Адрес: 197345, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54, ФГБУ ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России, лаборатория клинической иммунологии, Бычкова Наталия Владимировна. Тел: 89213201262 (моб.).

E-mail: BNV19692007@yandex.ru

Автор:

Бычкова Н. В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии отдела лабораторной диагностики ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС России, доцент кафедры иммунологии СПбГМУ им. академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Реакции лекарственной гиперчувствительности (ЛГ) составляют около 15% от всех неблагоприятных реакций при использовании лекарственных средств, общая распространенность в популяции по результатам метаанализа составляет 7,9% [1]. Они непредсказуемы, часто являются жизнеугрожающими. Частота встречаемости реакций немедленной гиперчувствительности на введение йодсодержащих рентгеноконтрастных веществ составляет 2,1%, при этом в 0,01% встречаются тяжелые реакции [2], для местных анестетиков частота составляет 0,1–1% [3].

Существуют определенные сложности диагностики ЛГ. Провокационные тесты небез-

опасны для пациента, кожное тестирование часто имеет низкую диагностическую чувствительность, тесты *in vitro* трудоемки, недостаточно стандартизованы, разработаны не для всех механизмов реакции.

В комплексной диагностике, согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению лекарственной аллергии (2014), используются данные анамнеза, физикальное обследование, провокационные тесты *in vivo*, тест торможения естественной эмиграции лейкоцитов по А. Д. Адо, кожное тестирование, а также лабораторные методы исследования.

Лабораторные тесты выявления ЛГ могут быть неспецифическими, подтверждающими тяжесть состояния пациента (например, определение триптазы для оценки анафилаксии) либо специфическими, направленными на выявление причинно-значимого аллергена (определение специфических IgE к действующему веществу лекарственного средства, оценка эффекта воздействия препарата на пролиферативную активность лимфоцитов или активацию базофильных гранулоцитов). Многие реакции на лекарственные средства не IgE зависимы, что снижает информативность использования специфических IgE к лекарственным веществам. В последнее

время показана высокая диагностическая значимость определения непереносимости лекарственных средств по выявлению генетических маркеров для некоторых препаратов – абакавир, карбамазепин, аллопуринол [4]. Перспективным методом для выявления лекарственной гиперчувствительности является тест активации базофилов, который позволяет оценивать как IgE, так и не IgE зависимые реакции [5].

**Целью работы** было оценить диагностическую значимость теста активации базофилов в диагностике сенсibilизации к йодсодержащим рентгеноконтрастным веществам (РКВ) и препаратам для местной анестезии (МА).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В тесте активации базофилов оценена реакция 124 пациентов (средний возраст 60 лет) на препараты ультравист, омнипак, оптирей (разведение 1:30). Анамнез известен у 94 пациентов: 14 – поливалентная лекарственная непереносимость, 42 – местные реакции на йод, 2 – токсическая реакция на введение РКВ, 36 – аллергическая реакция на введение РКВ.

В тесте активации базофилов оценена реакция 189 человек (средний возраст 37 лет) на местные анестетики группы ультракаина, лидокаина, мепивакаина (разведение 1:30). Пациенты страдали поливалентной пищевой и/или лекарственной непереносимостью.

Тест активации базофилов проводили методом проточной цитометрии (Allergenicity kit, Cytomics FC500, Beckman Coulter).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сенсibilизация *in vitro* на какой-либо РКВ выявлена у 20% пациентов с легкой степенью реакции *in vivo* на йодсодержащие препараты, у 59% – с реакциями средней степени тяжести. Среди РКВ не выявлено превалирования частоты встречаемости сенсibilизации *in vitro* ни к одному из тестируемых препаратов. У всех 10 человек со средней степенью тяжести реакции *in vivo* на введение известного РКВ в тесте активации базофилов была подтверждена сенсibilизация к данному препарату. У 1-го пациента выявлена реакция *in vitro* на все 3 исследованных препарата. У 28 пациентов было возможным подобрать препарат, не вызывающий активацию базофилов *in vitro*. Ретроспективное исследование (n=89) не выявило тяжелых и средней тяжести аллергических реакций

на введение рекомендованных РКВ после тестирования *in vitro*. У двух пациентов (3,1%) выявлены отсроченные (2–24 часа) реакции легкой степени тяжести.

При исследовании местных анестетиков наименьшая сенсibilизация *in vitro* выявлена у пациентов на препараты группы лидокаина (8%) и мепивакаина (3%). Среди препаратов группы ультракаина наибольшая частота положительных реакций выявлена для ультракаина Д-С (41%) и септанеста (36%). Реже всего сенсibilизация *in vitro* обнаружена для ультракаина Д (18%). Ретроспективное исследование (n=89) показало отсутствие аллергических реакций при использовании рекомендованных анестезирующих препаратов у всех обследованных пациентов, которые их применяли.

Считается, что истинные аллергические реакции на местные анестетики встречаются крайне редко, чаще клинические проявления обусловлены вазовагальным или токсическим действием препарата, а также входящими в состав добавками и консервантами. Выявленная в нашем исследовании низкая частота встречаемости сенсibilизации *in vitro* к лидокаину, мепивакаину и ультракаину Д, в составе которых нет консервантов и стабилизаторов, подтверждает это положение.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тест активации базофилов является высокоинформативным лабораторным методом для выявления сенсibilизации к йодсодержащим рентгеноконтрастным веществам и препаратам для местной анестезии. При этом необходимо иметь в виду, что наличие сенсibilизации *in vitro* к какому-либо препарату может носить латентный характер и клинически проявиться лишь при нарушении регуляторных возможностей организма.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sousa-Pinto B., Fonseca J.A., Gomes E.R. Frequency of self-reported drug allergy: A systematic review and meta-analysis with meta-regression. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2017, 119(4), 362–373.
2. Kim M.H., Park C.H., Kim D.I., Kim K.M., Kim H.K., Lim K.H., Song W.J., Lee S.M., Kim S.H., Kwon H.S., Park H.W., Yoon C.J., Cho S.H., Min K.U., Kim Y.Y., Chang Y.S. Surveillance of contrast-media-induced hypersensitivity reactions using signals from an electronic medical recording system. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012, 108(3), 167–71.

3. Fisher M. M., Bowey C. J. Alleged allergy to local anaesthetics. *Anaesth Intensive Care*. 1997, 25, 611–614.
4. Pirmohamed M., Ostrov D. A., Park B. K. New genetic findings lead the way to a better understanding of fundamental mechanisms of drug hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol*. 2015, 136(2), 236–244.
5. Hoffmann H. J., Santos A. F., Mayorga C., Nopp A., Eberlein B., Ferrer M., Rouzair P., Ebo D. G., Sabato V., Sanz M. L., Pecaric-Petkovic T., Patil S. U., Hausmann O., Shreffler W. G., Korosec P., Knol E. F. The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease. *Allergy*. 2015, 70, 1393–1405.

## LABORATORY POSSIBILITY IN THE DIAGNOSIS OF DRUG HYPERSENSITIVITY

© 2019 N. V. Bychkova<sup>1,2</sup>

E-mail: BNV19692007@yandex.ru

1NRCERM EMERCOM of Russia, Saint-Petersburg, Russia;

2Saint-Petersburg State Medical University named after I. P. Pavlov, Saint-Petersburg, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 26.03.2019

Drug hypersensitivity reactions are not very common in the population, but can be a serious problem for patients and physicians. Diagnosis of this disorder should consist of a complex of clinical and laboratory methods. A promising method of *in vitro* diagnostics is the basophil activation test. The study showed the high diagnostic significance of this test in determining hypersensitivity to radiocontrast media and local anesthetics. The presence of *in vitro* hypersensitivity to drugs can be latent in nature and manifest itself clinically only if the regulatory capabilities are impaired.

*Key words:* drug hypersensitivity, basophil activation test

### Author:

**Bychkova N. V.**, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Clinical Immunology of the Department of Laboratory Diagnostics The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine EMERCOM of Russia, Saint-Petersburg, Russia, Assistant-Professor of the Department of Immunology Saint-Petersburg State Medical University named after I. P. Pavlov, Saint-Petersburg, Russia.

## ФАКТОРЫ ИММУНОЭНДОКРИННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ НА ЭТАПЕ ФОРМИРОВАНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ РЕМИССИИ

© 2019 г. Т. П. Ветлугина\*, В. Б. Никитина, А. И. Мандель, А. С. Бойко, В. Д. Прокопьева, Н. А. Бохан

\*E-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru

Научно-исследовательский институт психического здоровья ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (НИИ психического здоровья Томского НИМЦ), Томск, Россия

Поступила: 07.03.2019. Принята: 20.03.2019

Цель исследования – изучение динамики иммуноэндокринных факторов у больных с алкогольной зависимостью в процессе терапии абстинентного синдрома и постабстинентного состояния. У 35 мужчин с алкогольной зависимостью в динамике формирования терапевтической ремиссии исследовали уровень спонтанной продукции иммунокомпетентными клетками спектра цитокинов; в сыворотке крови – гормонов. Контроль – 19 практически здоровых мужчин. Установлена гиперпродукция провоспалительных цитокинов, повышение концентрации кортизола, снижение концентрации Т3 и Т4. Выявлена зависимость  $IFN\gamma$ , IL-1ra, IL-2 и тестостерона от особенностей ремиссии, что позволяет рассматривать эти факторы в качестве кандидатов в биомаркеры прогноза устойчивости ремиссии.

**Ключевые слова:** цитокины, гормоны, алкогольная зависимость, абстинентный синдром, постабстинентное состояние, ремиссия

DOI: 10.31857/S102872210006447-6

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, 4., НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, лаборатория клинической психонейроиммунологии и нейробиологии. Ветлугина Тамара Парфеновна. Тел. +7(3822)724–415, +79138890190 (моб.)

E-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru

**Авторы:**

**Ветлугина Т. П.**, д-р биол. наук, проф., заслуженный деятель науки РФ, в.н.с. лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, руководитель отдела биологической психиатрии и наркологии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Никитина В. Б.**, д-р мед. наук, заведующая лабораторией клинической психонейроиммунологии и нейробиологии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Мандель А. И.**, д-р мед. наук, проф., в.н.с. отделения аддиктивных состояний НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Бойко А. С.**, канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Прокопьева В. Д.**, д-р биол. наук, в.н.с. лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Бохан Н. А.**, д-р мед. наук, проф., академик РАН, заведующий отделением аддиктивных состояний, директор НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Длительное употребление алкоголя сопровождается нарушением нейроиммуноэндокринных процессов, приводящим к срыву нейрогуморальных компенсаторных механизмов и формированию алкогольной зависимости [1]. Существующие методы лечения больных алкоголизмом, как правило, не являются гарантией стойкой ремиссии, достигнутой в результате интенсивной терапии [2]. Актуальной проблемой наркологии остается поиск биологических маркеров эффективности терапии при алкогольной зависимости и прогноза длительности терапевтической ремиссии. В данном аспекте представляет интерес изучение иммуноэндокринных факторов у больных алкоголизмом на этапе формирования терапевтической ремиссии.

**Целью** настоящего исследования было изучение динамики иммуноэндокринных факторов у больных с алкогольной зависимостью в процессе терапии абстинентного синдрома и постабстинентного состояния.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В группу обследования были включены 35 мужчин в возрасте 18–55 лет с диагнозом по МКБ-10 «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя (синдром зависимости – F10.21 и синдром отмены – F10.30). Лабораторные исследования пациентов проведены на этапе формирования терапевтической ремиссии в динамике терапии абстинентного синдрома и постабстинентного состояния: 1 точка на 3–5 день поступления пациента в стационар; 2 точка – на 20 ( $\pm 5$ ) день терапии. Контролем при биологических исследованиях служили образцы крови 19 практически здоровых мужчин соответствующего возраста. Уровень спонтанной продукции цитокинов (IFN $\gamma$ , IL-17A, IL-1ra, IL-1b, IL-2, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ) иммунокомпетентными клетками (ИКК) определяли по их концентрации в супернатантах культуры крови в среде DMEM на мультиплексном анализаторе MAGPIX (Luminex, USA) с наборами реагентов производства MILLIPLEX $\text{®}$  MAP (Merck, Darmstadt, Germany). Концентрацию гормонов в сыворотке крови (кортизол, тестостерон, тиреотропный гормон – ТТГ, трийодтиронин свободный – Т3, тироксин свободный – Т4) определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов ИФА-БЕСТ (ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ», Новосибирск, Россия). Исследование с участием людей проведено с соблюдением принципов информированного согласия и одобрено Локальным этическим комитетом при НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 112 от 26.06.2018 г.). Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета программ STATISTICA для Windows, версия 12.0. Описательная статистика представлена медианой (Me) и межквартильным интервалом (LQ–UQ). Использовали уровень достоверности  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 1 точке выявлено повышение спонтанной продукции практически всех цитокинов, и концентрация их в супернатантах культуры клеток крови здоровых лиц и пациентов составила в pg/ml соответственно: IFN $\gamma$ : 0,13 (0,060–2,68); 7,66 (6,78–8,56),  $p = 0,0006$ ; IL-17A: 1,19 (0,10–8,28); 8,66 (8,38–9,03),  $p = 0,00002$ ; IL-1ra: 4,47 (1,0–7,33); 27,06 (24,85–27,45),  $p = 0,0002$ ; IL-1b: 3,85 (0,50–8,07); 4,06 (3,73–4,56),  $p = 0,046$ ; IL-2: 1,91 (0,06–1,25); 2,41 (2,29–2,64),  $p = 0,004$ ; IL-6: 3,46 (0,64–13,42); 10,63 (7,17–11,00),  $p = 0,24$ ;

IL-8: 262,34 (75,26–625,41); 232,08 (15,41–289,41),  $p = 1,0$ ; TNF $\alpha$ : 5,62 (0,95–6,98); 11,11 (10,18–12,52),  $p = 0,026$ . Во второй точке обследования цитокиновый профиль практически не изменялся. Показано, что длительное употребление алкоголя приводит к каскаду воспалительных реакций с увеличением продукции провоспалительных цитокинов активированной микроглией и периферическими лимфоцитами [3].

Исследование гормонального спектра установило в 1 точке повышение по сравнению с контролем концентрации кортизола (717,17 (426,30–965,40), в контроле 465,80 (365,09–503,96) нмоль/л,  $p = 0,000001$ ); тестостерона (19,53 (15,61–25,42), в контроле 17,14 (12,79–20,36) нмоль/л,  $p = 0,012$ ); снижение концентрации Т3 (3,23 (2,84–3,58), в контроле (5,45 (5,00–6,09) пмоль/л,  $p = 0,000004$ ) и Т4 (8,47 (6,89–10,21), в контроле (11,07 (9,70–12,71) пмоль/л,  $p = 0,0002$ ).

Во второй точке обследования установлено дальнейшее повышение концентрации кортизола ( $p = 0,0397$  относительно к 1 точке) и снижение концентрации тестостерона до уровня контроля и по сравнению с 1 точкой обследования ( $p = 0,0055$ ). Считается, что длительное чрезмерное потребление алкоголя, а также его отмена являются мощным стрессором, стимулирующим гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось и синтез глюкокортикоидов, вызывая стойкую дисрегуляцию систем вознаграждения мозга [4]. Известно также, что гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось влияет на гипоталамо-гипофизарно-гонадную систему, вступая с ней в реципрокные отношения.

Проведен предварительный анализ клинико-биологических взаимосвязей. Рассматривались группы пациентов с безремиссионным течением и неустойчивой ремиссией длительностью 1–6 месяцев (1 группа) и с полной ремиссией длительностью 1–2 года и более (2 группа). В 1 точке исследования у пациентов 1 группы по сравнению с пациентами 2 группы установлен высокий уровень спонтанной продукции IFN $\gamma$  (15,07 (11,84–21,3) и 7,44 (6,78–8,33) pg/ml,  $p = 0,03$ ); IL-1ra (32,53 (29,16–35,91) и 24,00 (21,77–26,15), pg/ml,  $p = 0,05$ ); IL-2 (5,21 (3,15–6,06) и 2,58 (2,53–2,76) pg/ml,  $p = 0,04$ ). Кроме того, в сыворотке крови пациентов 1 группы концентрация тестостерона была достоверно выше по сравнению с контролем (22,38 (19,50–26,90) нмоль/л,  $p = 0,012$ ), тогда как во 2 группе этот параметр значимо не отличался от контроля (19,46 (17,90–22,33) нмоль/л,  $p = 0,118$ ). В лите-

ратуре обсуждаются половые различия в эпидемиологии, этиологии и патогенезе алкогольной зависимости. Показано, что у мужчины с высоким уровнем тестостерона чаще диагностируется алкогольная зависимость, чем у мужчин с низким уровнем тестостерона [5].

В целом, проведенные исследования выявили у больных с алкогольной зависимостью в динамике формирования терапевтической ремиссии гиперпродукцию провоспалительных цитокинов, повышение концентрации кортизола. Выявлена зависимость продукции ряда цитокинов и концентрации тестостерона от особенностей ремиссии, которые в дальнейшем могут рассматриваться в качестве кандидатов для включения в состав комплексного биомаркера оценки эффективности терапии и прогноза устойчивости ремиссии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Томской области в рамках научного проекта № 18-44-700002/18.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Vetreno R. P., Crews F. T.* Current hypotheses on the mechanisms of alcoholism. *Handb Clin Neurol.* 2014, 125, 477–497. doi: 10.1016/B978-0-444-62619-6.00027-6
2. *Мандель А. И., Артемьев И. А., Ветлугина Т. П., Иванова С. А., Невидимова Т. И., Прокопьева В. Д., Аболонин А. Ф., Шушпанова Т. В.* Биологические предикторы, клинико-патогенетические механизмы формирования и профилактика аддиктивных состояний в различных социальных группах (итоги комплексной темы НИР ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН, 2009–2012 гг.) *Сибирский вестник психиатрии и наркологии.* 2013, 4(79), 40–48. [*Mandel A. I., Artemyev I. A., Vetlugina T. P., Ivanova S. A., Nevidimova T. I., Prokopyeva V. D., Abolonin A. F., Shushpanova T. V.* Biological predictors, clinical-pathogenetic mechanisms of formation and prevention of addictive states in various social groups (results of the complex research topic of the FSBI NIIPZ, SB RAMSci, 2009–2012). *Siberian Journal of Psychiatry and Addiction Psychiatry.* 2013, 4 (79), 40–48.]
3. *Crews F. T., Lawrimore C. J., Walter T. J., Coleman L. G. Jr.* The role of neuroimmune signaling in alcoholism. *Neuropharmacology.* 2017, 1, 122, 56–73. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.01.031
4. *Blaine S. K., Sinha R.* Alcohol, stress, and glucocorticoids: From risk to dependence and relapse in alcohol use disorders. *Neuropharmacology.* 2017, 122, 136–147. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.01.037.
5. *Lenz B., Müller C. P., Stoessel C., Sperling W., Biermann T., Hillemecher T., Bleich S., Kornhuber J.* Sex hormone activity in alcohol addiction: integrating organizational and activational effects. *Prog Neurobiol.* 2012, 96(1), 136–63. doi: 10.1016/j.pneurobio.2011.11.001.

### FACTORS OF IMMUNOENDOCRINE REGULATION IN ALCOHOL DEPENDENCE AT THE STAGE OF FORMATION OF THERAPEUTIC REMISSION

© 2019 T. P. Vetlugina\*, V. B. Nikitina, A. I. Mandel, A. S. Boiko,  
V. D. Prokopyeva, N. A. Bokhan

\*E-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center  
of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Received: 07.03.2019. Accepted: 20.03.2019

The aim of the study was to study the dynamics of the immunoendocrine factors in patients with alcohol dependence in the process of therapy of withdrawal syndrome and post-withdrawal state. In 35 men with alcohol dependence in the dynamics of formation of therapeutic remission, the level of spontaneous production of spectrum of cytokines by immunocompetent cells was investigated; in the blood serum – hormones. Control – 19 practically healthy men. Hyperproduction of proinflammatory cytokines, increase in the concentration of cortisol, decrease in the concentration of T3 and T4 were established. Dependence of IFN $\gamma$ , IL-1ra, IL-2 and testosterone on character of remission was revealed that allows considering these factors as candidates into biomarkers of prediction of the stability of remission.

*Key words:* cytokines, hormones, alcohol dependence, withdrawal syndrome, post-withdrawal state, remission

**Authors:**

**Vetlugina T. P.**, ✉ D. Sc., Prof., lead researcher of the Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Head of the Department of Biological Psychiatry and Narcology, Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia.

**E-mail:** vetlug@mail.tomsknet.ru;

**Nikitina V. B.**, MD, Head of the Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia;

**Mandel A. I.**, MD, Prof., lead researcher of Addictive States Department, Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia;

**Boiko A. S.**, PhD, researcher of the Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia;

**Prokopieva V. D.**, D. Sc., lead researcher of Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Head of the Department of Biological Psychiatry and Narcology, Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia;

**Bokhan N. A.**, MD, Prof., academician of RAS, Head of Addictive States Department, Director of Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia.

## РОЛЬ CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup> Т-КЛЕТОК И ЦИТОКИНОВОГО ОТВЕТА В РЕГУЛЯЦИИ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЁГКИХ

© 2019 г. Т. И. Виткина<sup>1</sup>, А. А. Лысак<sup>1,2\*</sup>, К. А. Сидлецкая<sup>1</sup>

\*E-mail: francium.ru@mail.ru

<sup>1</sup>Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 14.03.2019

Механизмы регуляции системного воспалительного процесса при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) недостаточно изучены. Цель – установить особенности иммуносупрессивных реакций у пациентов с ХОБЛ. В исследование были включены 112 пациентов с ХОБЛ легкой, средней и тяжелой степени тяжести стабильного течения и 32 здоровых добровольца. Уровни цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) и количество Т-регуляторных клеток (Treg) определяли с помощью проточной цитометрии. Установлено снижение количества Treg при ХОБЛ тяжелой степени тяжести. Механизмом этого процесса может являться их конкурентное взаимодействие с Т-хелперами (Th) 17 типа, которое опосредованно действием IL-6. В конечном итоге это способствует нарушению Th17/Treg баланса и переключению Th1 типа иммунного ответа на Th17, приводя к утяжелению течения ХОБЛ.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь лёгких, системное воспаление, Т-регуляторные клетки, цитокины

DOI: 10.31857/S102872210006449-8

**Адрес:** 690105, Владивосток, ул. Русская, д.73-г, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения.

**E-mail:** francium.ru@mail.ru

**Авторы:**

**Виткина Т. И.**, д.б.н., проф., ведущий научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований Владивостокского филиала ФГБНУ «ДНЦ ФПД» – НИИМКВЛ, Владивосток, Россия;

**Лысак А. А.**, лаборант-исследователь лаборатории медицинской экологии и рекреационных ресурсов Владивостокского филиала ФГБНУ «ДНЦ ФПД» – НИИМКВЛ, Владивосток, Россия; студент биологического факультета Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Россия;

**Сидлецкая К. А.**, младший научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований Владивостокского филиала ФГБНУ «ДНЦ ФПД» – НИИМКВЛ, Владивосток, Россия.

По прогнозам экспертов хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) к 2020 г. займет 3-е место в структуре смертности от за-

болеваний. Характерной чертой ХОБЛ является развитие системного воспалительного ответа. Важную роль в контроле этого процесса играют цитокины и регуляторные Т-клетки (Treg) [1]. Механизмы этой регуляции при ХОБЛ до сих пор не детализованы.

**Цель** – выявить особенности формирования иммуносупрессивных реакций при системном воспалительном ответе у больных ХОБЛ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование осуществлялось в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации (пересмотр 2013 г.) с одобрения Этического комитета. На условиях добровольного информированного согласия в исследование были включены 112 пациентов с ХОБЛ легкой (36 чел.), средней (52 чел.) и тяжелой (24 чел.) степени тяжести стабильного течения, средний возраст которых составлял 57,5 $\pm$ 4,8 года. В контроль-

ную группу вошли 32 относительно здоровых человека, средний возраст:  $42,0 \pm 3,4$  года. Уровни IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  (пг/мл) в сыворотке крови и число Treg (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>) (%) в цельной крови определяли методом проточной цитометрии («BDFACSCantoII», США). Обработка статистических данных проводилась с использованием программы «Statistica 6.0 для Windows». Результаты были представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Корреляционные связи между показателями оценивали с помощью коэффициента Спирмена (r). Различия между параметрами считались статистически значимыми при  $p < 0,001$ ;  $0,01$ ;  $0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ

У больных ХОБЛ легкой степени тяжести содержание Treg было повышено на 162% ( $p < 0,05$ ) по сравнению со здоровыми лицами. Выявлена положительная связь между количеством Treg и сывороточными концентрациями IL-2 ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,05$ ), IFN- $\gamma$  ( $r = 0,69$ ;  $p < 0,05$ ), IL-17 ( $r = 0,77$ ;  $p < 0,05$ ), TNF- $\alpha$  ( $r = 0,59$ ;  $p < 0,05$ ) и IL-10 ( $r = 0,63$ ;  $p < 0,05$ ). У больных ХОБЛ средней степени тяжести наблюдалось увеличение количества Treg на 625% ( $p < 0,01$ ) в сравнении с группой контроля, что сопровождалось наличием положительной корреляционной связи с концентрацией IL-2 в крови пациентов ( $r = 0,53$ ;  $p < 0,05$ ). При ХОБЛ тяжелого течения происходило снижение числа Treg на 375% ( $p < 0,05$ ) относительно группы больных ХОБЛ средней степени тяжести. В сравнении с контролем этот показатель был повышен на 250% ( $p < 0,05$ ). Выявлена отрицательная корреляционная связь между системными уровнями IL-6 ( $r = -0,62$ ;  $p < 0,05$ ), IL-17 ( $r = -0,73$ ;  $p < 0,05$ ) и процентным содержанием Treg.

### ОБСУЖДЕНИЕ

При ХОБЛ легкой степени тяжести происходит увеличение числа циркулирующих Treg, ассоциированное с возрастанием сывороточного содержания IL-2, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , что свидетельствует об активации регуляторного T-клеточного звена на начальной стадии за-

болевания. При ХОБЛ средней степени тяжести происходит скачкообразное увеличение пула Treg наряду с ростом уровня IL-2, что может быть связано с усилением пролиферации этих клеток и конверсией CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов в иммуносупрессивные клетки. ХОБЛ тяжелой степени тяжести характеризуется значительным снижением количества Treg в крови, что, вероятно, опосредовано увеличением уровня IL-6, действующего как ингибитор конверсии T-хелперов (Th) в иммуносупрессоры. Кроме того, усиленная продукция этого цитокина, являющегося ключевым фактором дифференцировки Th17 клеток, может привести к смене Th1 пути иммунного ответа на более патогенный Th17 путь [2, 3].

Таким образом, снижение количества Treg при прогрессировании ХОБЛ предположительно связано с их конкурентным взаимодействием с Th17-клетками, которое опосредованно действием IL-6. В конечном итоге это способствует нарушению Th17/Treg баланса и переключению Th1 типа иммунного ответа на Th17 тип, что приводит к нарушению регуляции системного воспаления при ХОБЛ и утяжелению течения патологии.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Chiappori A., Folli Ch., Balbi F., Caci E., Riccio A., Ferrari De L., Melioli G., Braido F., Walter G. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>-</sup> regulatory T-cells in COPD: smoke and drugs effect. *World Allergy Organ J.* 2016; 9:5.
2. Ito J. T., Cervilha D. A. de B., Lourenço J. D., Gonçalves N. G., Volpini R. A., Caldini E. G., Landman G., Lin Ch. J., Teodoro W. P. R., Tibério I. de F. L. C., Martins M. de A., Lopes F. D. T. Qu. dos S. Th17/Treg imbalance in COPD progression: A temporal analysis using a CS-induced model. *PLoS One.* 2019; 14(1), 1–19.
3. Калинина Е. П., Виткина Т. И., Кнышова В. В., Федосеева Е. А., Новгородцева Т. П., Гвозденко Т. А. Клинико-иммунологическое сопоставление при Th-зависимых механизмах иммунного ответа у больных хронической обструктивной болезнью легких. *Медицинская иммунология.* 2018; 20(6): 855–864. [Kalinina E. P., Vitkina T. I., Knyshova V. V., Fedoseeva E. A., Novgorodtseva T. P., Gvozdenko T. A. Clinical and immunological comparison with Th-dependent mechanisms of the immune response in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Medical immunology.* 2018; 20(6): 855–864.]

**THE ROLE OF CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup> T CELLS AND CYTOKINE RESPONSE IN THE REGULATION OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE**

© 2019 T. I. Vitkina<sup>1</sup>, A. A. Lysak<sup>1,2\*</sup>, K. A. Sidletskaya<sup>1</sup>

\*E-mail: francium.ru@mail.ru

<sup>1</sup>Vladivostok Branch of Federal State Budgetary Science Institution "Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration" – Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, Vladivostok, Russia;  
<sup>2</sup>Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

**Received:** 27.02.2019. **Accepted:** 14.03.2019

The regulatory mechanisms of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are not well understood. The aim is to establish the features of immunosuppressive reactions in COPD patients. The study included 112 patients with stable mild-to-severe COPD and 32 healthy volunteers. Cytokine levels (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) and T-regulatory cell (Treg) number were determined using flow cytometry. A decrease in Treg number has been found in severe COPD. The mechanism of this process may be their competitive interaction with T helper (Th) 17 cells, which is mediated by IL-6 action. Ultimately, it contributes to Th17/Treg disbalance and the switching of Th1 immune response to Th17, leading to worsening COPD.

*Key words:* chronic obstructive pulmonary disease, systemic inflammation, T-regulatory cells, cytokines

**Authors:**

**Vitkina T. I.**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Leading Researcher of the Laboratory of Biomedical Research of Vladivostok branch of FESCPR – IMCRT, Vladivostok, Russia;

**Lysak A. A.**, ✉ Assistant Researcher of the Laboratory of Medical Ecology and Recreational Resources of Vladivostok branch of FESCPR – IMCRT, Vladivostok, Russia; Student of the Biological Department of Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia. **E-mail:** francium.ru@mail.ru;

**Sidletskaya K. A.**, Junior Researcher of the Laboratory of Biomedical Research of Vladivostok branch of FESCPR – IMCRT, Vladivostok, Russia.

## ЭКСПРЕССИЯ РАЗЛИЧНЫХ ИЗОФОРМ TGF $\beta$ И ЕГО РЕЦЕПТОРОВ В ЛЕЙОМИОМЕ МАТКИ

© 2019 г. Д. Н. Воронин\*, Д. Л. Воскресенская

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия

Поступила: 15.02.2019. Принята: 04.03.2019

Отличительной особенностью ткани миоматозного узла является повышенная рецепция к TGF $\beta$ . Основную роль в активации фибробластов и продукции ими коллагена I типа в миоматозных узлах играют TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2 и TGF $\beta$ 3. Более высокий уровень синтеза и продукции TGF $\beta$ 1 изоформы в узлах с высоким содержанием коллагена I типа позволяет предположить его ведущую роль в регуляции интенсивности фиброза в ткани лейомиомы.

**Ключевые слова:** лейомиома матки, TGF $\beta$ , TGFBR, коллаген

DOI: 10.31857/S102872210006450-0

**Адрес:** 153045 Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В. Н. Городкова» Минздрава России, лаборатория клинической иммунологии. Воронин Дмитрий Николаевич. Тел./факс: +7 (4932) 226256, +7 962 158-76-21(моб).

**E-mail:** niimid.immune@mail.ru

**Авторы:**

**Воронин Д. Н.**, к.б.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Воскресенская Д. Л.**, аспирант лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

В суперсемейство трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ) на сегодняшний день входит около 40 регуляторных полипептидов, в том числе 3 изоформы TGF $\beta$ , факторы роста и дифференцировки (GDFs), анти-Мюллеров гормон (АМГ), фактор дифференцировки роста узлов (Nodal) и некоторые другие [1]. Трансформирующий фактор роста  $\beta$  в настоящее время активно изучается как один из главных регуляторов клеточного цикла и продукции компонентов ЭЦМ при широком спектре заболеваний, в том числе и при различных опухолях, включая лейомиому матки [2]. Данное заболевание диагностируется у 50–70% всех женщин репродуктивного возраста, поэтому остро встаёт вопрос о выборе тактики лечения пациентов с целью сохранения репродуктивной функции. В связи с этим, значительный интерес представляет собой ме-

ханизмы, влияющие на активацию фибробластов и выработку ими компонентов ЭЦМ, что определяет течение фиброза, как одного из вариантов роста миоматозного узла.

**Целью** нашего исследования было установить особенности синтеза и продукции в миоматозных узлах изоформ TGF $\beta$  и их рецепторов в зависимости от продукции коллагена I типа в миоматозном узле.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами было проведено обследование 45 пациенток с лейомиомой матки, поступивших на лечение в гинекологическую клинику ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В. Н. Городкова» Минздрава России. В тканях миомы и неизменённого миометрия оценивали уровень экспрессии мРНК изоформ TGFbeta (TGFbeta1, TGFbeta2, TGFbeta3) и его рецепторов (TGFBR1 и TGFBR2) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Уровень коллагена I типа оценивали методом ИФА в лизатах тканей миомы и неизменённого миометрия. Для изучения содержания изоформ TGFbeta в тканевых экстрактах лейомиомы и в неизменённом миометрии применялся мультиплексный анализ на приборе Lumiplex. Уровень статистической значимости отличий в группах оценивали по критерий Манна-Уитни. Все полученные данные представлены в виде медианы и 25–75 перцентилей (Me (Q25%–Q75%)). Отличия в груп-

пах оценивались как статистически значимые при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ полученных данных не выявил в целом значительных изменений в синтезе и продукции всех трех изоформ TGFβ в миоматозных узлах по сравнению с неизменным миометрием ( $p > 0,05$  во всех случаях), и отличительной чертой тканей миоматозного узла был высокий уровень экспрессии мРНК рецепторов TGFβ (TGFBR1 2,52 (0,11–10,96) копий пар\*1000 и TGFBR2 4,38 (1,84–5,54) копий пар\*1000), по сравнению с тканями неизменённого миометрия (TGFBR1 0,05 (0,01–0,17) копий пар\*1000 и TGFBR2 1,15 (0,20–1,44) копий пар\*1000) ( $p = 0,004$  и  $p = 0,007$ , соответственно). В ряде работ сообщалось о ведущей роли TGFβ3 в регуляции фибротической активности клеток лейомиомы матки [3], однако по нашим данным в узлах с высоким содержанием коллагена I типа был выше тканевой уровень всех трех изоформ TGFβ (TGFβ1 15,541 нг/г ткани (3,576–26,942), TGFβ2 3,932 нг/г ткани (2,714–8,170) и TGFβ3 4,890 нг/г ткани (3,272–8,774)), чем в лейомиомах с низким тканевым содержанием коллагена I типа (TGFβ1 3,952 нг/г ткани (3,142–6,552), TGFβ2 1,384 нг/г ткани (0,968–1,778) и TGFβ3 2,646 нг/г ткани (1,764–3,644)) ( $p = 0,047$ ,  $p = 0,007$  и  $p = 0,018$ , соответственно).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, ведущую роль в активации фибробластов и продукции ими коллагена I типа в миоматозных узлах играют компоненты системы TGFβ. По нашим данным более высокий уровень экспрессии мРНК и содержание в тканевых экстрактах TGFβ1 свидетельствует о ведущей роли в регуляции интенсивности фиброза в ткани лейомиомы именно этой изоформы. Дальнейшее изучение механизмов регуляции фиброза ткани узла позволит уточнить характер иммунных нарушений при миоме матки и определить возможные пути их коррекции при данном гинекологическом заболевании.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-015-00405 А

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Morikawa M., Derynck R., Miyazono K. TGF-β and the TGF-β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016, 8, pii: a021873.
2. Chegini N. Proinflammatory and profibrotic mediators: principal effectors of leiomyoma development as a fibrotic disorder. *Semin Reprod Med.* 2010, 28 (3), 180–203.
3. Lee B. S., Nowak R. A. Human leiomyoma smooth muscle cells show increased expression of transforming growth factor-beta 3 (TGF beta 3) and altered responses to the antiproliferative effects of TGF beta. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001, 86 (2), 913–920.

## THE EXPRESSION OF DIFFERENT ISOFORMS OF TGFβ AND ITS RECEPTORS IN UTERINE LEIOMIOMA

© 2019 D. N. Voronin\*, D. L. Voskresenskaya

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

Federal State Budget Establishment "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkova" of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia

Received: 15.02.2019. Accepted: 04.03.2019

The distinctive feature of the myomatous node tissue is the increased reception of TGFβ. The main role in the activation of fibroblasts and their production of collagen I type in the myomatous node plays TGFβ1, TGFβ2 and TGFβ3. The higher level of synthesis and production of TGFβ1 isoform in the nodes with large amount of collagen I type allow to suggest the leading role of this cytokine in the regulation of the intensity of fibrosis in the leiomyoma tissue.

*Key words:* uterine leiomyoma, TGFβ, TGFBR, collagen

### Authors:

**Voronin D. N.**, ☒ PhD, senior researcher of the laboratory of clinical immunology, Federal State Budget Establishment "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov" of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia. E-mail: niimid.immune@mail.ru;

**Voskresenskaya D. L.**, Student, Federal State Institution "Ivanovo Research Federal State Budget Establishment "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov" of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ХАРАКТЕРА СИНТЕЗА КОЛЛАГЕНА В ТКАНИ ЛЕЙОМИОМЫ МАТКИ С ОСОБЕННОСТЯМИ РОСТА ОПУХОЛИ

© 2019 г. Д. Л. Воскресенская, А. И. Малышкина, Ю. С. Анциферова

*E-mail: kasyanikdariakis@mail.ru*

*ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства  
им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия*

Поступила: 13.02.2019. Принята: 01.03.2019

Целью исследования было выявить особенности экспрессии мРНК коллагена 1A1 в лейомиоме матки. Было установлено, что высокий уровень синтеза коллагена в опухоли ассоциирован с быстрым увеличением размеров миомы, чаще отмечается в узлах небольших размеров с минимальной пролиферативной активностью опухолевых клеток. Таким образом, активность тканевых фибробластов определяет особенности темпа и характера роста лейомиомы.

**Ключевые слова:** лейомиома матки, фибробласты, коллаген, пролиферация

DOI: 10.31857/S102872210006452-2

**Адрес:** 153045 Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии.

**E-mail:** kasyanikdariakis@mail.ru

**Авторы:**

**Воскресенская Д. Л.**, аспирант лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Малышкина А. И.**, д. м. н., профессор, директор ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Анциферова Ю. С.**, д. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия.

Лейомиома матки – доброкачественная гормонально-зависимая опухоль, развивающаяся в миометрии в результате гипертрофии и пролиферации элементов мышечной и соединительной ткани [1]. В последние годы наметилась тенденция к увеличению частоты встречаемости данного заболевания и омоложению патологии [2]. Имея все признаки доброкачественной опухоли, лейомиома матки характеризуется чрезмерной аккумуляцией экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), представленного преимущественно фибриллами коллагена, фибронектином и протеогликанами [3]. Предполагается, что увеличение размеров лейомиомы матки в большинстве случаев происходит не за счет усиленной клеточной пролифера-

ции, а за счет активной продукции опухолевыми фибробластами компонентов ЭЦМ, преимущественно коллагена I типа. Но процессы, регулирующие выработку ЭЦМ в миоматозных узлах, до конца пока еще не установлены. В литературе отсутствуют данные о взаимосвязи между интенсивностью продукции коллагена и особенностями роста лейомиомы матки.

В связи с этим **целью** нашего исследования было установить особенности экспрессии мРНК коллагена 1A1 в лейомиоме матки и выявить взаимосвязь интенсивности синтеза коллагена 1A1 с размером опухоли и темпом ее роста.

В условиях IV гинекологического отделения клиники ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В. Н. Городкова» Минздрава России было обследовано 36 женщин с лейомиомой матки в возрасте 28–40 лет, поступивших на оперативное лечение. У 10 женщин отмечен рост миоматозного узла в течение года диспансерного наблюдения, у 16 женщин размеры узла оставались стабильными в течение нескольких лет наблюдения. Материалом для исследования служили образцы ткани миоматозных узлов и неизмененного миометрия, которые были получены в ходе оперативного вмешательства. Количественная оценка уровня экспрессии мРНК COL1A1 и маркера пролиферации Ki67 проводилась методом обратнo-транскрипционной количественной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени.

Анализ полученных результатов не выявил существенных отличий в синтезе коллагена I типа в ткани лейомиомы и в неизменном миометрии в общей группе пациенток с лейомиомой матки. При этом данные по экспрессии мРНК коллагена в общей группе значительно варьировали. Для уточнения характера функционирования тканевых фибробластов в общей группе пациенток с лейомиомой матки мы выделили две подгруппы – с высокой и низкой экспрессией мРНК коллагена и проанализировали клинические особенности роста лейомиомы матки в этих двух подгруппах. Было установлено, что в подгруппе с низкой интенсивностью синтеза коллагена часто, более чем в 60% случаев, отмечалась миома матки стабильных размеров, тогда как практически у всех пациенток с высокой экспрессией мРНК коллагена (83%) был выявлен интенсивный рост опухоли в течение последнего года наблюдений. Размер миоматозных узлов также коррелировал с синтезом коллагена в миоме – в подгруппе с низкими значениями синтеза коллагена мы отмечали наличие узлов значительно больших размеров по сравнению с подгруппой с высоким уровнем экспрессии мРНК коллагена. Кроме того, по нашим данным в ткани лейомиомы матки отмечалась обратная зависимость интенсивности пролиферации опухолевых клеток и уровня синтеза коллагена. Так, у пациенток с низкими значениями экспрессии мРНК

коллагена был выявлен максимальный уровень экспрессии маркера пролиферации Ki 67 и, напротив, в случаях высоких значений экспрессии мРНК коллагена пролиферативная активность опухолевых клеток была минимальной.

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о том, что активность тканевых фибробластов определяет особенности темпа и характера роста лейомиомы. Чрезмерная их активация может способствовать усиленной продукции коллагена и соответственно вести к быстрому увеличению размеров опухоли, не за счет пролиферации, а за счет интенсивного фиброобразования.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-015-00405.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Миома матки / под ред. И. С. Сидоровой. – М.: МИА, 2003. – 256 с. / Uterine leiomyoma. Ed I. S. Sidorova. – М.: МИА, 2003. – 256 p.
2. Иммунные механизмы быстрого роста миомы матки / А. И. Малышкина, Н. Ю. Сотникова, Ю. С. Анциферова, А. К. Красильникова. – Иваново, 2010. – 272 с. [Immune mechanisms of uterine leiomyoma rapidly growth // A. I. Malyshkina, N. Yu. Sotnikova, Yu. S. Antsiferova, A. K. Krasilnikova. – Ivanovo, 2010, 272 p.]
3. Chegini N. Proinflammatory and profibrotic mediators: Principal effectors of leiomyoma development as a fibrotic disorder // Semin Reprod Med. – 2010. – № 28(3). – P. 180–203.

### RELATIONSHIP CHARACTER OF COLLAGEN SYNTHESIS IN UTERINE LEIOMYOMA TISSUE WITH FEATURES OF TUMOR GROWTH

© 2019 D. L. Voskresenskaya, A. I. Malyshkina, Yu. S. Antsiferova

*E-mail: niimid.immune@mail.ru*

*FSBE «Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov» of Healthy Ministry of Russian Federation, Ivanovo, Russia*

**Received:** 13.02.2019. **Accepted:** 01.03.2019

The aim of the work was to elucidate the features of collagen 1A1 mRNA expression in uterine leiomyoma. It was found that the high level of collagen synthesis is associated with rapidly increase of leiomyoma size, more frequently noted in small tumors with minimal proliferative activity. Thus, the activity of tissue fibroblasts defines the features of tempo and character growth of uterine leiomyoma.

*Key words:* uterine leiomyoma, fibroblasts, collagen, proliferation

#### Authors:

**Voskresenskaya D. L.**, graduate student of the laboratory of Clinical immunology of FSBE «Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov» of Healthy Ministry of Russian Federation, Ivanovo, Russia;

**Malyshkina A. I.**, MD, professor, director of the FSBE «Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov» of Healthy Ministry of Russian Federation, Ivanovo, Russia;

**Antsiferova Yu. S.**, BD, the leading scientific worker of the laboratory of Clinical immunology of FSBE «Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov» of Healthy Ministry of Russian Federation, Ivanovo, Russia.

## АНТИОТЦОВСКИЕ АНТИЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ АНТИТЕЛА КАК МАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЛЛОИММУНИЗАЦИИ ЖЕНЩИН С ИДИОПАТИЧЕСКИМ ПРИВЫЧНЫМ ВЫКИДЫШЕМ

© 2019 г. В. В. Вторушина\*, Л. В. Кречетова, Н. К. Тетрушвили,  
М. А. Николаева

\*E-mail: vtorushina@inbox.ru

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии  
и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Поступила: 25.02.2019. Принята: 12.03.2019

Показатель, отражающий эффективность аллоиммунизации при проведении лимфоцитоиммунотерапии (ЛИТ) у женщин с идиопатическим привычным выкидышем (ИПВ) – уровень антиотцовских антилейкоцитарных антител (АОАТ), выявляемый методом проточной цитометрии. В статье представлены результаты определения АОАТ в динамике предгестационной подготовки и беременности у женщин с ИПВ и исходы беременности на фоне проведения ЛИТ.

**Ключевые слова:** привычный выкидыш, лимфоцитоиммунотерапия, антиотцовские антилейкоцитарные антитела

DOI: 10.31857/S102872210006454-4

Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4,  
ФГБУ «НМИЦАГП им. академика В. И. Кулакова» МЗ РФ.  
Вторушина Валентина Валентиновна.  
Тел.: +7(495)4381183, +79169807895  
E-mail: vtorushina@inbox.ru

### Авторы:

**Вторушина В. В.**, к.м.н., врач аллерголог-иммунолог, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия;

**Кречетова Л. В.**, к.м.н., заведующая лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия;

**Тетрушвили Н. К.**, д.м.н., заведующая 2-м акушерским отделением патологии беременности ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия;

**Николаева М. А.**, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия.

Лимфоцитоиммунотерапия (ЛИТ) – аллоиммунизация женщины клетками полового пар-

тнера – метод иммунокоррекции, используемый для подготовки к беременности женщин с привычным выкидышем [1]. Показатель формирования иммунного ответа женщины на введение аллогенных клеток – антиотцовские антилейкоцитарные антитела (АОАТ), определяемые методом проточной цитометрии. Мнения о возможности использования АОАТ в качестве маркера эффективности ЛИТ противоречивы и сообщались лишь в единичных работах [2].

**Цель работы.** Оценить определение уровня АОАТ как маркера эффективности ЛИТ у женщин с ИПВ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В. И. Кулакова» МЗ РФ было обследовано 174 женщины 20–40 лет при подписании формы информированного согласия на участие в исследовании, самопроизвольном наступлении одноплодной беременности, отсутствии тяжелой соматической экстрагенитальной патологии. Основная группа – 69 женщин с ИПВ. Критерии включения: отсутствие родов в анамнезе, не менее 2 выкидышей до 12 недель гестации от одного партнера

в анамнезе, нормальный кариотип супругов, отсутствие анатомических, аутоиммунных, эндокринологических и других факторов потерь беременности. Контрольная группа — 20 здоровых фертильных женщин и 85 женщин с физиологическим течением беременности.

Женщинам основной группы ЛИТ до беременности проводили дважды с интервалом в один месяц на 5–10 день менструального цикла (внутрикожно вводили 50 миллионов клеток лимфоцитарной взвеси). Во время беременности всем пациенткам с ИПВ проводили ЛИТ дважды в той же дозе в 5–6 и 8–9 недель гестации.

Определение АОАТ в сыворотке периферической крови вне беременности проводилось на 18–22 день менструального цикла, у женщин основной группы до назначения ЛИТ и после каждой ЛИТ, у женщин контрольной группы однократно. Во время беременности женщинам обеих групп определение АОАТ выполнялось на сроках 5–6, 8–9, 12, 16, 20, 25, 30, 34, 38 недель гестации.

Лимфоциты из крови мужчин выделяли стандартным методом. Сыворотку крови женщин получали центрифугированием с последующим инактивированием в течение 30 минут при 56 °С. Мужские лимфоциты инкубировали с женской сывороткой 2 способами при 37 °С с последующей отмывкой при комнатной температуре. Уровень АОАТ в сыворотке женщины соответствовал доле мужских лимфоцитов, покрытых антителами к Fc-фрагменту иммуноглобулина G. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (Beckton Dickinson, США).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ Excel 2007 и MedCalc12. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У 44 женщин с ИПВ исходом беременности были своевременные роды, у 9 женщин роды были преждевременными, у 2 женщин производилось прерывание беременности в связи с врожденными пороками развития у плода, в 1 случае была внематочная беременность и у 13 женщин произошло самопроизвольное прерывание беременности на ранних сроках, т.е. репродуктивная функция — рождение живого ребенка — реализовалась у 52 женщин (85,5%) с ИПВ в анамнезе. У всех женщин контрольной

группы беременность завершилась рождением доношенного здорового ребенка.

У женщин с ИПВ до назначения ЛИТ и в группе фертильных женщин уровень АОАТ был низким и не отличался (16,6% и 24,2%). После проведения в предгестационной подготовке первой ЛИТ уровень АОАТ значительно повысился до 42,7%, а после второй ЛИТ составил 78,1%. У беременных женщин основной группы после 2-х ЛИТ АОАТ достигли максимального значения в 12 недель гестации — 90,4% и их высокий уровень сохранялся в течение всей беременности. Подобная динамика изменения уровня АОАТ не зависела от исходов беременности женщин основной группы. У беременных женщин контрольной группы уровень АОАТ в течение всей беременности был низким и составил 0,6% в 5–6 недель гестации с постепенным увеличением и максимальным значением в 38 недель — 25,7%.

Динамическая выработка антиотцовских антилейкоцитарных антител до высокого уровня при проведении ЛИТ в предгестационной подготовке и во время беременности у женщин с ИПВ свидетельствуют о значимости определения уровня АОАТ, отражающего иммуномодулирующее действие процедуры аллоиммунитации.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Кречетова Л. В., Тетруашвили Н. К., Вторушина В. В., Николаева М. А., Голубева Е. Л., Сарибегова В. А., Агаджанова А. А., Ванько Л. В. Динамика выработки антилейкоцитарных антител в течение беременности у женщин с привычным выкидышем на фоне иммуноцитотерапии. *Акушерство и гинекология*. 2017, 9, 49–55. [Krechetova L. V., Tetruashvili N. K., Vtorushina V. V., Nikolaeva M. A., Golubeva E. L., Saribegova V. A., Agadjanova A. A., Vanko L. V. Time course of changes in the production of anti-leukocyte antibodies in pregnant women with idiopathic recurrent miscarriage during immunocytotherapy. *J Obstetrics and Gynecology*. 2017, 9, 49–55].
2. Кречетова Л. В., Николаева М. А., Ванько Л. В., Зиганшина М. М., Голубева Е. Л., Степанова Е. О., Сухих Г. Т. Оптимизация выявления антиотцовских антилейкоцитарных антител в сыворотке крови женщин с привычным невынашиванием после введения аллогенных лимфоцитов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012, Т. 153, 5, 684–688. [Krechetova L. V., Nikolaeva M. A., Van'ko L. V., Ziganshina M. M., Golubeva E. L., Stepanova E. O., Sukhikh G. T. Optimal detection of serum antipaternal antileukocytic antibodies after injection of allogenic lymphocytes in women with habitual abortions. *J Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012, V.153, 5, 684–688].

**ANTIPATERNAL ANTI-LEUKOCYTE ANTIBODIES AS MARKERS  
OF THE EFFICACY OF ALLOIMMUNIZATION IN WOMEN  
WITH RECURRENT PREGNANCY LOSS**

© 2019 V. V. Vtorushina\*, L. V. Krechetova, N. K. Tetrushvili,  
M. A. Nikolaeva

*\*E-mail: vtorushina@inbox.ru*

*Federal State Budget Institution «National medical research center of obstetrics, gynecology  
and Perinatology» of the Ministry of health of Russia, Moscow, Russia*

**Received:** 25.02.2019. **Accepted:** 12.03.2019

The indicator of efficacy of lymphocyte immunotherapy (LIT) in women with recurrent pregnancy loss (RPL) is the level of antipaternal anti-leukocyte antibodies (APAB) detected by method of flow cytometry. The article presents the results of determining APAB in the dynamics of pregravid preparation and pregnancy in women with RPL and pregnancy outcomes after LIT.

*Key words:* recurrent pregnancy loss, lymphocyte immunotherapy, antipaternal anti-leukocyte antibodies

**Autors:**

**Vtorushina V. V.**, ✉ Ph.D. in medical sciences, allergist-immunologist, doctor of laboratory diagnostics in Laboratory of Clinical Immunology, Federal State Budget Institution «National medical research center of obstetrics, gynecology and Perinatology» of the Ministry of health of Russia, Moscow, Russia. **E-mail:** vtorushina@inbox.ru;

**Krechetova L. V.**, Ph.D. in medical sciences, Head of Laboratory of Clinical Immunology, Federal State Budget Institution «National medical research center of obstetrics, gynecology and Perinatology» of the Ministry of health of Russia, Moscow, Russia;

**Tetrushvili N. K.**, Doctor of Medicine, Head of the Department of Pregnancy Loss Prevention and Therapy, Federal State Budget Institution «National medical research center of obstetrics, gynecology and Perinatology» of the Ministry of health of Russia, Moscow, Russia;

**Nikolaeva M. A.**, Doctor of Science, Leading researcher, Laboratory of Clinical Immunology, Federal State Budget Institution «National medical research center of obstetrics, gynecology and Perinatology» of the Ministry of health of Russia, Moscow, Russia.

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ *TNFα* (G-308A), *IL-1β* (T-31C), *IL-10* (C-592A) КАК ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИОТЕРАПИИ РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ЯИЧНИКОВ

© 2019 г. С. О. Генинг<sup>1</sup>, Т. В. Абакумова<sup>1</sup>, И. И. Антонеева<sup>1,2</sup>,  
Т. П. Генинг<sup>1</sup>, Д. Р. Долгова<sup>1\*</sup>

\*E-mail: [dolgova.dinara@yandex.ru](mailto:dolgova.dinara@yandex.ru)

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, Россия;

<sup>2</sup>ГУЗ «Ульяновский областной клинический онкологический диспансер», Ульяновск, Россия

Поступила: 26.02.2019. Принята: 13.03.2019

В работе обсуждается роль генетически детерминированного дисбаланса в цитокиновой сети при оценке эффективности платиносодержащей химиотерапии у больных с серозной аденокарциномой яичников. Методом ПЦР-РВ определены частота встречаемости функциональных полиморфизмов генов цитокинов *IL-1β* (T-31C), *TNFα* (G-308A), *IL-10* (G-592A) в контроле и у больных с распространенным раком яичников. В работе изучено распределение частот аллелей и генотипов генов *IL-1β*, *TNFα*, *IL-10* у пациентов с РЯ в группах с рецидивами в течение года после платиносодержащей химиотерапии и без рецидива. Установлено, что аллели -308G гена *TNFα*, -31T *IL1β*, -592A *IL-10* ассоциированы с прогрессированием или рецидивом заболевания в течение 1 года после завершения лечения.

**Ключевые слова:** полиморфизмы генов *TNFα* (G-308A), *IL-1β* (T-31C), *IL-10* (C-592A), химиотерапия, рак яичников

DOI: 10.31857/S102872210006455-5

Адрес: 432017 Ульяновск, ул. Арх. Ливчака, д. 2, ауд. 206, медицинский факультет, кафедра физиологии и патофизиологии, Долгова Динара Ришатовна.  
Тел./факс: +7 (8422) 327071, 8908 490-05-28 (моб.).

E-mail: [dolgova.dinara@yandex.ru](mailto:dolgova.dinara@yandex.ru)

Авторы:

**Генинг С. О.**, аспирант кафедры онкологии и лучевой диагностики медицинского факультета Ульяновского государственного университета, Ульяновск, Россия;

**Абакумова Т. В.**, к.б.н., доцент кафедры физиологии и патофизиологии медицинского факультета Ульяновского государственного университета, Ульяновск, Россия;

**Антонеева И. И.**, д.м.н., профессор кафедры онкологии и лучевой диагностики Ульяновского государственного университета, Ульяновск, Россия;

**Генинг Т. П.**, д.б.н., профессор, зав каф. физиологии и патофизиологии медицинского факультета Ульяновского государственного университета, Ульяновск, Россия;

**Долгова Д. Р.**, к.б.н., доцент кафедры физиологии и патофизиологии медицинского факультета Ульяновского государственного университета, Ульяновск, Россия.

Дисбаланс цитокинов, вовлеченных в патогенез при раке яичников (РЯ), связан, в частности, и с полиморфными вариантами в промотор-

ных и регуляторных регионах соответствующих генов. Установлено, что влияние функциональных полиморфизмов (SNP) в промоторной части генов цитокинов проявляется изменением транскрипционной активности мРНК, а соответственно, продукцией цитокинов [1].

**Целью** исследования явилось изучение функциональных полиморфизмов генов *TNFα* (G-308A), *IL-1β* (T-31C), *IL-10* (C-592A) как факторов, влияющих на эффективность химиотерапии распространенного РЯ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 85 больных с верифицированным РЯ на III–IV клинических стадиях по FIGO. Пациентки, получавшие неоадьювантную химиотерапию по схеме AP (НАХТ) были разделены на группы: без рецидива, с ранним и поздним рецидивом. Методом аллель-специфической ПЦР-РВ с использованием Taq-Man зондов проводили анализ по-

лиморфных вариантов промоторных участков генов *IL-1β* T-31C (rs 1143627), *IL-10* 592C>A (rs 1800872), *TNF-α* G-308A (rs 1800629) (наборы ООО НПФ «Литех» (Россия). Частоты аллелей и генотипов полиморфных локусов, а также соответствие распределения наблюдаемых частот генотипов теоретически ожидаемым по равновесию Харди-Вайнберга проверяли по критерию  $\chi^2$ . Для оценки относительного риска развития заболевания/события вычисляли значение OR (отношение шансов) в исследованиях «случай-контроль».

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено что аллель G дикого типа гена *TNFα* G-308A, чаще встречается у первичных больных РЯ в 89,7% случаев против 72,9% в контроле (OR=2,87, CI 95%: 1.00–12.95, p=0,031). Показано, что аллель G (генотип GG) является высокорисковой аллелью для возникновения РЯ, а также возникновения рецидива в течение года после окончания ХТ I линии. Аллель -308A\* *TNFα*, связанная с увеличенной продукцией цитокина и ответственная за выраженные воспалительные реакции, значимо чаще встречается в контрольной группе (27,1% против 10,3% при РЯ, и имеет отрицательную ассоциацию с возникновением РЯ ( $\chi^2=4,30$ ; OR=3,56, CI 95%:2.06–7,45, p=0,011). Выявлена ассоциация аллеля -308G гена *TNFα* с возникновением рецидива в течение 12 месяцев после окончания стандартной ХТ (93,1% против 76,9% в контроле ( $\chi^2=4.21$ , OR=3,60, CI 95%:1.00–12.95, p=0,042). Показано, что SNP *TNFα* 308G>A, выступая в качестве модулятора воспаления, связан с опухоль-обусловленной кахексией, хроническим болевым синдромом [2].

Анализ встречаемости функционального полиморфизма T-31C гена *IL-1β* методом «случай-контроль» показал, что шансы формирования рецидива в течение года у носителей аллеля -31T и генотипа TT были равны 1,91 (95% CI: 0,73–4,98, p=0,18) и 2,86 (95% CI: 0,84–9,67, p=0,12), соответственно. Известно, что замена C на T в позиции 31 промотора гена *IL-1β* приводит к гиперпродукции провоспалительного цитокина и связано с агрессивным течением рака желудка [1].

Можно предположить, что наличие в геноме функциональных SNP в виде аллелей -308G гена *TNFα*, -31T гена *IL-1β*, повышают риски ранних рецидивов после применения стандартной ХТ, связанные с более низкой продукцией соответствующих цитокинов, вовлеченных в формирование адаптивного иммунного ответа. Тогда как пациенты с РЯ, имеющие в генотипе высокопродукующие аллели -308A\* *TNFα*, -31C *IL-1β*, имеют длительный безрецидивный период.

При изучении SNP 592 C>A гена *IL-10* было выявлено, что аллель A (24,4%) и генотип CA (40,6%) у пациентов с РЯ имеют значимую положительную ассоциацию с прогрессированием/рецидивом заболевания, шансы этого события (OR) составляют 1,82 (CI 95%:0.66–5.01, p=0.24) и 2,39 (CI 95%: 0.64–8.93, p=0,042). Возможно, аллель -592A\* гена *IL-10*, выступает в качестве иммуногенетического супрессора/противовеса при гиперэкспрессии *IL-1β* и *TNFα*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, генетически обусловленная несостоятельность цитокинового ответа может определять возникновение ранних рецидивов после проведения НАХТ у больных с распространенным РЯ. Маркерами прогностически неблагоприятного ответа на НАХТ могут являться аллели -308G *TNFα*, -31T *IL-1β*, -592A *IL-10*.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ (МК-3196.2018.7).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Oliveira de J. G., Rossi A. F., Nizato D. M., Silva A. E. Profiles of Gene Polymorphisms in Cytokines and Toll-Like Receptors with Higher Risk for Gastric Cancer. *Dig Dis Sci*. 2013, 58, 978–988.
2. Боброва О. П., Шнайдер Н. А., Петрова М. М., Зырянов С. К., Сычев Д. А. Генетический полиморфизм цитокинов как предиктор фенотипической реализации хронического болевого синдрома в онкологии. *Сибирский онкологический журнал*. 2017, 16(5), 87–94. [Bobrova O. P., Shnayder N. A., Petrova M. M., Zyryanov K. S., Sychev D. A. Cytokine gene polymorphisms as predictors of chronic pain syndrome in oncology. *Siberian Journal of Oncology*. 2017, 16(5). 87–94].

**FUNCTIONAL POLYMORPHISMS OF THE *TNF $\alpha$*  (G-308A), *IL-1 $\beta$*  (T-31C),  
*IL-10* (C-592A) GENES AS FACTORS AFFECTING THE EFFECT  
OF CHEMOTHERAPY FOR ADVANCED OVARIAN CANCER**

© 2019 S. O. Gening<sup>1</sup>, T. V. Abakumova<sup>1</sup>, I. I. Antoneeva<sup>1,2</sup>,  
T. P. Gening<sup>1</sup>, D. R. Dolgova<sup>1\*</sup>

\*E-mail: [dolgova.dinara@yandex.ru](mailto:dolgova.dinara@yandex.ru)

<sup>1</sup>Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

<sup>2</sup>Ulyanovsk Regional Clinical Oncologic Dispensary, Ulyanovsk, Russia

**Received:** 26.02.2019. **Accepted:** 13.03.2019

The paper discusses the role of a genetically determined imbalance in the cytokine network in assessing the effectiveness of platinum-containing chemotherapy in patients with serous ovarian adenocarcinoma. The frequency of functional polymorphisms of the cytokine *IL-1 $\beta$*  (T-31C), *TNF $\alpha$*  (G-308A), *IL-10* (G-592A) genes was determined by qRT-PCR in control and in patients with advanced ovarian cancer. We studied the frequency distribution of alleles and genotypes of the *IL-1 $\beta$* , *TNF $\alpha$* , *IL-10* genes in patients with OC in groups with relapses within a year after platinum-containing chemotherapy and without recurrence. The alleles -308G *TNF $\alpha$* , -31T *IL-1 $\beta$* , -592A *IL-10* were found to be associated with disease progression or recurrence within 1 year after completion of treatment.

*Key words:* functional polymorphism, gene SNP *TNF $\alpha$*  (G-308A), *IL-1 $\beta$*  (T-31C), *IL-10* (C-592A), chemotherapy, ovarian cancer

**Authors:**

**Gening S. O.**, postgraduate student, Department of Oncology and Radiology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

**Abakumova T. V.**, PhD, Associate Professor, Department of Physiology and Pathophysiology, Medical Faculty, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

**Antoneeva I. I.**, MD, Professor, Department of Oncology and Radiology, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

**Gening T. P.**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Department Physiology and Pathophysiology of the Medical Faculty of Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

**Dolgova D. R.**, ✉ Ph.D., Associate Professor, Department of Physiology and Pathophysiology, Medical Faculty, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia. **E-mail:** [dolgova.dinara@yandex.ru](mailto:dolgova.dinara@yandex.ru)

## ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК-СУПРЕССОРОВ МИЕЛОИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ У ДЕТЕЙ С ПСОРИАЗОМ

© 2019 г. Д. Г. Герасимова, Т. В. Радьгина, Р. Ш. Закиров,  
Э. Т. Амбарчян, А. И. Материкин, Р. В. Елишев,  
Н. Н. Мурашкин, С. В. Петричук\*

\*E-mail: cito@list.ru

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей»  
Минздрава России, Москва, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 27.03.2019

В работе определено абсолютное и относительное количество клеток-супрессоров миелоидного происхождения (MDSCs), регуляторных Т-лимфоцитов и Th17-лимфоцитов у 115 пациентов с псориазом и 53 условно здоровых детей в возрасте от 1,5 до 18 лет. Выявлено повышение количества MDSCs за счет субпопуляции G-MDSCs, зависящее от длительности заболевания. С нарастанием тяжести заболевания увеличивается относительное количество M-MDSCs. Количество MDSCs прямо коррелирует с количеством Th17-лимфоцитов и Treg.

**Ключевые слова:** миелоидные клетки-супрессоры, Th17, Treg, псориаз

DOI: 10.31857/S102872210006457-7

**Адрес:** 119991 Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1, ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, лаборатория экспериментальной иммунологии и вирусологии. Петричук Светлана Валентиновна.

Тел./факс: +7(499)1341398, 89859236355(моб.).

**E-mail:** cito@list.ru

**Авторы:**

**Герасимова Д. Г.**, ординатор КЛД ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Радьгина Т. В.**, к.м.н., ст.н.с. лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Закиров Р. Ш.**, врач КЛД в централизованной клинико-диагностической лаборатории ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Амбарчян Э. Т.**, н.с. лаборатории патологии кожи у детей ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Материкин А. И.**, врач-дерматолог отделения дерматологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Елишев Р. В.**, врач-дерматовенеролог отделения дерматологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Мурашкин Н. Н.**, д.м.н., заведующий отделением дерматологии, гл.н.с. лаборатории патологии кожи у детей ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Петричук С. В.**, д.м.н., профессор, гл.н.с. лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Псориаз – распространенное хроническое заболевание мультифакторной природы, характеризующееся повышенной пролиферацией эпидермальных клеток, дисфункцией кератинизации, воспалительной реакцией в дерме, вызванной активацией Т-лимфоцитов и синтезом провоспалительных цитокинов (IL-2, INF $\gamma$ , TNF $\alpha$  и др.). Хроническое воспаление, связанное с заболеванием, кроме характерных воздействий на кожу способствует также развитию сердечно-сосудистых, печеночных, почечных и других сопутствующих заболеваний [1]. Актуальность изучения псориаза обусловлена ростом первичной заболеваемости псориазом среди детей и учащением случаев тяжелых форм. Миелоидные клетки-супрессоры (MDSCs) происходят из обычных гематопоэтических клеток-предшественников и охватывают гетерогенную популяцию незрелых и зрелых миелоидных клеток, обладающих иммунорегуляторной активностью [2, 3]. Эти клетки подавляют врожденный и адаптивный

иммунитет человека. Показано увеличение популяции MDSCs при различных патологических состояниях, таких как рак, травма, стресс, хроническое воспалительное состояние, аутоиммунные заболевания [4, 5]. Популяцию этих супрессоров разделяют на две субпопуляции: моноцитарного (M-MDSCs) и гранулоцитарного (G-MDSCs) происхождения.

**Цель** настоящего исследования состояла в оценке уровня циркулирующих MDSCs и их субпопуляций в периферической крови пациентов с псориазом.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 115 детей с тяжелыми и среднетяжелыми формами псориаза и 53 условно здоровых ребенка в возрасте от 1,5 до 18 лет. В работе учитывали: возраст пациентов, длительность заболевания, тяжесть патологического процесса по индексу PASI (Psoriasis Area Severity Index). 53 ребенка были обследованы до назначения системной терапии, 34 ребенка – на фоне иммуносупрессивной терапии, 29 детей получали генно-инженерные биологические препараты (ГИБП). Абсолютное и относительное количество MDSC определяли методом пошагового гейтирования с использованием проточной цитометрии. На первом этапе из лимфоидно-моноцитарного региона выделяли популяцию клеток, не несущих на себе линейные лимфоцитарные маркеры (CD3, CD19, CD56) и негативные по HLA-DR. Затем выделяли двойную позитивную популяцию по CD11b и CD33, которую по CD14 и CD15 разделяли на моноцитарные MDSC (M-MDSC) и гранулоцитарные (G-MDSCs) субпопуляции. Кроме того, у пациентов определяли количество регуляторных Т-клеток (Treg – CD4<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup>CD25<sup>high</sup>) и Th17-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У детей с псориазом относительное количество MDSCs составило 0,4–5,4% от мононуклеарных клеток (Лф+Мон), абсолютное количество изменялось от 11 до 188 кл/мкл. При этом статистический анализ показал, что их абсолютное количество было достоверно выше по сравнению с условно здоровыми детьми (Med 56,8 (39,7; 84,2) против 43,4 (25,4; 56,1);  $p=0,001$ ). Относительное количество MDSCs у пациентов с псориазом также было достоверно выше по сравнению с условно здоровыми детьми (1,84 (1,3; 2,9) против 1,4 (0,85; 1,76);  $p=0,001$ ). Оцен-

ка субпопуляций MDSCs у детей с псориазом показала, что количество M-MDSCs варьировало от 0,1 до 73%, а G-MDSCs от 0,1 до 86%. Тогда как у условно здоровых детей G-MDSCs составляло от 4 до 73%, M-MDSCs от 0,6 до 32%. Отмечено достоверное снижение относительного количества G-MDSCs у пациентов с псориазом по сравнению с условно здоровыми детьми (21,16 (9,22; 28,8) против 30,8 (12,6; 45);  $p=0,006$ ). Анализ количества MDSCs от возраста показал, что относительное количество MDSCs достоверно увеличивается как в группе у первичных пациентов с псориазом ( $p=0,0025$ ), так и в группе условно здоровых ( $p=0,01$ ). У пациентов, находящихся на терапии, такой зависимости не наблюдалось. Анализ количества MDSCs в зависимости от тяжести состояния (PASI) показал, что с увеличением PASI возрастает относительное количество моноцитарной субпопуляции MDSCs у пациентов с псориазом без иммуносупрессивной терапии и терапии ГИБП ( $p=0,013$ ). Отмечено так же, что у длительно болеющих пациентов относительное количество гранулоцитарных MDSCs увеличивается ( $p=0,001$ ). У пациентов, находящихся на разных типах терапии, не выявлено достоверных различий между группами из-за большого разброса показателей. Наблюдалась тенденция повышения количества MDSCs у наиболее тяжелых пациентов, находящихся на терапии ГИБП. Проведен анализ зависимости между абсолютным и относительным количеством MDSCs и субпопуляциями Treg и Th17-лимфоцитов. Выявлена прямая зависимость абсолютного количества Treg и MDSCs ( $p=0,01$ ). Кроме этого получено, что при увеличении количества Th17-лимфоцитов наблюдается повышение MDSCs ( $p=0,01$ ) в основном за счет субпопуляции G-MDSCs ( $p=0,03$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящего исследования показали, что пациенты с псориазом имеют повышенные уровни MDSC в циркуляции, что согласуется с данными у взрослых пациентов [1]. Результаты показали, что гранулоцитарная и моноцитарная фракции MDSCs были увеличены у пациентов с псориазом по сравнению со здоровыми детьми. Выявлено повышение количества MDSCs за счет G-MDSCs, зависящее от длительности заболевания. Количество MDSCs прямо коррелирует с уровнем Th17-лимфоцитов и Treg. С нарастанием тяжести заболевания уве-

личивается относительное количество моноцитарной фракции MDSCs. Уровень M-MDSCs может быть использован в качестве дополнительного маркера активности патологического процесса у детей с псориазом.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Ilkovitch D., Ferris L. K.* Myeloid-derived suppressor cells are elevated in patients with psoriasis and produce various molecules // *Mol Med Rep*, 2016.14(4). pp3935–40.
2. *Козлов В. А.* Клетки-супрессоры – основа иммунопатогенеза аутоиммунных заболеваний // *Медицинская иммунология*, 2016. Т. 18, № 1. С. 7–14. [*Kozlov V.A.* Suppressor cells-the basis of immunopathogenesis autoimmune diseases, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2016, Vol.18, no.1, pp. 7–14].
3. *Budhwar S., Verma P., Verma R., Rai S., Singh K.* The Yin and Yang of Myeloid Derived Suppressor Cells // *Front Immunol*, 2018.Vol.9, p.2776.
4. *Lyadova I., Sosunova E., Nikolaev A., Nenasheva T.* Mesenchymal Stem Cells and Myeloid Derived Suppressor Cells: Common Traits in Immune Regulation// *Journal of Immunology Research*, Vol. 2016, Article ID7121580, 17 p.
5. *Zhu J., Chen S., Wu L., Wang R., Zheng S., Zhao D., Wang X, Li J.* The Expansion of Myeloid-Derived Suppressor Cells Is Associated with Joint Inflammation in Rheumatic Patients with Arthritis // *Bio Med Research International*, Vol. 2018, Article ID5474828, 12 p.

### SUBPOPULATIONS OF MYELOID DERIVED SUPPRESSORS CELLS IN CHILDREN WITH PSORIASIS

© 2019 D. G. Gerasimova, T. V. Radygina, R. Sh. Zakirov, A. I. Ambarchyan, A. I. Materikin, N. N. Epishev, A. I. Murashkin, S. V. Petrichuk\*

\*E-mail: cito@list.ru

National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 27.03.2019

The absolute and relative number of myeloid derived suppressor cells, regulatory T-lymphocytes and Th17-lymphocytes were assessed in 115 patients with psoriasis and 53 healthy children aged 1.5 to 18 years. An increase in the number of MDSCs due to G-MDSCs was found, depending on the duration of the disease. As the severity of the disease increases, the relative number of M-MDSCs increases. The number of MDSCs directly correlates with the number of Th17 lymphocytes and Treg.

*Key words:* myeloid derived suppressor cells, Th17, Treg, psoriasis

#### Authors:

**Gerasimova D. G.**, resident, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Radygina T. V.**, Ph D., Senior Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation;

**Zakirov R. Sh.**, Doctor of clinical laboratory, Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Ambarchyan A. I.**, Research Associate, Laboratory Skin Phatology in children, Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Materikin A. I.**, Dermatologist, Department of Dermatology, Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Epishev N. N.**, Dermatovenerologist, Department of Dermatology, Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Murashkin A. I.**, PhD, MD, Head of the Laboratory Skin Phatology in children, Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Petrichuk S. V.**, ☒ PhD, MD (Biology), Professor, Principal Research Associate, Laboratory of Experimental Immunology and Virology, Federal State Autonomous Institution "National Medical Research Center of Children's Health" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. **E-mail:** cito@list.ru

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММУНОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ МОНОХРОМАТИЧЕСКОГО СВЕТА С ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 450 НМ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ СТАФИЛОКОККОВЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ

© 2019 г. О. А. Гизингер<sup>1\*</sup>, О. Р. Зиганшин<sup>1</sup>, А. О. Лакницкая<sup>3</sup>,  
В. И. Карандашов<sup>2</sup>, Е. С. Завгородний<sup>1</sup>

\*E-mail: OGizinger@gmail.com

<sup>1</sup>Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;

<sup>2</sup>Государственный научный центр лазерной медицины им. О. К. Скобелкина Федерального  
медико-биологического агентства, Москва, Россия;

<sup>3</sup>Областной кожно-венерологический диспансер, Челябинск, Россия

Поступила: 19.02.2019. Принята: 04.03.2019

Представлены данные о состоянии функционально-метаболического статуса нейтрофильных гранулоцитов в смывах с раневой поверхности кожи, пораженной *S. aureus* до и после терапии некогерентным монохроматическим светом с длиной волны  $450 \pm 10$  нм. Результаты исследования показали, что у пациентов со стафилококковыми поражениями кожи регистрируется нарушение фагоцитарной активности, кислородзависимого метаболизма в НСТ-тесте нейтрофильных гранулоцитов в раневом содержимом. Применение света с длиной волны  $450 \pm 10$  нм способствует снижению воспалительной реакции, восстановлению функционального потенциала нейтрофильных гранулоцитов.

**Ключевые слова:** стафилококковые поражения кожи, синий свет

DOI: 10.31857/S102872210006458-8

Адрес: 454028 Челябинск, ул. Воровского, д. 64, ФГБУ Южно-Уральский государственный медицинский университет, Гизингер Оксана Анатольевна.

Тел./факс: +7(83512) 2322808, 89193194604 (моб.).

E-mail: OGizinger@gmail.com

**Авторы:**

**Гизингер О. А.**, д.б.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБУ Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;

**Зиганшин О. Р.**, д.м.н. профессор, зав. каф. дерматовенерологии ФГБУ Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;

**Карандашов В. И.**, д.м.н. профессор, руководитель отделения клинической фармакологии и лазерной биотехнологии Государственного научного центра лазерной медицины им. О. К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия;

**Лакницкая А. О.**, дерматовенеролог, Областной кожно-венерологический диспансер, Челябинск, Россия;

**Завгородний Е. С.**, студент лечебного факультета Южно-Уральского государственного медицинского университета, Челябинск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Приоритетной медико-социальной проблемой дерматовенерологии является оптимизация

методов лечения стафилококковых пиодермий из-за их распространённости и тяжести клинических проявлений. Доля стафилококковых составляет около 6% от всех кожных заболеваний и находится в интервале от 17,9% до 43,9% среди всех дерматозов [1]. Длительность терапии и успех реабилитационного периода определяется состоянием барьерной системы кожи, балансом клеток, реализующих антимикробную защиту [2, 3].

**Цель исследования** — изучить влияние монохроматического света с длиной волны 450 нм на клеточные факторы врожденного иммунитета при стафилококковых поражениях кожи.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 30 пациентов со стафилококковыми поражениями гладкой кожи в возрасте  $37,6 \pm 6,54$  года. Наличие стафилококка в раневом содержимом было подтверждено методами микробиологического исследования, проведенные в лаборатории Гемотест (Москва), оценка факторов врожденного иммунитета включала: подсчет количества лейкоцитов

в раневом содержимом, изучение их активности и интенсивности в НСТ-тесте, фагоцитарной активности, фагоцитарного числа. Цитологическое исследование центрифугатов смывов с поверхности кожи проводилась после их нанесения на стекло, фиксации 10 мин, высушивании, окрашивании по методу Романовского-Гимза. Приготовленные препараты микроскопировали с использованием масляной иммерсии, увеличении  $90\times 10$  и производили морфологический учет клеточных элементов и их процентного соотношения по критериям Л. А. Матвеевой (1986), оценивали показатели клеточной деструкции: средний показатель деструкции, индекс цитолиза клеток, индекс деструкции клеток. Параметры воздействия монохроматическим некогерентным светом на область поражения: длина волны  $450\pm 10$  нм, время воздействия бесконтактной насадкой – 10 мин., режим работы – непрерывный, 10 процедур. Статистический анализ проведен с использованием пакета статистических программ SPSS «Statistics» версия 17.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клеточный состав раневой поверхности представлен нейтрофильными гранулоцитами – 70,5%, мононуклеарными фагоцитами – 5,5%, лимфоцитами – 2,5%, клетками эпителия – 21,5%. Показатели деструкции нейтрофилов и эпителиальных клеток раневой поверхности достоверно превышали аналогичные значения пациентов без стафилококковой инфекции ( $p < 0,01$ ). В препаратах, полученных от больных, определялись метаплазированные клетки, процент метаплазии – 47 (при норме до 35), что свидетельствовало о нарушении процесса регенерации эпителия. Воздействие синим светом частично восстанавливало исследуемые показатели, индекс модуляции составил 0,07 (при норме 0,06 у здоровых), а процент метаплазии – 39 (при норме до 35), при действии ультразвуком низкой частоты индекс модуляции составил 0,07 (при норме у здоровых 0,06), а процент метаплазии – 37 (при норме до 35). Применение монотерапии с использованием антибактериальных препаратов, с учетом индивидуальной чувствительности пациента, приводила к снижению количества сегментоядерных нейтрофилов на 19,9%, снижению НСТ-редуцирующей активности на 5,6% и активации поглотительной способности нейтрофилов на 11,9%. Отмечаемый нами дисбаланс клеточных факторов может служить основанием для включения в комплексную терапию воздействие светом с  $450\pm 10$  нм. Показа-

но, что комплексная терапия с использованием света  $450\pm 10$  нм нормализует функциональную активность фагоцитов, что проявляется в снижении их абсолютного на 59% и относительного на 58% количества, восстановлению потенциала в НСТ-тесте, повышает функциональный резерв на 23,6%, усиливает поглотительные способности фагоцитов на 17,4% и увеличивает фагоцитарное число на 12,9%. Выявленная динамика клеточных факторов свидетельствует о восстановлении потенциала эпителиоцитов и фагоцитов кожных покровов у пациентов, получавших бесконтактное воздействие светом с длиной волны 450 нм в комплексной терапии стафилококковых поражений кожи. Сравнительный анализ клеточных факторов врожденного иммунитета, пролеченных без использования света с длиной волны 450 нм, показал лишь тенденцию изменений в сторону восстановления показателей. Таким образом, при заболеваниях кожи, вызванных *S. Aureus* наблюдается снижение функциональной активности фагоцитов в очаге воспаления, цитологическая картина характеризуется преобладанием нейтрофильных гранулоцитов, уменьшением доли макрофагов и лимфоцитов. Воздействие светом с длиной волны  $450\pm 10$  нм снижает общее число нейтрофилов, нормализует НСТ-редуцирующую активность, функциональный резерв, повышает активность и интенсивность фагоцитоза, уменьшает отек и снижает тяжесть воспалительной реакции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mark D. P., Alexander J. L., Praver S. E. Pyoderma gangrenosum of the breasts precipitated by breast surgery J. Am. Acad. Dermatol., 2006; 55, 2, 317–320.
2. Пешикова М. В., Жуковская Е. В., Долгушин И. И. Иммунологический дистресс при тяжелых инфекциях у детей. Онкогаматология. 2008; 3, № 4; 64а-64. [Peshikova M. V., Zhukovskaya E. V., Dolgushin I. I. Immunological distress in severe infections in children. Oncomamatology. 2008. 3, 4. 64a-64.]
3. Гизингер О. А., Долгушин И. И. Система провоспалительных цитокинов у женщин с урогенитальным трихомониазом. Мед. иммунология. 2005; 7; 5–6, 601–604. [Gizinger, O. A. Dolgushin I. I. System of Pro-inflammatory cytokines in women with urogenital trichomoniasis / Med. immunology. 2005. 7. (5–6), 601–604].
4. Гизингер О. А., Долгушин И. И., Ишпахтина К. Г., Маркова В. А. Уровень провоспалительных цитокинов в цервикальном секрете у женщин с хламидийной инфекцией до и после терапии низкоинтенсивным лазером с переменной генерацией импульса. Мед. иммунология. 2009; 11; (4–5), 312–313. [Gizinger O. A. Dolgushin I. I. Ishpakhtina K. G.,

Markova V.A. The level of pro-inflammatory cytokines in cervical secretion in women with chlamydial infection before and after therapy with a low-intensity laser with variable pulse generation Med. immunology. 2009; 11; (4–5), 312–313].

5. Гизингер О. А., Долгушин И. И. Система провоспалительных цитокинов в цервикальном секрете у жен-

щин с урогенитальным хламидиозом / О. А. Гизингер, И. И. Долгушин. Цитокины и воспаление. 2006; 5; 4, 13–16. [Gizinger O.A., Dolgushin I.I. The system of proinflammatory cytokines in cervical secretion in women with urogenital chlamydiosis. O.A. Gizinger, I.I. Dolgushin. Cytokines and inflammation. 2006. 5; 4, 13–16].

## A MONOCHROMATIC INCOHERENT LIGHT OF THE 450 NM OPTICAL RANGE AFFECTS THE CONTENT OF CYTOKINES IN THE MAXILLARY WASHES IN RHINOLOGIC PATIENTS

© 2019 O. A. Gizinger<sup>1\*</sup>, A. M. Korkmazov<sup>1</sup>, M. Yu. Korkmazov<sup>1</sup>, V. I. Karandashov<sup>2</sup>, E. S. Zavgorodniy<sup>1</sup>

\*E-mail: OGizinger@gmail.com

<sup>1</sup>South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

<sup>2</sup>State Research Center for Laser Medicine. OK. Skobelkin Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia

Received: 19.02.2019. Accepted: 04.03.2019

The data on the state of the functional metabolic status-neutrophilic granulocytes in washes from the skin surface affected by *S. aureus* after therapy with incoherent monochromatic light with a wavelength of  $450 \pm 10$  nm are presented. The results of the study showed that in patients with staphylococcal lesions of the skin a violation of phagocytic activity, oxygen-dependent metabolism in the NBT-test is recorded. The use of light with a wavelength of  $450 \pm 10$  nm helps to reduce the inflammatory response, edema, and restore the functional potential of neutrophilic granulocytes.

*Key words:* staphylococcal skin lesions, blue light

### Authors:

**Gisinger O. A.**, ✉ Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, FSBI South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** OGizinger@gmail.com;

**Ziganshin O. R.**, MD professor, head. kaf Dermatovenereology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

**Karandashov V. I.**, Ph.D. Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Laser Biotechnology of the State Scientific Center for Laser Medicine named. OK. Skobelkin Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia;

**Laknitskaya A. O.**, Dermatovenerologist, Regional Dermatovenerologic Dispensary Chelyabinsk, Russia;

**Zavgorodniy E. S.**, student of the medical faculty of the South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОМЕТРИЯ У ИНФЕРТИЛЬНЫХ ЖЕНЩИН НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ

© 2019 г. А. П. Годовалов\*, С. А. Торопицын, Т. И. Карпунина

\*E-mail: AGodovalov@gmail.com

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет  
им. акад. Е. А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 26.03.2019

В развитии бесплодия активно рассматривается роль хронических воспалительных заболеваний, которые участвуют в формировании морфологической основы для снижения фертильности. В настоящем исследовании проведен ретроспективный анализ результатов гистологического исследования пайпель-биоптатов 64 женщин с установленным диагнозом хронический эндометрит. Показано наличие клеточной инфильтрации в 67% случаев, а также сочетание дистрофических и пролиферативных процессов (33%), что в целом может свидетельствовать о наличии персистирующей инфекции.

**Ключевые слова:** хронический эндометрит, воспаление, бесплодие, морфологические признаки

DOI: 10.31857/S102872210006459-9

**Адрес:** 614990 Пермь, ул. Петропавловская, д.26, ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е. А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия. Годовалов Анатолий Петрович. Тел. +7912981 51 00

**E-mail:** AGodovalov@gmail.com

**Авторы:**

**Годовалов А. П.**, к.м.н., в.н.с. ЦНИЛ, доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е. А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия;

**Торопицын С. А.**, студент ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е. А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия;

**Карпунина Т. И.**, д.б.н., профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е. А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия.

В патогенезе заболеваний органов малого таза ключевое место занимает воспалительный процесс, который может локализоваться в маточных трубах, эндометрии или брюшине. Поздняя диагностика и отсутствие своевременного лечения, особенно при хроническом воспалении, способствуют бесплодию, обуславливают внематочную беременность. Широкий спектр микроорганизмов инициирует развитие таких заболеваний. Показано, что анаэробные микроорганизмы *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae* и *Prevotella spp.* способны вызвать морфологиче-

ские изменения эндометрия [1]. Установлено, что хронический эндометрит сопровождается непрерывным и скрытым воспалением, характеризующимся клеточной инфильтрацией стромы эндометрия, а золотым стандартом в диагностике является гистологическое обнаружение в ней плазматических клеток [2].

**Цель исследования** — оценить морфологические изменения ткани эндометрия при хроническом эндометрите у женщин с бесплодием.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ результатов гистологического исследования пайпель-биоптатов эндометриальной ткани 64 инфертильных женщин с диагнозом хронический эндометрит.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено, что в 67% образцов наблюдается клеточная инфильтрация эндометрия, причем в половине случаев — лимфоцитами в сочетании с гистиоцитами, а в трети — только лимфоцитами. Присутствие подобных инфильтратов ассоциировано, как правило, с хроническим течением воспалительного процесса. Перигландулярная

инфильтрация выявлена в 9,3% образцов, что, согласно данным Kimura F. et al. [2], встречается преимущественно при обострении хронического эндометрита.

В 5% случаев зарегистрирован склероз эндометрия, который может нарушать его функциональную активность, что в свою очередь, способствует развитию бесплодия, поскольку такие морфологические изменения носят необратимый характер [2]. Известно, что дистрофические изменения тканей связаны с наличием выраженного цитопатического действия. Как показано ранее, при бесплодии и хроническом эндометрите развивается эндогенная интоксикация, обусловленная как метаболитами микроорганизмов, так и продуктами распада тканей [3].

Значительное число образцов пайпель-биоптатов характеризовалось сочетанием признаков склеротических изменений в строме и пролиферативной активности железистого эпителия. Более того, обнаружены незрелые формы эпителиальных клеток, свидетельствующие об ускорении темпов пролиферации, что зачастую приводит к формированию очагов гиперплазии и метаплазии. Изменения такого рода могут быть следствием персистенции микроорганизмов и накопления токсических микробных метаболитов [3].

Таким образом, при хроническом эндометрите наблюдается инфильтрация эндометрия

иммунокомпетентными клетками, которые способны инициировать необратимые дистрофические изменения, нарушающие функциональную активность органа в целом. В то же время, отмеченные у значительной части пациенток признаки пролиферативной активности клеток железистого эпителия, в первую очередь обнаружение их незрелых форм, косвенно указывают на этиологическую роль микробного фактора в возникновении и развитии infertility.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Petrina M. A. B., Cosentino L. A., Wiesenfeld H. C., Darville T., Hillier S. L. Susceptibility of endometrial isolates recovered from women with clinical pelvic inflammatory disease or histological endometritis to antimicrobial agents. *Anaerobe*. 2019, 56, 61–65.
2. Kimura F., Takebayashi A., Ishida M., Nakamura A., Kitazawa J., Morimune A., Hirata K., Takahashi A., Tsuji S., Takashima A., Amano T., Tsuji S., Ono T., Kaku S., Kasahara K., Moritani S., Kushima R., Murakami T. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J Obstet Gynaecol Res*. 2019, doi: 10.1111/jog.13937. [Epub ahead of print].
3. Годовалов А. П., Карпунина Т. И. Оценка эндогенной интоксикации у субфертильных женщин с хроническим эндометритом. *Вестник современной клинической медицины*. 2018, 11; 4, 25–28. [Godovalov A. P., Karpunina T. I. Endogenic intoxication evaluation in subfertile women with chronic endometritis. *The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2018, 11; 4, 25–28.].

## MORPHOLOGICAL CHANGES IN ENDOMETRY IN INFERTILE WOMEN UNDER CHRONIC INFLAMMATION

© 2019 A. P. Godovalov\*, S. A. Toropitsyn, T. I. Karpunina

\*E-mail: AGodovalov@gmail.com

Acad. E. A. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 26.03.2019

In the development of infertility, the role of chronic inflammatory diseases that are involved in the formation of the morphological basis for fertility decline is being actively considered. In the present study, a retrospective analysis of the results of the histological examination of the pipelene biopsy specimens of 64 women with an established diagnosis of chronic endometritis was carried out. The presence of cell infiltration was shown in 67% of cases, as well as a combination of dystrophic and proliferative processes (33%), which in general may indicate the presence of persistent infection.

*Key words:* chronic endometritis, inflammation, sterility, morphological signs

### Authors:

**Godovalov A. P.**, Ph.D., I.r., Central Scientific Research Laboratory, Associate Professor of the Department of Microbiology and Virology, Acad. E. A. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russia. E-mail: AGodovalov@gmail.com;

**Toropitsyn S. A.**, student, Acad. E. A. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russia;

**Karpunina T. I.**, D. Sci. Biol. Professor of the Department of Microbiology and Virology, Acad. E. A. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russia.

## ТИМУС В КЛИНИКЕ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. АКТУАЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИЖИЗНЕННОГО МОНИТОРИНГА

© 2019 г. М. В. Головизнин<sup>1\*</sup>, Н. С. Лахонина<sup>1</sup>, В. Т. Тимофеев<sup>2</sup>,  
Ю. А. Булдакова<sup>1</sup>

\*E-mail: [ordinatormgmsu@mail.ru](mailto:ordinatormgmsu@mail.ru)

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Московский Государственный медико-стоматологический университет  
им. А. И. Евдокимова МЗ РФ, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский Научно-исследовательский медицинский университет  
им. Н. И. Пирогова МЗ РФ, Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 02.04.2019

Ведущая роль тимуса в становлении приобретенного иммунитета известна более полувека, притом что, в клинической иммунологии оценка Т-клеточного иммунитета сводится к тестированию все возрастающего количества объектов иммунной периферии при игнорировании «центра», каковым являются тимус. Наши данные показали, что ТREC (эксцизионные кольца реаранжировки генов цепей Т-клеточного рецептора) могут стать важным звеном, позволяющим косвенно оценить функцию тимуса у взрослых и даже у пожилых людей, доноров и больных ревматоидным артритом. Развитие этого подхода позволит в будущем сформировать комплексный мониторинг тимуса при иммунопатологии.

**Ключевые слова:** тимус, ревматоидный артрит, иммунная периферия, ТREC, рецепторы Т-клеток

DOI: 10.31857/S102872210006460-1

**Адрес:** 127473 Москва, Делегатская ул., 20/1, ГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Головизнин Марк Васильевич. Тел.: 8 (495) 609-67-00

**E-mail:** [ordinatormgmsu@mail.ru](mailto:ordinatormgmsu@mail.ru)

### Авторы:

**Головизнин М. В.**, к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней стоматологического факультета ГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва, Россия;

**Лахонина Н. С.**, ассистент кафедры внутренних болезней стоматологического факультета ГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва, Россия;

**Тимофеев В. Т.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник кафедры факультетской терапии им. А. И. Нестерова ГБОУ ВО Российский научно-исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Булдакова Ю. Р.** к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней стоматологического факультета ГБОУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва, Россия.

Установление центральной роли тимуса в становлении клеточного иммунитета пробудило

большой интерес к нему со стороны клиницистов. Уже к концу XX столетия был сгруппирован целый ряд синдромов, при которых обнаруживалась та или иная патология тимуса. Аутоиммунные заболевания (АИЗ) занимали в этой группе одно из ведущих мест. Как показывают данные литературы, косвенная оценка роли тимуса в становлении Т-системы иммунитета в норме и патологии, возможна с помощью определения в Т-клетках крови т.н. эксцизионных колец реаранжировки генов Т-клеточного рецептора (ТREC). Эти плазмидоморфные фрагменты ДНК образуются в ходе тимической дифференцировки Т-клеток и накапливаются в значимых количествах в т. н. «ранних тимических эмигрантах» (РТЭ), только что вышедших из тимуса на периферию [1]. Исходя из этого, оценка ТREC перспективна прежде всего при системных АИЗ, характеризующихся генерализованным дефектом аутоотолерантности. Однако до недавнего времени ТREC, определялись лишь при неона-

тальной тимэктомии и их оценка, особенно, при болезнях взрослых, требует дальнейшего накопления данных [2].

**Целью** данной работы явилась оценка уровня TREC у доноров разных возрастных групп, а также у больных РА и ИБС и определение взаимосвязи TREC с экспрессией мембранных маркеров популяций Т-лимфоцитов крови.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценка TREC проводилась с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием реагентов TaqMan Universal и др. Оценка мембранных молекул Т-лимфоцитов крови проводилась с помощью проточной цитометрии с использованием моноклональных антител Beckton Coulter.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование TREC было проведено у 40 практически здоровых лиц в возрасте от 16 до 62 лет. В соответствии с возрастной классификацией ВОЗ от 2016 года доноры были разделены на четыре группы. При сравнении уровня TREC в данных группах были получены различия ( $N=7,783$ ,  $p=0,051$ ) между первой и четвертой группами доноров: «Юношеский возраст» (до 24 лет,) Уровень TREC (Медиана (25%; 75%) составил 0,40377 (0,20494; 0,67708) и «Пожилой возраст» (60–74 года). Уровень TREC (Медиана (25%; 75%) – 0,01637 (0,0137; 0,01917). Таким образом, вопреки мнению об инволюции тимуса к 40-летнему возрасту, мы показали, что TREC (а значит и тимическая дифференцировка) присутствуют даже у лиц пожилого возраста, хотя и в значительно меньшей степени, чем у молодых. Тем не менее, при анализе взаимосвязи между возрастом доноров и уровнем TREC была выявлена значимая средней силы отрицательная корреляция ( $R=-0,459$ ,  $p=0,003$ ), отражающая постепенное снижение функциональной активности тимуса у пожилых.

Исследование TREC было также выполнено у 27 больных РА в возрасте от 32 до 67 лет. Среднее содержание TREC составило 0,056618 (0,01767; 0,264584) у.е. С возрастом у больных РА наблюдалось также снижение уровня TREC, подтвержденное значимой отрицательной корреляцией ( $R=-0,442$ ,  $p=0,027$ ). Значение  $R$  было близко к таковому у доноров, что не позволяет говорить о наличии более раннего снижения активности тимуса при РА по сравнению

с здоровыми. Уровень TREC при ИБС (23 больных острым инфарктом миокарда (ОИМ) и 12 больных хроническими формами ИБС) был значительно ниже такового у доноров. Однако надо учитывать, что данные группы не являлись сопоставимыми по возрасту. При ОИМ нами выявлена отрицательная корреляция средней силы между уровнем TREC и возрастом ( $R=-0,598$ ,  $p=0,003$ ). При хронических формах ИБС эта корреляция была статистически незначимой, что может объясняться наиболее старшим возрастом и наиболее низким уровнем TREC в этой группе. При определении взаимосвязей между TREC и мембранными маркерами Т-лимфоцитов крови у всех обследованных лиц нами обнаружена средней силы значимая положительная корреляция между TREC и рецептором CD4 ( $R=0,578$ ,  $P<0,01$ ), а также TREC и уровнем клеток CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> ( $R=0,562$ ,  $p<0,001$ ). В то же время, корреляция между TREC и экспрессией CD8 была достоверно отрицательной ( $R=-0,347$ ,  $p=0,028$ ). Корреляция между TREC и уровнем клеток CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> была также отрицательной с достоверностью на уровне тенденции. Аналогичная закономерность взаимосвязи между TREC и экспрессией CD4 отмечалась при РА ( $R=0,541$ ,  $p=0,03$ ) и при ИБС ( $R=0,651$ ,  $p=0,003$ ). При этом, при РА уровень клеток CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> также достоверно отрицательно коррелировал с TREC ( $R=-0,560$ ,  $p=0,03$ ), а при ИБС эта корреляция не имела достоверности. С учетом этих данных можно предположить, что Т-клетки CD4<sup>+</sup> имеют в своем составе большее число РТЭ, чем клетки CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, которые, вероятно, обладают большей степенью автономии от тимуса. Интересно, что у практически здоровых лиц мы выявили значимую сильную отрицательную корреляцию между содержанием TREC и «тройных позитивных» клеток CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> ( $R=-0,829$ ,  $p=0,042$ ). Поскольку данная субпопуляция Т-клеток памяти не относится к РТЭ, то отрицательная корреляция вполне логична и свидетельствует о накоплении Т-клеток памяти с возрастом. Уровень клеток CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> у доноров также имел достоверную положительную корреляцию с возрастом ( $R=0,520$ ,  $p=0,019$ ), что подтверждает вышеуказанные суждения. Если сказать о корреляциях экспрессии мембранных маркеров Т-клеток крови в зависимости от возраста чуть более подробно, то у доноров мы наблюдали значимое снижение уровня экспрессии рецептора CD3, притом, что индекс CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> с возрастом не менялся.

При РА результаты были иными. Наблюдались слабые положительные корреляции между процентным уровнем CD8<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> лимфоцитов и возрастом ( $R=0,339$ ,  $p=0,008$  и  $R=0,348$ ,  $p=0,007$  соответственно). Абсолютное количество цитотоксических Т-клеток CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> также имело слабую положительную корреляцию с возрастом ( $R=0,264$ ,  $p=0,043$ ). Уровень CD4<sup>+</sup>, напротив, имел слабую отрицательную корреляцию с возрастом как в процентном содержании ( $R= -0,281$ ,  $p=0,028$ ), так и в абсолютных числах ( $R= -0,306$ ,  $p=0,016$ ). Если предположение, что клетки CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> в большей степени связаны с тимусом, а клетки CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> – автономны, – верно, то указанная возрастная динамика их при РА требует тщательного мониторинга и функции тимуса и периферических процессов Т-клеточного созревания, которые могут быть разобщены при РА, особенно, у пожилых. В то же время, исследование фенотипа лимфоцитов у больных ИБС в зависимости от возраста полученные результаты не имели статистически значимых отличий от практически здоровых лиц.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, для мониторинга функции тимуса *in vivo* и возможен и актуален комплексный подход. Логично, что, наряду с лабораторным тестированием ТREC и фенотипа Т-клеток в него были бы включены УЗИ, компьютерная томография, МРТ, радионуклидное сканирование тимуса. Однако до настоящего времени данный подход так и не нашел применения в клинической иммунологии. Это связано, во-первых, с анатомическими трудностями визуализации, а также физикального исследования не увеличенного тимуса взрослых, во-вторых, с существующей парадигмой, что, тимус в постпубертатный период подвергается инволюции

и в возрасте 40–45 лет полностью замещается жировой тканью. Иммунологи также долго не могли прийти к консенсусу относительно того, является тимус пусковым фактором АИЗ или же их мишенью [3]. Затянувшиеся дискуссии и неопределенность их результата привели к тому, что на практике тимус как бы перестали замечать. Изучение Т-клеточного иммунитета сводится к тестированию все возрастающего пула объектов «иммунной периферии» – популяций Т-лимфоцитов крови и иммуотропных молекул, секретируемых клетками. Если, например, в неврологии и эндокринологии, изучение центральных и периферических органов, а также связи между ними, происходит достаточно пропорционально, то в клинической иммунологии сложился парадоксальный перекоп в сторону изучения периферийных феноменов при игнорировании «центра», в данном случае – тимуса. При этом фундаментальная наука все громче говорит о его ведущей роли в патогенезе иммунопатологии взрослых.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Хайдуков С. В. Малые субпопуляции Т-хелперов (Th наивные тимические, Th наивные центральные, Th9, Th22 и CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> дважды положительные Т-клетки) // Медицинская иммунология. – 2013. – том 15, № 6 – С. 503–512. [Khaidukov S. V. Minor T-helpers subpopulations (Naïve Th, Th9, Th22 and CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> double positive T-cells) Med. Immunol, 2013;15(6), 503–512].
2. Донецкова А. Д., Ярилин А. А. Т-рецепторные эксцизионные кольца и значимость их определения в клинике // Иммунология. – 2013. – № 4. – С. 220–226. [Donetskova A. D., Yarilin A. A. T-cells rearrangement excision circles and the role of its assessment in clinical practice. Immunologiya. 2013;4, 220–226]
3. Ярилин А. А. Основы иммунологии. – Москва: «Медицина», 1999 г. – 608 с. [Yarilin A. A. Basic immunology. Moscow. Meditsina. 1999 608 p.]

THYMUS IN AUTOIMMUNE DISEASES CLINIC. THE ACTUALITY  
AND PROSPECTIVES OF “*IN VIVO*” MONITORING

© 2019 M. V. Goloviznin<sup>1\*</sup>, N. S. Lakhonina<sup>1</sup>, V. T. Timofeev<sup>2</sup>,  
Yu. R. Buldakova<sup>1</sup>

\*E-mail: [ordinatormgmsu@mail.ru](mailto:ordinatormgmsu@mail.ru)

<sup>1</sup>A. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia,

<sup>2</sup>N. I. Pirogov Russian Scientific-Research State Medical University, Moscow, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 02.04.2019

The leading role of Thymus in adoptive immunity development was established 50 years ago. Nevertheless T-cells immunity monitoring in clinical immunology is now testing of growing number of “immune periphery” items disregarding thymus as a central T-immunity organ. We showed that T-cells rearrangement excision circles (TREC) could be the important chain in thymus and peripheral T-cells function assessment in adult and aged healthy donors and rheumatoid arthritis patients. It will create the possibility to form more complex “*in vivo*” monitoring of thymus activity in autoimmunity

*Key words:* thymus, rheumatoid arthritis, immune periphery, TREC, T-cells receptors

**Authors:**

**Goloviznin M. V.**, ✉ PhD, Associate professor of the Department of Internal Diseases of dental faculty of A. I. Evdokimov, Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia. E-mail: [ordinatormgmsu@mail.ru](mailto:ordinatormgmsu@mail.ru);

**Lakhonina N. S.**, Assistant professor of the Department of Internal Diseases of dental faculty of A. I. Evdokimov, Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia;

**Timofeev V. T.**, D. Sci, Leading researcher of Faculty therapy department of N. I. Pirogov Russian Scientific-Research University, Moscow, Russia;

**Buldakova Yu R.**, PhD, Associate professor of the Department of Internal Diseases of dental faculty of A. I. Evdokimov, Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОФЛАВОНОИДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЛКОГОЛИЗМЕ

© 2019 г. И. А. Гольдина<sup>1\*</sup>, Е. В. Маркова<sup>1,2</sup>, И. В. Савкин<sup>1</sup>

\*E-mail: igoldina@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет»,  
Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 29.03.2019

Длительное потребление алкоголя оказывает негативное влияние на иммунную и нервную системы, вызывая нарушение их функциональных связей. Целью настоящей работы было изучение влияния биофлавоноидов куркумы на поведение и иммунный ответ у животных в состоянии экспериментального алкоголизма. Было установлено, что при хронической интоксикации этанолом использование экстракта куркумы приводило к стимуляции двигательной и исследовательской активности в «открытом поле» и повышению клеточного иммунного ответа до уровня, свойственного здоровым животным соответствующего возраста, что свидетельствует о позитивном эффекте куркумы при экспериментальном алкоголизме.

**Ключевые слова:** куркума, поведение, гиперчувствительность замедленного типа, экспериментальный алкоголизм

DOI: 10.31857/S102872210006461-2

Адрес: 630099. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория нейроиммунологии. Маркова Евгения Валерьевна. Тел./факс: +7(383) 222-06-72, 8905 936 88 80(моб.).

E-mail: igoldina@mail.ru

**Авторы:**

**Гольдина И. А.**, научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «НИИ Фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Маркова Е. В.**, д.м.н., заведующая лабораторией нейроиммунологии, главный научный сотрудник ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия; профессор ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск, Россия;

**Савкин И. В.**, научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «НИИ Фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Алкоголизм представляет собой глобальную медико-социальную проблему современного общества. Длительное потребление алкоголя оказывает влияние на иммунную и нервную системы, вызывая нарушение их функциональных связей [1]. Учитывая нейропротекторные и иммунотропные свойства биофлавоноидов и, в част-

ности, полифенольных соединений корневищ растения *Curcuma Longa L.* (куркумы) [2, 3], целью настоящей работы было изучение влияния экстракта куркумы на параметры поведения и выраженность клеточного иммунного ответа у животных в состоянии экспериментального алкоголизма.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были выполнены на мышам-самцах (СВА×С57BL/6)F<sub>1</sub> (n=60), здоровых, а также в состоянии экспериментального алкоголизма, сформированного методом 6-месячного спаивания 10% раствором этанола. Учитывая, что по характеру поведения в «открытом поле» мыши (СВА×С57BL/6)F<sub>1</sub> неоднородны, и отличаются реакцией на прием психоактивных веществ [4], в исследование были включены только животные со средним уровнем поведения. Порошок куркумы (Протокол испытаний поставщика № 561-374-1-16/БМ от 09.06.2016 г.) представлял собой высушенный молотый корень куркумы (Mumbai, India). Раствор куркумы представлял собой 15-суточный экстракт сухого порошка

в 40% этиловом спирте (150 г/л). Контрольные группы — интактные мыши и животные-алкоголики, получали воду или 10% раствор этанола по 5 мл на 1 животное в сутки. Животные опытной группы принимали экстракт куркумы с конечной концентрацией этанола 10%, в том же объеме, ежедневно, в течение 2,5 месяцев. После этого у всех животных оценивали параметры поведения в тесте «открытое поле» и выраженность клеточного иммунного ответа по интенсивности развития реакции гиперчувствительности замедленного типа к эритроцитам барана (ГЗТ), согласно методикам, описанным ранее [4, 5].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью коммерческого пакета программ «Statistica 7.0» (StatSoft, USA) с использованием критерия Манна-Уитни. Результаты представляли в виде медианы и интервала между 1 и 4 квартилем (Me (25%; 75%). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ ориентировочно-исследовательского поведения животных в состоянии экспериментального алкоголизма выявил подавление моторного и исследовательского компонентов поведения, о чем свидетельствует снижение параметров горизонтальной (периферической с 88,4 (79,3; 92,4) до 22,7 (18,1; 24,7),  $p < 0,05$ ; центральной с 7,1 (6,8; 8,4) до 0,1 (0,1; 0,1),  $p < 0,05$ ) и вертикальной (свободной с 1,3 (1,0; 1,8) до 0,3 (0,2; 0,4),  $p < 0,05$ ; с опорой на стенку с 2,9 (2,2; 3,6) до 1,1 (0,7; 1,3),  $p < 0,05$ ), двигательной активности в «открытом поле», по сравнению с группой интактных животных соответствующего возраста. У мышей-алкоголиков, получавших экстракт куркумы, регистрировалась стимуляция поведенческой активности в «открытом поле» по сравнению с животными, получавшими раствор этанола (горизонтальной: периферической с 22,7 (18,1; 24,7) до 54,2 (49,8; 58,7),  $p < 0,05$ ; центральной с 0,1 (0,1; 0,1) до 4,1 (3,8; 4,6),  $p < 0,05$ ; вертикальной (свободной с 0,3 (0,2; 0,4) до 1,4 (1,0; 1,8),  $p < 0,05$ ; с опорой на стенку с 1,1 (0,7; 1,3) до 2,3 (2,1; 2,9),  $p < 0,05$ ). При изучении эмоциональной реактивности животных исследуемых групп различий между ними выявлено не было.

У животных в состоянии экспериментального алкоголизма после приема экстракта куркумы регистрировалась, наряду со стимуляцией пове-

денческой активности, также стимуляция клеточного иммунного ответа, выражающаяся в повышении интенсивности развития реакции ГЗТ до уровня, регистрируемого у интактных мышей соответствующего возраста (68,0 (67,0; 74,0)). Индекс реакции (%) у мышей-алкоголиков составил 52,0 (46,0; 69,0); тогда как после приема экстракта куркумы — 73,0 (68,0; 75,0) ( $p < 0,05$ ).

Следовательно, использование экстракта куркумы на фоне приема этанола у животных-алкоголиков приводило к стимуляции поведения в «открытом поле» и повышению клеточного иммунного ответа до уровня, свойственного интактным животным, что свидетельствует о позитивном эффекте биофлавоноидов куркумы в отношении ряда параметров функциональной активности нервной и иммунной систем при хронической интоксикации этанолом.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Гольдина И. А., Маркова Е. В., Гольдин Б. Г., Княжева М. А., Гайдюль К. В. Протекторные свойства куркумы при этанол-индуцированных нарушениях поведения. Саратовский научно-медицинский журнал. 2017, 13(1), 131–135. [Goldina I. A., Markova E. V., Goldin B. G., Knyazeva M. A., Gaidul K. V. Curcuma's protective properties at ethanol-induced behavioral disorders. Saratov's Scientific and medical journal. 2017, 13(1), 131–135].
2. Гольдина И. А., Гольдин Б. Г., Гайдюль К. В. Клиническая эффективность куркумы при заболеваниях нервной системы. Нейроиммунология. 2015, XVII(2), 265. [Goldina I. A., Goldin B. G., Gaidul K. V. Curcuma's clinical efficiency at nervous system disorders. Neuroimmunology. 2015, XVII(2), 265].
3. Гольдина И. А., Гайдюль К. В. Биологическая активность и терапевтические свойства *Curcuma Longa L.* (обзор литературы). Вестник НГУ. 2015, 13(1), 141–149. [Goldina I. A., Gaidul K. V. *Curcuma Longa L.* biological activity and therapeutic properties (Review). Bulletin of NSU. 2015, 13(1), 141–149].
4. Чухрова М. Г., Дресвянников В. Л., Маркова Е. В. Наркотическая зависимость: современные стратегии исследования. Saint-Louis, Missouri, USA: Publishing House Science and Innovation Center, 2015.—218 с. [Chuhrova M. G., Dresviannikov V. L., Markova E. V. Drug Addiction: Modern Research Strategies. Saint-Louis, Missouri, USA: Publishing House Science and Innovation Center, 2015.—218 p.].
5. Markova E. V., Obukhova L. A., Kolosova N. G. Parameters of cell immune response in Wistar and OXYS rats and their behavior in the open field test. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2003, 136(6), 588–590.

**BIOFLAVONOIDS EFFICIENCY IN EXPERIMENTAL ALCOHOLISM**© 2019 I. A. Goldina<sup>1\*</sup>, E. V. Markova<sup>1,2</sup>, I. V. Savkin<sup>1</sup>*\*E-mail: igoldina@mail.ru*<sup>1</sup>*Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the fundamental and clinical immunology, Novosibirsk, Russia;*<sup>2</sup>*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Novosibirsk State Pedagogical University», Novosibirsk, Russia.***Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 29.03.2019

The prolonged alcohol consumption has a negative effect on the immune and nervous systems, causing a breakdown in their functional connections. The purpose of this work was to study the effect of turmeric bioflavonoids on the behavior and the cellular immune response in animals in a state of experimental alcoholism. It was found that in chronic ethanol intoxication, the use of turmeric extract led to the stimulation of motor and exploratory activity in the «open field» test and an increase in the cellular immune response to the level peculiar to that of healthy animals of a corresponding age, indicating a positive effect of turmeric in experimental alcoholism.

*Key words:* bioflavonoids, behavior, delayed-type hypersensitivity reaction, experimental alcoholism

**Authors:**

**Goldina I. A.**, ✉ Researcher of the Neuroimmunology laboratory of the Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** igoldina@mail.ru;

**Markova E. V.**, Doctor of Medical Sciences, Head of the Neuroimmunology laboratory, Chief Researcher of the Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia; Professor of Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Novosibirsk State Pedagogical University», Novosibirsk, Russia;

**Savkin I. V.**, Researcher of the Neuroimmunology laboratory of the Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.

## ПОЛУЧЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ С ЦЕЛЬЮ ИММУНОАФФИННОЙ ОЧИСТКИ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ И СОЗДАНИЯ ПРОТОТИПА ГЕМОСОРБЕНТА

© 2019 г. Н. П. Горбунов<sup>1,2</sup>, В. А. Костевич<sup>1</sup>, А. В. Соколов<sup>1\*</sup>

\*E-mail: [biochemsokolov@gmail.com](mailto:biochemsokolov@gmail.com)

<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГУП «Гос. НИИ Особо Чистых Биопрепаратов» ФМБА России,  
Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

Миелопероксидаза (МПО) является перспективной мишенью для противовоспалительной терапии и профилактики развития атеросклероза. Известно, что МПО является независимым предиктором осложнений сердечнососудистых патологий, в том числе повторного инфаркта миокарда. С целью разработки иммуноферментного анализа нами были получены моноклональные антитела против МПО (клон 2F7), которые по результатам анализа с помощью поверхностного плазмонного резонанса взаимодействовали с МПО по электростатическому принципу. Оказалось, что при иммобилизации антител на бромциан-активированную агарозу полученный сорбент селективно связывал МПО при 0,15 М NaCl. Элюция МПО обеспечивалась 1 М NaCl (рН 7,4), что не нарушало протетическую гемовую группировку. При анализе сорбции МПО из образцов плазмы крови была определена константа диссоциации около 0,07 нМ. Учитывая, что патологическая концентрация МПО превышает 0,15 нМ полученный сорбент, может быть прототипом гемосорбента для МПО.

**Ключевые слова:** миелопероксидаза, моноклональные антитела, гемосорбент, сердечнососудистые патологии, воспаление, аффинная хроматография

DOI: 10.31857/S102872210006464-5

**Адрес:** 197376 Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Отдел молекулярной генетики. Соколов Алексей Викторович. Тел./факс: +7 (812) 2345606, +7911 9670594 (моб.).

**E-mail:** [biochemsokolov@gmail.com](mailto:biochemsokolov@gmail.com)

**Авторы:**

**Горбунов Н. П.**, аспирант, Отдел молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия; м.н.с. ФГУП «Гос. НИИ Особо Чистых Биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

**Костевич В. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник Отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

**Соколов А. В.**, д.б.н., заведующий лабораторией Отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия.

Миелопероксидаза (МПО) относится к семейству гем-содержащих пероксидаз млекопитающих и является самым мажорным представителем ферментов данной группы в организме человека. Уникальным свойством МПО считается способность катализировать продукцию

НОС1, что обеспечивает антимикробный потенциал нейтрофилов. При воспалении концентрация МПО в плазме крови увеличивается с 0,15 нМ до 10 нМ, при этом в ряде многоцентровых исследований было показано, что увеличение концентрации МПО является предиктором развития осложнений при сердечно-сосудистых заболеваниях, в том числе инфаркта миокарда [1]. Учитывая, что МПО вовлечена не только в антимикробную защиту организма, но и способна повреждать макромолекулы организма при хроническом воспалении и ассоциированными с ним патологиями [1], представляется перспективным оценивать концентрацию МПО, её активность и, в перспективе, разработать способ для её специфической элиминации из кровотока. Для решения обозначенной выше цели необходимо было получить специфические антитела против МПО и охарактеризовать их аффинность с целью практического применения.

Из линии клеток HL-60 (промиелоцитарная лейкемия) с помощью хроматографических методов нами был выделен гомогенный препарат МПО. С помощью иммунизации мышей и гибридной технологии было получено несколько клонов, продуцирующих антитела против МПО. С помощью иммуноферментного анализа была изучена способность антител сорбировать МПО по электростатическому принципу, т.е. при повышении ионной силы раствора происходило разобщение комплекса МПО с антителами. В результате был отобран клон 2F7, проведено масштабирование процесса получения антител и их очистка из асцитной жидкости мышей. Полученные антитела изучали на предмет аффинности к МПО с помощью поверхностного плазмонного резонанса, а также иммобилизовали их на бромциан-активированном агарозном геле для получения иммуноаффинного сорбента для очистки МПО либо ее элиминации из раствора.

С помощью прибора Biacore X-100 на чип CM5 с иммобилизованной МПО наносили различные концентрации антител и проводили их десорбцию раствором 1 М NaCl (10 мМ Нерес-NaOH, pH 7,4). Было доказано, что при нанесении 1 М NaCl происходит полная десорбция моноклональных антител против МПО с поверхности сенсора, но после уравнивания 0,15 М NaCl связанная с поверхностью сенсора МПО вновь сорбировала антитела.

С помощью метода бромциановой активации был синтезирован агарозный гель с иммобилизованными антителами 2F7 (12 мг на 1 мл влажного геля). Такой сорбент связывал около 8 мг МПО на 1 мл влажного геля при элюции 150 мМ NaCl. Увеличение ионной силы раствора до 1 М NaCl позволяло элюировать гомогенную МПО с неповрежденной простетической группой. Процедуру очистки МПО повторяли три раза, при этом свойства сорбента практически не из-

менялись. При хроматографии на колонке с 5 мл сорбента 2F7-агароза 3 литров среды, полученной при выращивании культуры секретирующих МПО клеток HL-60, было получено 14 мг МПО, которая составляла лишь 0,08% от общего белка в среде, с выходом более 96%.

При иммобилизации антител 2F7 на твердой фазе полистирольного планшета в его лунках можно было сорбировать МПО, как очищенную, так и из образцов плазмы крови, а затем выявлять ее активность с помощью флуорогенного субстрата, окисляющегося HOBr, образование которой катализировала МПО, связанная с антителами на твердой фазе. Данный подход позволил проанализировать активность МПО в образцах плазмы крови здоровых доноров и пациентов с различными воспалительными патологиями. Результаты анализа показали высокую степень корреляции ( $r=0.87$ ) с результатами традиционного иммуноферментного анализа на МПО, исполнение которого занимало в 2 раза больше времени.

Был проведен анализ элиминации с помощью 2F7-агарозы МПО, внесенной в диапазоне концентраций от 0,02 до 3 нМ в сыворотку крови доноров. Результаты измерения свободной МПО после уравнивания системы позволили определить по графику в координатах Скэтчарда константу диссоциации комплекса МПО-2F7 как 0,07 нМ.

Работа поддержана грантом Президента РФ МД-5133.2018.4.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Панасенко О. М., Горудко И. В., Соколов А. В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах // Успехи биологической химии, 2013, 53, 195–244. [Panashenko O. M., Gorudko I. V., Sokolov A. V. Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living systems. Biochemistry (Moscow). 2013, 78(13), 1466–1489].

## OBTAINING OF MONOCLONAL ANTIBODY FOR IMMUNOAFFINITY PURIFICATION OF MYELOPEROXIDASE AND PROTOTYPE OF HEMOSORBENT

© 2019 N. P. Gorbunov<sup>1,2</sup>, V. A. Kostevich<sup>1</sup>, A. V. Sokolov<sup>1\*</sup>

\*E-mail: [biochemsokolov@gmail.com](mailto:biochemsokolov@gmail.com)

<sup>1</sup>Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, FMBA of Russia,  
Saint Petersburg, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 01.04.2019

Myeloperoxidase (MPO) is a promising target for anti-inflammatory therapy and prevention of atherosclerosis. It is known that MPO is an independent predictor of complications of cardiovascular pathologies, including secondary myocardial infarction. For developing an enzyme-linked immunoassay, we obtained monoclonal antibodies against MPO (clone 2F7), which, interacted with MPO according to the electrostatic principle according to the results of surface plasmon resonance analysis. When antibodies were immobilized on cyanogen bromide-activated agarose, the resulting sorbent selectively bound MPO at 0.15 M NaCl. The elution of MPO was provided by 1 M NaCl (pH 7.4), which did not disrupt the properties of the prosthetic heme group. When analyzing the sorption of MPO from plasma samples, the dissociation constant about 0.07 nM was determined. Given that the pathological concentration of MPO exceeds 0.15 nM, the resulting sorbent can be a prototype of a hemosorbent for MPO.

*Key words:* myeloperoxidase, monoclonal antibody, hemosorbent, cardiovascular pathologies, inflammation, affinity chromatography

### Authors:

**Gorbunov N. P.**, PhD Student, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia; Junior Researcher, State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, FMBA of Russia, Saint Petersburg, Russia;

**Kostevich V. A.**, PhD, Senior Researcher, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

**Sokolov A. V.**, ✉ Doctor of Biological Sciences, Head of laboratory, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia.

**E-mail:** [biochemsokolov@gmail.com](mailto:biochemsokolov@gmail.com)

## ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНА *HLA-G* И РИСКОМ НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН С ПЕРСИСТЕНТНОЙ БАКТЕРИАЛЬНО-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

© 2019 г. Л. А. Гордеева<sup>1\*</sup>, Е. Н. Воронина<sup>2</sup>, Е. Г. Поленок<sup>1</sup>, С. А. Мун<sup>1</sup>,  
Р. В. Оленникова<sup>3</sup>, М. Л. Филипенко<sup>2</sup>, А. Н. Глушков<sup>1</sup>

\*E-mail: ihe@kemtel.ru

<sup>1</sup>ФГБУН «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН  
(Институт экологии человека СО РАН)», Кемерово, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной  
медицины СО РАН, Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup>ГАУЗ Кемеровская областная клиническая больница. Медико-генетическая  
консультация, Кемерово, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

Изучали ассоциации между полиморфизмом гена *HLA-G* (rs41551813, rs12722477, rs41557518 и rs66554220) и риском невынашивания беременности (НБ) у женщин с персистиентной бактериально-вирусной инфекцией (ПБВИ). Исследование показало, что аллель 110Pe (аллельная группа *HLA-G\*01:04*, rs12722477) гена *HLA-G* ассоциирован с риском НБ у женщин с персистиентной бактериально-вирусной инфекцией (OR=2,49 (1,91–5,21); P<sub>c</sub>=0,04).

**Ключевые слова:** *HLA-G*, полиморфизм, невынашивание беременности, инфекция

DOI: 10.31857/S102872210006466-7

**Адрес:** 650065 Кемерово, пр-т Ленинградский, д. 10. ФГБУН «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН)», лаборатория иммуногенетики. Гордеева Людмила Александровна. Тел./факс: +7(342)574996, 8913 322 78 99 (моб.).

**E-mail:** ihe@kemtel.ru

**Авторы:**

**Гордеева Л. А.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики ФГБУН «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН)», Кемерово, Россия;

**Воронина Е. Н.**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории фармакогеномики ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия;

**Поленок Е. Г.**, к.фарм-хим.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии ФГБУН «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН)», Кемерово, Россия;

**Мун С. А.**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики ФГБУН «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН)», Кемерово, Россия;

**Оленникова Р. В.**, врач-генетик Медико-генетической консультации, ГАУЗ Кемеровская областная клиническая больница, Кемерово, Россия;

**Филипенко М. Л.**, к.б.н., заведующий лабораторией фармакогеномики ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия;

**Глушков А. Н.**, д.м.н., замдиректора ФГБУН «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН)», Кемерово, Россия.

Невынашивание беременности (НБ) – наиболее распространенное осложнение беременности. Уникальность неклассических антигенов Главного комплекса гистосовместимости человека – *HLA-G* во время беременности заключается в том, что они не только отвечают за обеспечение толерантности матери к отцовским антигенам плода, но еще и поддерживают защиту к различным патогенам. Полиморфизм гена *HLA-G* оказывает влияние на биологические функции молекул *HLA-G*, связанные с особенностями продукции их изоформ, взаимодействия с клеточными рецепторами и модуляции иммунного ответа [1].

**Цель.** Изучить ассоциации между полиморфизмом гена *HLA-G* и риском НБ у женщин с персистентной бактериально-вирусной инфекцией.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемую группу (НБ) составили 112 женщин с двумя и более самопроизвольными выкидышами (min=2; max=6) до 20 недель беременности. Средний возраст составил  $30,0 \pm 4,7$  (SD) лет. Критериями исключения из обследования были наличие медицинских аборт, родов и внематочных беременностей. Диагностика бактериального вагиноза проводилась путем микроскопического исследования, инфекций цитомегаловируса (hCMV) и вируса простого герпеса типа 2 (HSV-2) – методами ИФА и ПЦР. На основании результатов тестирования женщины были поделены на две подгруппы. Подгруппу НБ I (персистирующая бактериально-вирусная инфекция, ПБВИ) составили 48 (42,8%) женщин с отсутствием специфических IgM антител к обоим вирусам, с индексом авидности IgG антител в пределах 40–60%, выявляемой ДНК вирусов CMV и/или HSV-2 в клетках цервикального канала, и с сопутствующим бактериальным вагинозом (68,8%). Подгруппу НБ II (бессимптомное носительство) вошли 64 (57,2%) женщины с отсутствием IgM антител, индексом авидности IgG антител более 60–70%, отсутствием ДНК обоих вирусов и нормальной микрофлорой влагалища. Группу сравнения (контроль) составили 233 здоровых и фертильных женщин, имеющих 1–2 здоровых детей. Критерием включения их в исследование было тщательное сопоставление результатов диагностических тестов, указанных выше переменных. Средний возраст женщин составил  $28,9 \pm 4,3$  (SD) лет. Все женщины дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Типирование *HLA-G* Thr31Ser (rs41551813) в экзоне 2, *HLA-G* Leu110Ile (rs12722477) и *HLA-G* 1597 ΔC (rs41557518) в экзоне 3 проводили методом асимметричной ПЦР в режиме реального времени. Полиморфизм гена *HLA-G* (14 bp Ins/Del, rs66554220) определяли с помощью электрофоретического разделения

продуктов амплификации. Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ GenABEL, Genetics программного обеспечения R-project ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)). Соответствие частот генотипов гена *HLA-G* равновесию Харди-Вайнберга оценивали с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. Нулевую гипотезу отвергали при  $P \leq 0,05$ . Отношение шансов (OR) и его доверительный интервал (95%CI) оценивали с помощью логистического регрессионного анализа для аддитивной модели наследования признака.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение частот генотипов rs41551813, rs12722477, rs41557518 и rs66554220 у женщин с НБ и в контроле соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ( $P > 0,05$ ). Обнаружена единственная ассоциация аллеля 110Ile (аллельная группа *HLA-G*\*01:04, rs12722477) гена *HLA-G* с риском НБ у женщин с ПБВИ (OR=2,49 (1,91–5,21);  $P_c=0,04$ , при сравнении подгрупп НБ I и НБ II; и OR=3,78 (1,60–8,93);  $P_c=0,02$  при сравнении подгрупп НБ I и контроль). При сравнении групп НБ II и контроль наблюдалось исчезновение значимой ассоциации аллеля 110Ile (rs12722477) с выкидышами ( $P=0,07$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты указывают на то, что ассоциация аллеля 110Ile (аллельная группа *HLA-G*\*01:04, rs12722477) с риском НБ реализуется только у женщин с ПБВИ. Повидимому, при формировании групп исследования в отношении НБ необходимо проводить исключение возможных ПБВИ. Данная информация может быть полезна для коррекции наблюдения беременных женщин с повышенным риском НБ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. L. Lynge Nilsson, S. Djuricic, T.V. Hviid. Controlling the Immunological Crosstalk during Conception and Pregnancy: HLA-G in Reproduction. Front Immunol. 2014, 13, 198, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00198>

**STUDYING OF THE ASSOCIATION BETWEEN *HLA-G* GENE POLYMORPHISM AND RISK RECURRENT MISCARRIAGE IN WOMEN WITH PERSISTENT BACTERIAL-VIRAL INFECTION**

© 2019 L. A. Gordeeva<sup>1\*</sup>, E. N. Voronina<sup>2</sup>, E. G. Polenok<sup>1</sup>, S. A. Mun<sup>1</sup>, R. V. Olennikova<sup>3</sup>, M. L. Filipenko<sup>2</sup>, A. N. Glushkov<sup>1</sup>

\*E-mail: ihe@kemtrel.ru

<sup>1</sup>Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS  
(Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia;

<sup>2</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia;

<sup>3</sup>Kemerovo Regional Clinical Hospital, Genetic Consultation, Kemerovo, Russia

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 28.03.2019

The associations between polymorphisms *HLA-G* (rs41551813, rs12722477, rs41557518 and rs16375) and recurrent miscarriage and risk of recurrent miscarriage (RM) in women with persistent bacterial-viral infection were investigated. It is found that the *HLA-G* rs12722477 110Ile allele is associated with the risk of RM only in women with persistent bacterial-viral infection (OR=2,49 (1,91–5,21);  $P_c=0,04$ ).

*Key words:* polymorphism, *HLA-G*, recurrent miscarriage, infection

**Authors:**

**Gordeeva L. A.**, ✉ PhD, leading researcher of Laboratory Immunogenetics, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia. **E-mail:** ihe@kemtrel.ru;

**Voronina E. N.**, PhD, researcher of Laboratory Pharmacogenomics, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia;

**Polenok E. G.**, PhD, leading researcher of Laboratory Immunochemistry, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia;

**Mun S. A.**, PhD, senior researcher of Laboratory Immunogenetics, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia;

**Olennikova R. V.**, geneticist, Kemerovo Regional Clinical Hospital, Genetic Consultation, Kemerovo, Russia;

**Filipenko M. L.**, PhD, Head of Laboratory Pharmacogenomics, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia;

**Glushkov A. N.**, MD, deputy director, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS (Institute of Human Ecology SB RAS), Kemerovo, Russia.

## ИДИОТИПИЧЕСКИЕ И АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА КАК НОВЫЕ МАРКЕРЫ РАКА ЛЕГКОГО

© 2019 г. И. С. Гребенщиков\*, А. Е. Студенников, А. Н. Глушков, В. А. Устинов

\*E-mail: GrebenshchikovIS@ihe.sbras.ru

«Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН»,  
Институт экологии человека, ФАНО России, Кемерово, Россия

Поступила: 13.03.2019. Принята: 25.03.2019

В нашей работе, при помощи прямого иммуноферментного анализа, был сделан анализ уровней идиотипических и антиидиотипических антител против полициклических ароматических углеводородов в сыворотке крови людей больных раком легкого и здоровых доноров. Было показано, что эти показатели антител между группами статистически достоверно отличаются. Основываясь на этих результатах, был разработан анализ для количественной оценки антител в сыворотке крови человека с помощью мультиплексного метода.

**Ключевые слова:** антитело, бензо[а]пирен, полициклические ароматические углеводороды, Bio-Plex 200, рак легкого

DOI: 10.31857/S102872210006581-4

**Адрес:** 650065 Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10, «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН», Институт экологии человека, ФАНО России, лаборатория биотехнологии. Гребенщиков Иван Сергеевич.

Тел./факс: +7(3842) 363462.

**E-mail:** GrebenshchikovIS@ihe.sbras.ru

**Авторы:**

**Гребенщиков И. С.**, аспирант, ведущий инженер-технолог лаборатории биотехнологии «Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН», Институт экологии человека, ФАНО России, Кемерово, Россия;

**Студенников А. Е.**, ведущий инженер-технолог лаборатории биотехнологии «Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН», Институт экологии человека, ФАНО России, Кемерово, Россия;

**Глушков А. Н.**, д.м.н, директор Института экологии человека «Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН», ФАНО России, Кемерово, Россия;

**Устинов В. А.**, к.б.н., заведующий лабораторией биотехнологии «Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН», Институт экологии человека, ФАНО России, Кемерово, Россия.

Бензо[а]пирен (Бп) представляет собой один из канцерогенов первого класса опасности. При попадании в организм человека, аддукты этого вещества способны связываться с ДНК, белка-

ми и липидами, что может запускать и стимулировать развитие онкологических процессов [1].

**Цель работы** — анализ иммунного ответа на Бп у различных групп людей.

Для изучения идиотипических (At1) и антиидиотипических (At2) антител против Бп в сыворотке крови человека были сформированы группы, которые включали в себя: здоровых доноров (277 человек), больных раком легкого (557 человек) и доноров с повышенным фактором риска онкозаболеваний — работники угольного предприятия (52 человека).

Анализ At1 и At2 в сыворотке крови проводили при помощи прямого иммуноферментного анализа [2]. В лунках иммунологического планшета были иммобилизованы конъюгат Бп-БСА (для анализа At1 из сыворотки крови) и идиотипическое одноцепочечное мышинное At1 против Бп (для анализа At2 из сыворотки крови). Детекция At из сыворотки крови проводилась с использованием анти-IgG человека, меченных пероксидазой. На основании полученных данных, все доноры были распределены в группы с учетом возраста, пола и курения. Постро-

енная математическая модель логистической регрессии была проверена анализом случайных выборок здоровых людей и пациентов с раком легкого, а также группой работников угольного предприятия [3]. Анализ с высокой вероятностью подтвердил состояние здоровья испытуемых. При этом показатели шахтеров оказались в промежуточном положении (группа риска возникновения рака легкого).

Статистический анализ полученных результатов позволил сделать следующие выводы:

1) Наиболее эффективным для прогнозирования рака лёгкого выступил параметр соотношения Ат2/Ат1.

2) Уровни Ат1 и Ат2 у мужчин и женщин различались при прогнозировании рака легкого. Для мужчин значимое отличие между здоровыми и больными было по Ат2, у женщин – по Ат1.

3) Возраст испытуемых влиял на прогнозирование рака легкого моделью логистической регрессии наравне с предикторами: Ат1, Ат2 и полом.

4) Фактор курения влиял на уровни Ат1 и Ат2 и прогнозирование рака легкого только во взаимосвязи с полом и возрастом.

5) Предложенные маркеры определения рака легкого позволяют выявлять группы риска данного заболевания среди здоровых людей.

Разработка количественного анализа Ат1 и Ат2 против Бп в сыворотке крови человека ста-

ла следующим шагом нашей работы. Для этого были использованы одноцепочечные человеческие Ат1 и Ат2. Эти антитела были химическим путем связаны с магнитными микросферами. Анализ микросфер проходил при помощи мультиплексной системы Bio-Plex-200 [4]. Метод анализа продемонстрировал низкий коэффициент варируемости для каждой анализируемой сыворотки, высокий уровень специфичности и чувствительности.

Работа поддержана программой гос. задания № 0352-2019-0011.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Kim K. H., Jahan S. A., Kabir E., Brown R. J. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environ Int.* 2013, 60, 71–80.
2. Ustinov V.A., Matveeva V.A., Kostyanko M.A., Glushkov A.N. Antibodies against benzo[a]pyrene in immunized mouse and in lung cancer patients. *Exp Oncol.* 2013, 35, 207–210.
3. Buratti M., Campo L., Fustinoni S., Cirila P.E., Martignotti I., Cavallo D., Foa V. Urinary hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons as biomarkers of exposure in asphalt workers. *Biomarkers.* 2007, 12(3), 221–239.
4. Zheng W, He L. Multiplexed Immunoassays. *Advanced Techniques in Immunoassays* published by Academic Press, 5 Penn Plaza, 19th Floor, New York, NY10001, USA, 2017, 143–164.

## IDIOTYPIC AND ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES AGAINST POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN HUMAN BLOOD SERUM ARE NEW BIOMARKERS OF LUNG CANCER

© 2019 I. S. Grebenschikov\*, A. E. Studennikov, A. N. Glushkov, V. A. Ustinov

\*E-mail: GrebenschikovIS@ihe.sbras.ru

Federal State Budget Scientific Institution «The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences»,  
Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 25.03.2019

We studied the levels of idiotypic and anti-idiotypic antibodies against benzo[a]pyrene in the blood serum of lung cancer patients and healthy donors by direct ELISA. It was shown that antibody levels between these groups was statistically significantly different. Based on these results, a quantify antibodies immunoassay in the human serum was developed using a multiplex method.

*Key words:* Antibody, polycyclic aromatic hydrocarbon, benzo[a]pyrene, Bio-Plex 200, lung cancer

**Authors:**

**Grebenshchikov I. S.**, ✉ Graduate Student, Leading Technologist in the Laboratory of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Institution 'The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences', Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia. **E-mail:** GrebenshchikovIS@ihe.sbras.ru;

**Studennikov A. E.**, Leading Technologist in the Laboratory of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Institution 'The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences', Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia;

**Glushkov A. N.**, MD, Chef of the Institute of Human Ecology, Federal State Budget Scientific Institution 'The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences', Kemerovo, Russia;

**Ustinov V. A.**, PhD, Leader the Laboratory of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Institution 'The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences', Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia.

## УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В КОПРОФИЛЬТРАТАХ БОЛЬНЫХ РЕАКТИВНЫМ АРТРИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ДИСБИОЗА КИШЕЧНИКА

© 2019 г. Е. И. Данилова<sup>1\*</sup>, О. Е. Челпаченко<sup>2</sup>, И. Н. Чайникова<sup>1,2</sup>,  
Е. В. Иванова<sup>1,2</sup>, И. А. Никифоров<sup>2</sup>

\*E-mail: danilowa@list.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

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

Поступила: 21.02.2019. Принята: 06.03.2019

Сравнительное клинико-иммунологическое обследование детей с реактивным артритом (РеА) и здоровых выявило повышение уровня провоспалительных (INF $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-6) и противовоспалительного (IL-10) цитокинов в копрофильтратах в зависимости от нарастания тяжести дисбиотических изменений кишечной микробиоты, что свидетельствует о возможности использования этих показателей в качестве диагностических и прогностических маркеров РеА.

**Ключевые слова:** цитокины, копрофильтраты, дисбиоз кишечника, реактивный артрит

DOI: 10.31857/S102872210006582-5

Адрес: 460000 Оренбург, ул. 63 линия дом 44,  
Данилова Елена Ивановна Тел.: 8 961 912 27 66 (моб.).  
E-mail: danilowa@list.ru

### Авторы:

**Данилова Е. И.**, к.м.н., доцент кафедры педиатрии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Челпаченко О. Е.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Чайникова И. Н.**, д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия; ведущий научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Иванова Е. В.**, д.м.н. доцент кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия; ведущий научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Никифоров И. А.**, к.г.-мн.н. ведущий научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Формирование гомеостаза кишечного биотопа связано с феноменом непрерывного взаимодействия между кишечной микробиотой и иммунными компонентами, регулируемые

цитокинами [1]. Установлено, что дисбиоз кишечника ведет к изменению физиологического баланса цитокинов, а именно, нарушению соотношения ИЛ-23/Тх-17, что в совокупности с повышением проницаемости кишечной стенки и механизмом транслокации компонентов условно-патогенных микроорганизмов способствует формированию реактивного артрита (РеА) [2].

**Цель работы** – определить уровень про- и противовоспалительных цитокинов в копрофильтратах детей с реактивным артритом в зависимости от степени дисбиоза кишечника.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение уровня провоспалительных (INF $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-6) и противовоспалительного (IL-10) цитокинов в копрофильтратах проводилось у 32 детей с РеА и 25 здоровых пациентов в возрасте от 3-х до 17-ти лет. Исследование микробиоценоза кишечника и оценка его состояния по степеням проводились в соответствии с приказом МЗ РФ от 9 июня 2003 года № 231. Уровень цитокинов в копрофильтратах определяли методом ИФА с использованием реагентов

«Цитокин» (СП-б, Россия), учет результатов проводили на фотометре Multiskan Labsystems (Финляндия) при длине волны 492 нм. Копрофильтраты готовили с использованием ингибиторов протеаз: ингибитор соевых бобов, контрикал. Результаты исследований статистически обработаны с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 10.0», t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна-Уитни, различия считались статистически достоверными при  $p < 0,05$ , при этом обозначение «\*» соответствует критерию достоверности различий показателей ( $p < 0,05$ ); «\*<sup>3</sup>» — отличие данного показателя от аналогичного при эубиозе внутри данной группы; «\*<sup>1</sup>» — отличие данного показателя от аналогичного при дисбиозе I-ой степени.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Бактериологическое обследование выявило дисбиоз кишечника (ДК) у 48 из 50 детей с РеА ( $96 \pm 2,8\%$ ), у здоровых —  $12,0 \pm 6,5\%$  детей,  $p < 0,05$ ; среди здоровых пациентов ДК I степени выявлен у  $4,0 \pm 3,9\%$  детей, II–III степени — у  $8,0 \pm 5,4\%$  пациентов. Среди детей с РеА дисбиоз I степени отмечался у  $6,0 \pm 3,4\%$  пациентов, II степени — у  $52,0 \pm 7,1\%$ , дисбиоз III степени — у  $42,0 \pm 6,9\%$  детей. В копрофильтратах здоровых и детей с РеА при эубиозе кишечника (ЭК) IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  не выявлялись. При ДК I степени у больных с РеА уровень IFN $\gamma$  в копрофильтратах составлял  $5,56(4,53–6,59)^*$  пг/мл ( $p < 0,05$ ); при ДК II степени —  $10,32(5,24–15,4)^{*1}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), при ДК III степени —  $17,41(7,42–27,5)^{*1}$  пг/мл,  $p < 0,05$ . У здоровых детей при ДК I степени уровень данного цитокина повышался до  $4,02(2,87–5,24)^{*3}$  пг/мл, при ДК II–III степени — до  $10,24(5,08–11,2)^{*3}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). У детей с РеА при ДК I степени уровень TNF $\alpha$  в копрофильтратах составлял  $1,75(0,3–3,2)^{*3}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), при ДК II степени повышался до  $3,4(0,66–6,19)^{*1}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), при ДК III степени был равен  $2,2(0,67–3,7)^{*3}$  пг/мл,  $p < 0,05$ . У здоровых детей при ДК I степени содержание TNF $\alpha$  в копрофильтратах повышалось до  $0,85(0,35–2,8)^{*3}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ); при ДК II–III степени — до  $1,5(0,62–3,4)^{*3}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Уровень IL-6 в копрофильтратах больных с ЭК и ДК I степени был ниже порога чувствительности диагностических наборов, при ДК II степени повышался до  $4,0(0,0–4,5)^{*3}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ),

а при ДК III степени — до  $5,7(0,0–6,1)^{*3}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). У здоровых детей с ЭК и ДК I степени IL-6 в копрофильтратах так же не выявлялся, в то время как при ДК II–III степени его уровень повышался до  $1,2(0,0–1,3)^{*3}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Противовоспалительный цитокин IL-10 в копрофильтратах больных с РеА и здоровых детей при ЭК и ДК I степени не определялся. У детей с РеА при ДК II степени содержание данного цитокина повышалось до  $3,44(2,37–4,52)^{*1}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), при дисбиозе III степени — до  $4,81(2,64–5,61)^{*1}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). У здоровых детей при ДК II–III степени количество ИЛ-10 в копрофильтратах возрастало до  $3,91(2,43–5,18)^{*1}$  пг/мл ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, сравнительный анализ результатов уровня провоспалительных (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-6) и противовоспалительного (IL-10) цитокинов в копрофильтратах детей с РеА и здоровых детей показал, что состояние эубиоза как у детей с РеА, так и у здоровых детей сопровождается нулевыми значениями провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Напротив, при нарастании тяжести кишечного дисбиоза от I-ой до III-ей степени отмечается достоверное повышение уровня провоспалительных (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-6) и противовоспалительного (IL-10) цитокинов в копрофильтратах у детей обеих групп. У детей с артритом отмечается тенденция к более выраженному росту этих показателей в сравнении с аналогичными показателями в группе здоровых детей. В этой связи представляется целесообразным определение цитокинов (IL-6, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  и IL-10) копрофильтратов в качестве критериев локальной антимикробной защиты кишечного биотопа у больных реактивным артритом, использования данных показателей в качестве факторов определения активности воспалительного процесса у больных РеА, для прогнозирования течения артрита и контроля эффективности проводимой противовоспалительной терапии.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ohland C. L., Jobin C. Microbial activities and intestinal homeostasis: A delicate balance between health and disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.*, 2015; 1(1): 28–40.
2. Yeoh N., Burton J. P., Suppiah P., Reid G., Stebbings S. The role of the microbiome in rheumatic diseases. *Curr. Rheumatol. Rep.*, 2013; 15:314.

**THE LEVEL OF THE INFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY  
CYTOKINES IN COPROFILTRATES OF THE PATIENTS WITH REACTIVE  
ARTHRITIS DEPENDING ON THE DEGREE OF INTESTINAL DYSBIOSIS**

© 2019 **E. I. Danilova<sup>1\*</sup>, O. E. Chelpachenko<sup>2</sup>, I. N. Chainikova<sup>1,2</sup>,  
E. V. Ivanova<sup>1,2</sup>, I. A. Nikiforov<sup>2</sup>**

*\*E-mail: danilowa@list.ru*

<sup>1</sup>*Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;*

<sup>2</sup>*Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
Orenburg, Russia*

**Received:** 21.02.2019. **Accepted:** 06.03.2019

A comparative clinical and immunological examination of children with reactive arthritis (ReA) and healthy revealed an increase in the level of pro-inflammatory (INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines in coprofilters depending on the increase in the severity of dysbiotic disorders of the intestinal microbiota, which indicates the possibility of using these criteria as diagnostic and prognostic markers of Re A.

*Key words:* cytokines, coprofilters, intestinal dysbiosis, reactive arthritis

**Authors:**

**Danilova E. I.**, ✉ Ph.D., Docent of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia. **E-mail:** danilowa@list.ru;

**Chelpachenko O. E.**, M.D., Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

**Chainikova I. N.**, M.D., Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

**Ivanova E. V.**, M.D., Docent of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation; Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

**Nikiforov I. A.**, Ph.D., Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia.

## ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ КОНОТРУНКУСА БЕЗ ХРОМОСОМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

© 2019 г. Н. С. Деева<sup>1,2</sup>, А. В. Цепочкина<sup>1</sup>, А. В. Шабалдин<sup>1,2\*</sup>,  
С. А. Шмулевич<sup>3</sup>, Е. Н. Воронина<sup>4</sup>, М. Л. Филипенко<sup>4</sup>,  
Е. В. Шабалдина<sup>2</sup>

\*E-mail: weit2007@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем  
сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,  
Кемерово, Россия;

<sup>3</sup>ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер  
имени академика Л. С. Барбараша», Кемерово, Россия;

<sup>4</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского  
отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Исследование посвящено изучению роли гена *HLA-G 3'UTR* в развитии пороков конотрункуса. В исследование включено 14 детей с тетрадой Фалло и 103 условно-здоровых ребенка. Типирование *HLA-G 3'UTR* проводили методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР), в соответствии с протоколом производителя (Applied Biosystems, USA), с дальнейшей детекцией результатов в полиакриламидном геле. Выявлено, что в группе детей с тетрадой Фалло гомозиготный генотип *HLA-G 3'UTR14-bp ins/ins* встречался статистически значимо чаще, по сравнению с группой контроля.

**Ключевые слова:** тетрада Фалло, *HLA-G*, система «мать-эмбрион/плод», иммунное воспаление

DOI: 10.31857/S102872210006583-6

**Адрес:** 650002 Кемерово, Сосновый бульвар 6, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», лаборатория клеточных технологий. Шабалдин Андрей Владимирович.

Тел.: 8 903 907 51 97

**E-mail:** weit2007@yandex.ru

**Авторы:**

**Деева Н. С.**, лаборант-исследователь лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

**Цепочкина А. В.**, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

**Шабалдин А. В.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

**Шмулевич С. А.**, к.м.н., заведующая детским отделением ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер имени академика Л. С. Барбараша», Кемерово, Россия;

**Воронина Е. Н.**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории фармакогеномики ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия;

**Филипенко М. Л.**, к.б.н., заведующий лабораторией фармакогеномики ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия;

**Шабалдина Е. В.**, д.м.н., заведующая кафедрой оториноларингологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Кемерово, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Во всем мире врожденные пороки сердца (ВПС) являются одной из ведущих причин инвалидизации и смертности в детском возрасте. Показано, что их удельный вес среди всей врожденной патологии превышает 50% [1]. При этом, более 80% ВПС являются спорадическими (без семейной истории) и не связаны с хромосомными заболеваниями [2]. Известно,

что формирование сердечно-сосудистой системы приходится на 2–7 неделю эмбрионального периода, и в этот же временной период идет активное взаимодействие полуаллогенного эмбриона с материнским иммунным микроокружением, схожее по клеточным и гуморальным реакциям с воспалительным ответом. Декомпенсация воспалительного процесса в системе «мать-эмбрион/плод» может трансформироваться в тератогенез сердца и сосудов.

Важной молекулой, ограничивающей иммунное воспаление, является эмбриональная HLA-G, которая блокирует киллерные рецепторы (KIR2DL4 и ILT-2) маточных иммунокомпетентных лимфоцитов (натуральных киллеров и натуральных киллерных Т-лимфоцитов).

Исходя из этого, врожденные пороки конотрункуса рассматриваются с точки зрения воздействия альтерирующего компонента иммунного воспаления в микроокружении эмбриона, которое возникает при конфликте по HLA в системе «мать-эмбрион/плод» и оказывает тератогенное действие на сердечно-сосудистую систему.

**Цель.** Изучить распределение аллелей и генотипов *HLA-G 3'UTR14-bp* у детей с пороками конотрункуса без хромосомных заболеваний.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 14 детей с диагнозом тетрада Фалло без хромосомных заболеваний (основная группа) и 103 неродственных донора (контрольная группа). Материалом для исследования послужила геномная ДНК, выделенная из лимфоцитов периферической крови, методом фенол-хлороформной экстракции. Амплификацию полиморфных участков генов проводили методом ПЦР, в соответствии с протоколом производителя (Applied Biosystems, USA), с дальнейшей электрофоретической детекцией результатов в 7,5% полиакриламидном геле.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 8.0. (Stat Soft Inc., США). Равновесие Харди-Вайнберга определяли при помощи критерия хи-квадрат Пирсона. Для оценки риска вычислялось отношение шансов (OR) и 95% доверительный интервал к нему (CI). Различия считались статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что распределение генотипов *HLA-G 3'UTR* (14-bp del/del; 14-bp ins/ins; del/ins) детей обеих групп не отклонялось от расчетных величин, полученных по уравнению Харди-Вайнберга. Выявлено, что в основной группе детей с пороками конотрункуса (тетрада Фалло) достоверно чаще встречался гомозиготный генотип *HLA-G 3'UTR ins/ins*, по отношению к контрольной группе (5,48% против 3,84%,  $p < 0,05$ ; OR=3,57; 95% CI=1,51–8,44).

При гомозиготном генотипе плода *HLA-G 3'UTR ins/ins* происходит удлинение на 14 bp длины 3' UTR, что приводит к уменьшению устойчивости транслируемой РНК к действию ферментов РНКаз. Снижение экспрессии молекулы HLA-G на клетках эмбриона сведет к минимуму блокирование киллерных рецепторов (KIR2DL4 и ILT-2), что повлечет за собой атаку эмбриона НК-лимфоцитами матки [3]. Декомпенсация конфликта в системе «мать-эмбрион/плод» приведет к запуску иммунного воспаления, альтерирующий компонент которого может оказывать тератогенное действие и приводить к развитию ВПС.

## ВЫВОД

В данной работе установлена положительная ассоциация гомозиготного генотипа *HLA-G 3'UTR ins/ins* с риском формирования спорадического врожденного порока конотрункуса (тетрада Фалло) без хромосомных заболеваний.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hinton R. B. Genetic and environmental factors contributing to cardiovascular malformation: a unified approach to risk. J Am Heart Assoc 2014;3: e000292.
2. Yu D., Feng Y., Yang L., Da M., Fan C., Wang S., Mo X. Maternal Socioeconomic Status and the Risk of Congenital Heart Defects in Offspring: A Meta-Analysis of 33 Studies. Wallace GR, ed. PLoS ONE. 2014.
3. Mandò Ch., Pileri P., Mazzocco M. I., Lattuada D., Zolin A., Plebani M. Maternal and fetal HLA-G 14 bp gene polymorphism in pregnancy-induced hypertension, preeclampsia, intrauterine growth restricted and normal pregnancies. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2016, V.29(9); 1509–15.

**IMMUNOGENETIC ASPECTS OF THE FORMATION OF CONGENITAL CONOTRUNCUS WITHOUT CHROMOSOMAL DISEASES**

© 2019 N. S. Deeva<sup>1,2</sup>, A. V. Tsepokina<sup>1</sup>, A. V. Shabaldin<sup>1,2\*</sup>,  
S. A. Shmulevich<sup>3</sup>, E. N. Voronina<sup>4</sup>, M. L. Filipenko<sup>4</sup>,  
E. V. Shabaldina<sup>2</sup>

\*E-mail: weit2007@yandex.ru

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Institution «Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russia;

<sup>2</sup>Federal state budgetary educational institution of higher education «Kemerovo state medical University» of the Ministry of health of the Russian Federation, Kemerovo, Russia;

<sup>3</sup>State budgetary institution of health care «Kemerovo regional clinical cardiology clinic named after academician L. S. Barbarash», Kemerovo, Russia;

<sup>4</sup>Federal state budgetary scientific institution «Institute of chemical biology and fundamental medicine of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences», Novosibirsk, Russia

**Received:** 14.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

The study showed the role of the gene *HLA-G 3'UTR* in the development of congenital malformations of conotruncus. The study included 14 children with tetralogy of Fallot and 103 healthy children. *HLA-G 3'UTR* typing was performed by amplification of polymorphic gene sites by allele-specific polymerase chain reaction (PCR), in accordance with the manufacturer's Protocol (Applied Biosystems, USA), with further detection of results in polyacrylamide gel. The study found that in the group of children with a tetralogy of Fallot homozygous genotype *HLA-G 3'UTR14-bp ins/ins* met statistically significantly more often than in the control group.

*Key words:* tetralogy of Fallot, HLA-G, «mother-embryo/fetus» system, immune inflammation

**Authors:**

**Deeva N. S.**, laboratory assistant-researcher of the laboratory of cellular technologies of Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases" Kemerovo, Russia;

**Tsepokina A. V.**, junior researcher of the laboratory of genomic medicine of Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases" Kemerovo, Russia;

**Shabaldin A. V.**, M.D., leading researcher of laboratory of cell technologies of Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russia. **E-mail:** weit2007@yandex.ru;

**Shmulevich S. A.**, PhD, head of children's Department of "Kemerovo regional clinical cardiology clinic named after academician L. S. Barbarash", Kemerovo, Russia;

**Voronina E. N.**, PhD, researcher of the laboratory of pharmacogenomics of Federal state budgetary scientific institution "Institute of chemical biology and fundamental medicine of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences", Novosibirsk, Russia;

**Filipenko M. L.**, PhD, head of the laboratory of pharmacogenomics of Federal state budgetary scientific institution "Institute of chemical biology and fundamental medicine of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences", Novosibirsk, Russia;

**Shabaldina E. V.**, M.D., head of the Department of otolaryngology of the state budgetary educational institution of higher education "Kemerovo state medical University", Kemerovo, Russia.

## ВРОЖДЕННЫЙ И АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ НА ФОНЕ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ; КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ

© 2019 г. С. А. Долгарева\*, О. Н. Бушмина, Н. А. Конопля,  
О. В. Хорлякова

\*E-mail: [dolgareva-svetlana@yandex.ru](mailto:dolgareva-svetlana@yandex.ru)

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Курск, Россия

Поступила: 15.02.2019. Принята: 01.03.2019

При экспериментальном остром деструктивном панкреатите на фоне 60-дневной хронической алкогольной интоксикации, по сравнению с введением только этанола, установлена более выраженная супрессия формирования адаптивной клеточной и гуморальной форм иммунного ответа на эритроциты барана, снижение фагоцитарных возможностей нейтрофилов при повышении их кислородзависимой активности. Использование глутоксима, мексидола и гептрала, нормализовало и корригировало большинство измененных иммунных показателей.

**Ключевые слова:** нарушения адаптивного и врожденного иммунитета, острый панкреатит, алкогольная интоксикация, коррекция

DOI: 10.31857/S102872210006584-7

Адрес: 305041 Курск, ул. Карла Маркса, д. 3; ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра биологической химии. Долгарева Светлана Анатольевна.

Тел.: +7 (4712) 588146, +7910 3166402 (моб.)

E-mail: [dolgareva-svetlana@yandex.ru](mailto:dolgareva-svetlana@yandex.ru)

Авторы:

Долгарева С. А., д. м. н., профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

Бушмина О. Н., ассистент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

Конопля Н. А., д. м. н., профессор кафедры оториноларингологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

Хорлякова О. В., к. ф. н., доцент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия.

Хроническая интоксикация этанолом, деструктивные формы панкреатита самостоятельно индуцируют развитие иммунодефицита и снижение процессов регенерации [1–4]. В то же время малочисленны исследования, в том числе экспериментальные, касающиеся иммунометаболических нарушений при остром панкреатите на

фоне хронической алкогольной интоксикации, хотя изменения при этом сочетании создают негативный фон для формирования осложнений и значительное повышение летальности.

В соответствии с этим, целью исследований стала оценка изменений адаптивного иммунитета, функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови и разработка методов фармакологической коррекции выявленных изменений при экспериментальном остром панкреатите на фоне хронической алкогольной интоксикации.

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Исследования проведены на 142 здоровых половозрелых крысах Вистар с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных (г. Страсбург, Франция, 1986). Хроническую алкогольную интоксикацию моделировали 60-кратным (ХАИ), через 24 часа, внутрижелудочным введением 20% раствора этанола (2 мл/кг). Острый деструктивный панкреатит (ОДП) вызывали на 55 день после первого введения этанола перевязкой протока

левой и правой долей поджелудочной железы, с последующей трехкратной через 60 мин стимуляцией прозеринумом в дозе 0,2 мг/кг. Экспериментальных животных делили на три группы: 1-я подвергалась воздействию этанола, 2-й группе моделировали ОДП на фоне ХАИ, 3-я группа с ОДП и ХАИ получала глутоксим (20 мг/кг, внутримышечно, через 24 часа, № 5), мексидол (50 мг/кг внутривнутрибрюшинно, через 24 часа, № 15) и гептрал (760 мг/кг, внутривнутрибрюшинно, через 24 часа, № 5). Забой крыс осуществляли через 24 часа после последнего введения этанола и препаратов или на 5-й день после иммунизации или сенсибилизации эритроцитами барана (ЭБ). Группа контроля состояла из 15 здоровых животных. Клеточную форму адаптивного иммунного ответа оценивали по степени развития реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к ЭБ. ГЗТ воспроизводили путем внутривнутрибрюшинного введения ЭБ: сенсибилизирующей ( $10^8$  клеток) и на четвертые сутки разрешающей дозы ( $10^6$  клеток). О выраженности ГЗТ судили через сутки после введения разрешающей дозы ЭБ по разнице масс регионарного и контралатерального лимфатических узлов (РМ) и по разнице количества в них кариоцитов (РК). Гуморальный иммунный ответ (ГИО) индуцировали однократным внутривнутрибрюшинным введением ЭБ в дозе  $2 \times 10^9$  клеток на 1 кг массы тела. Степень развития ГИО на ЭБ оценивали на 5-е сутки после иммунизации по числу иммунных антителообразующих клеток (АОК) в селезенке. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови оценивалась по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ), а кислородзависимую – по НСТ-тестам спонтанному (НСТ-сп.) и стимулированному опсонизированным и неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з, НСТ-ст. о/з), коэффициентам опсонизации, активации на опсонизированный и неопсонизированный зимозан (КО, КАН, КАО). Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления медианы (Me) и 25 и 75 процентилей с помощью пакета компьютерной программы Statistica 8. Существенность различий оценивали по U-критерию Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ХАИ угнетала фагоцитарную (ФП, ФЧ, ИАФ), но стимулировала часть параметров кислородзависимой активности нейтрофилов пе-

риферической крови (НСТ-сп. и НСТ-ст. н/з). При этом уровень НСТ-ст. о/з и резервы кислородзависимой активности фагоцитов (КАО, КАН и КО) в этих группах не отличался от показателей контроля. У крыс с ОДП на фоне ХАИ отмечалось более выраженное снижение ФП, ФЧ, ИАФ и повышение НСТ-сп., НСТ-ст. о/з и н/з. При экспериментальном ОДП на ХАИ использование сочетания глутоксима, мексидола и гептрала корригировало, но не до значений контроля как фагоцитарную, так и кислородзависимую активность полиморфно-ядерных лейкоцитов. При ХАИ также установлена супрессия формирования адаптивной клеточной и гуморальной форм иммунного ответа, о чем свидетельствовало снижение иммунных АОК в селезенке и РМ и РК. При ОДП на фоне ХАИ-60 установлено по сравнению с животными, получавшими только этанол, более выраженное ингибирование ГИО и ГЗТ на ЭБ. Применение глутоксима, мексидола и гептрала корригировало как уровень иммунных АОК, так и РМ, РК, но не до параметров здоровых животных.

Таким образом, можно утверждать, что при остром панкреатите, развивающимся на фоне преморбидного фона в виде длительного воздействия этанола, более эффективной является комбинированная фармакотерапия, позволяющая воздействовать сразу на несколько звеньев патогенеза заболевания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Бровкина И. Л., Быстрова Н. А., Гаврилюк В. П., Павлова М. В. Иммунометаболические нарушения в условиях экспериментальной этанольной интоксикации. Вестн. новых мед. технол. 2007, 14(2), 9–11. [Brovkina I. L., Bystrova N. A., Gavriilyuk V. P., Pavlova M. V. Immune and metabolic infringements at an experimental poisoning with ethanol Vestn. novykhmed. tekhnol. 2007, 15(2), 9–11.]
2. Винник Ю. С., Дунаевская С. С., Антюфриева Д. А. Риск развития осложнений при остром алкоголь-ассоциированном панкреатите. Новости хирургии 2012, 20(4), 38–41. [Vinnik Yu. S., Dunaevskaya S. S., Antyufrieva D. A. Risk razvitiya oslozhnenij pri ostromalkogol'-associirovannom pankreatite. Novosti hirurgii 2012, 20(4), 38–41.]
3. Конопля А. И., Локтионов А. Л., Дудка В. В., Долгарева С. А., Сорокин А. В., Бушмина О. Н. Хроническая интоксикация этанолом: метаболические изменения, коррекция нарушений. Токсикологический вестник 2015, 5, 25–30. [Konoplya A. I., Loktionov A. L., Dudka V. V., Dolgareva S. A., Sorokin A. V., Bushmina O. N. Hronicheskaya intoksikaciya ehtanolom: metabolicheskie izmeneniya, korrekciya narushenij. Toksikologicheskij vestnik 2015, 5, 25–30.]

4. Локтионов А. Л., Конопля А. И., Евсегнеева И. В. Острый панкреатит как клинико-иммунологическая проблема (обзор литературы). Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогенетика 2013, 17(11), 3–17. [Loktionov A. L., Konoplya A. I., Evsegneeva I. V. Ostryj pankreatit kak kliniko-immunologicheskaya problema (obzor literatury). Fiziologiya i patologiya immunnoj sistemy. Immunofarmakogenetika 2013, 17(11), 3–17.]

**CONGENITAL AND ADAPTIVE IMMUNITY UNDER EXPERIMENTAL  
ACUTE PANCREATITIS DUE TO ALCOHOLIC INTOXICATION;  
CORRECTION OF DISORDERS**

© 2019 S. A. Dolgareva\*, O. N. Bushmina, N. A. Konoplya,  
O. V. Khorlyakova

\*E-mail: [dolgareva-svetlana@yandex.ru](mailto:dolgareva-svetlana@yandex.ru)  
Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Received: 15.02.2019. Accepted: 01.03.2019

In experimental acute destructive pancreatitis due to 60-day-long chronic alcohol intoxication, in comparison with the introduction of ethanol only, more pronounced suppression of adoptive cellular and humoral forms formation of the immune response to sheep erythrocytes, a decrease in the phagocytic capabilities of neutrophils with an increase in their oxygen-dependent activity have been determined. The use of glutoxim, mexidol and heptral has normalized and corrected most of the altered immune parameters.

*Key words:* disorders of adoptive and congenial immunity, acute pancreatitis, alcohol intoxication, correction

**Authors:**

**Dolgareva S. A.**, ✉ ScD in Medicine, Professor, the Biological Chemistry Department, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. E-mail: [dolgareva-svetlana@yandex.ru](mailto:dolgareva-svetlana@yandex.ru);

**Bushmina O. N.**, assistance lecturer, the Biological Chemistry Department, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Konoplya N. A.**, ScD in Medicine, Professor, the Otorhinolaryngology Department, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Khorlyakova O. V.**, PhD in Pharmacy, Assistant Professor, the Biological Chemistry Department, Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

## ПРЕДИКТОРНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА И ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ

© 2019 г. М. С. Долгополов\*, Е. В. Просекова

\*E-mail: gades.med@mail.ru

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Владивосток, Россия

Поступила: 22.02.2019. Принята: 04.03.2019

В настоящее время, не смотря на значительное число исследований, актуальными остаются вопросы изучения полиморфизмов генов, ассоциированных с регуляцией иммунного гомеостаза при аллергических заболеваниях. Цель работы включала анализ частоты встречаемости вариаций генотипов интерферона-гамма и интерлейкина-4 у детей с бронхиальной астмой и здоровых сверстников. В результате проведенного исследования установлено значительное преобладание гетерозиготного варианта гена IL-4 в группе здоровых детей и группе сверстников с БА, гаплотип СС превалирует у здоровых сверстников. При анализе генетической вариации гена IFN $\gamma$  протективный эффект выявлен при гаплотипе ТТ и гетерозиготном варианте АТ в отношении риска развития бронхиальной астмы. Результаты исследования позволяют рекомендовать гаплотип ТТ в качестве протективного маркера развития аллергической БА. В исследованиях установлена предикторная значимость полиморфизмов генов IFN $\gamma$  и IL-4 при бронхиальной астме у детей.

**Ключевые слова:** генетические предикторы, бронхиальная астма, полиморфизм генов цитокинов

DOI: 10.31857/S102872210006585-8

Адрес: 690106 Владивосток, проспект Острякова, 2, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии. Долгополов Максим Сергеевич. Тел.: 8242375508 (моб.).  
E-mail: gades.med@mail.ru

### Авторы:

Долгополов М. С., ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, аспирант ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

Просекова Е. В., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Бронхиальная астма (БА) мультифакториальное заболевание, в патогенезе которого особое место занимает генетически обусловленные нарушения иммунного гомеостаза [1, 2, 3]. Риск развития бронхиальной астмы ассоциирован

с определенными аллельными вариантами генов в генотипе, продукты которых участвуют в цитокиновой регуляции иммунного ответа. Дисбаланс в функционировании системы цитокинов обуславливают риск развития и реализации аллергических заболеваний, влияет на продолжительность и интенсивность воспалительных реакций [1–4].

Полиморфизм гена интерлейкин-4 (IL-4) в промоторной области С590Т приводит к усилению активности гена и повышению продукции самого цитокина, активирующего синтез Ig E. Оппозитным действием в регуляции иммунного процесса при атопических аллергических заболеваниях обладает интерферон-гамма (IFN $\gamma$ ) [4, 5]. Значимость отдельных локусов в процесс реализации заболевания, модулируется влиянием генетического окружения и воздействием факторов окружающей среды [1, 2, 4].

**Цель исследования:** анализ частоты встречаемости вариаций генотипов IFN $\gamma$  и IL-4 у детей с бронхиальной астмой.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено у 90 детей (в возрасте от 3 до 11 лет) с верифицированным диагнозом бронхиальной астмы и 30 здоровых сверстников. Материалом исследования являлась венозная кровь. ДНК выделяли с помощью набора «GeneJET Genomic DNA Purification Kit» с дальнейшей оценкой генотипа IL-4 C-590T аллель-специфической полимеразной цепной реакцией. Детекцию участков ДНК осуществляли методом электрофореза в 2% агарозном геле и визуализировали в ультрафиолетовом спектре. Для анализа вариантов полиморфизма 874 А/Т гена IFN $\gamma$  использовали метод ПЦР в реальном времени по технологии TaqMan.

Для обработки цифровых данных использовали методы описательной и при распределении отличном от нормального с коэффициентом вариации CV>30% непараметрической статистики, корреляционного анализа (критерий  $\chi^2$ ). Объем выполненных исследований и валидные статистические методы позволили оценить результаты с достоверностью и критическим уровнем значимости  $p < 0,01$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ однонуклеотидных полиморфизмов генов оппозитных цитокинов в группе здоровых детей без отягощенной аллергической наследственности выявил следующую структуру генотипов IL-4: гомозиготный СС – 74% и ТТ – 4,3%, гетерозиготный ТС – 21,7%. У пациентов с бронхиальной астмой частота встречаемости генотипа СС у 10%, ТС и ТТ по 45%. Критерий достоверности  $\chi^2$  составил – 14.630, что определило  $p < 0,01$  и статистически сильную связь носительства варианта -590Т при уровне значимости  $p < 0,001$ . Распределение вариаций генотипов IFN $\gamma$  в контрольной группе детей без ал-

лергопатологии соответствовало: гомозиготный вариант АА – 13%, ТТ – 30% и гетерозиготный АТ – 57%. У детей с бронхиальной астмой установлено следующее распределение АА – 62,5%, ТТ – 17,5% и 20% варианта АТ. Значение критерия  $\chi^2$  составляет 28.062. Критическое значение  $\chi^2$  при уровне значимости  $p = 0,01$  составляет 9.21.

В результате проведенного исследования установлено значительное преобладание гетерозиготного варианта гена IL-4 в группе здоровых детей и группе сверстников с БА, гаплотип СС превалирует у здоровых сверстников. При анализе генетической вариации гена IFN $\gamma$  протективный эффект выявлен при гаплотипе ТТ и гетерозиготном варианте АТ в отношении риска развития бронхиальной астмы. Результаты исследования позволяют рекомендовать гаплотип ТТ в качестве протективного маркера развития аллергической БА.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Lauener R. Genetics of asthma. EAACI Global Atlas of Asthma. Zurich: European Academy of Allergy and Clinical Immunology. 2013, 23–24.
2. Симбирцев А. С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. Фолиант, СПб 2018, 512. [Simbirtsev A. S. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases. Folio, St. Petersburg 2018, 512.]
3. Lambrecht B. N., Hammad H. The immunology of asthma. Nat. Immunol. 2015, 16, 45–56.
4. Смольникова М. В., Фрейдлин М. Б., Смирнова С. В. Гены цитокинов как генетические маркеры атопической бронхиальной астмы с контролируемым и неконтролируемым течением. Медицинская иммунология. 2017, 19(5), 605–614. [Smolnikova M. V., Freidin M. B., Smirnova S. V. Cytokine genes as genetic markers of controlled and uncontrolled atopic bronchial asthma. Medical Immunology. 2017, 19(5), 605–614.]
5. Tang L., Lin H. G., Chen B. F. Association of IL-4 promoter polymorphisms with asthma: a metaanalysis. GenetMolRes. 2014, 13(1), 1383–1394.

**PREDICTOR SIGNIFICANCE OF POLYMORPHISMS  
OF INTERFERON GAMMA AND INTERLEUKIN4 GENES  
IN CHILDREN IN BRONCHIAL ASTHMA**

© 2019 M. S. Dolgopolov\*, E. V. Prosekova

\*E-mail: gades.med@mail.ru

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Pacific State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Vladivostok, Russia*

**Received:** 22.02.2019. **Accepted:** 04.03.2019

At present, in spite of a considerable number of studies, the questions of studying the polymorphisms of genes associated with the regulation of immune homeostasis in allergic diseases remain relevant. The aim of the work included the analysis of the frequency of occurrence of variations in the interferon-gamma and interleukin-4 genotypes in children with asthma and healthy peers. As a result of the study, a significant prevalence of the heterozygous variant of the  $IL-4$  gene was found in the group of healthy children and the peer group with BA, the haplotype CC prevails in healthy peers. When analyzing the genetic variation of the  $IFN\gamma$  gene, a protective effect was revealed in the haplotype of TT and the heterozygous variant of AT in relation to the risk of developing bronchial asthma. The results of the study allow us to recommend haplotype TT as a protective marker for the development of allergic BA. The studies established the predictor significance of polymorphisms of the  $IFN\gamma$  and  $IL-4$  genes in children with bronchial asthma.

*Key words:* genetic predictors, bronchial asthma, cytokine gene polymorphism

**Authors:**

**Dolgopolov M. S.**, ✉ Teaching Assistant of Department of Clinical Laboratory Diagnostics and General and Clinical Immunology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Pacific State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Vladivostok, Russia. **E-mail:** gades.med@mail.ru;

**Prosekova E. V.**, Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of Department of Clinical Laboratory Diagnostics and General and Clinical Immunology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Pacific State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Vladivostok, Russia.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛЫМ СЕПСИСОМ И СЕПТИЧЕСКИМ ШОКОМ

© 2019 г. И. И. Долгушин<sup>1</sup>, А. Ю. Савочкина<sup>1\*</sup>, Л. Р. Пыхова<sup>1</sup>,  
О. С. Абрамовских<sup>1</sup>, Е. А. Четвернина<sup>1</sup>, А. Е. Полторак<sup>2</sup>

\*E-mail: [alina7423@mail.ru](mailto:alina7423@mail.ru)

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения РФ, Челябинск, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Проведен сравнительный анализ показателей функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных с сепсисом в зависимости от тяжести течения заболевания. Выявлено увеличение общего количества лейкоцитов, нейтрофильных внеклеточных сетей, показателей поглотительной активности нейтрофилов и активности внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных с септическим шоком.

**Ключевые слова:** тяжелый сепсис, септический шок, нейтрофильные внеклеточные ловушки

DOI: 10.31857/S102872210006586-9

Адрес: 454092, Челябинск, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Долгушин Илья Ильич. Тел.: +79127725806.

E-mail: [alina7423@mail.ru](mailto:alina7423@mail.ru)

### Авторы:

**Долгушин И. И.**, д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и КЛД, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Савочкина А. Ю.**, д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и КЛД ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Пыхова Л. Р.**, старший лаборант ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Абрамовских О. С.**, д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и КЛД ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Четвернина Е. А.**, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и КЛД ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Полторак А. Е.**, врач-хирург хирургического отделения № 1 ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Пока учёные делают научные открытия и проводят исследования в области лечения СПИДа, диабета и рака, в мире всё ещё остаются заболевания, которые для многих людей заканчиваются летальным исходом. Одним из таких является сепсис. Даже в ведущих клиниках на сегодняшний день летальность при тяжелом сепсисе достигает 40% и 80–90% при септическом шоке [1]. Начиная с 1991 г. и до 2016 г. трижды менялись представления о диагностических критериях и определении понятия сепсис. Согласно новым дефинициям (Sepsis-3, 2016 г.) сепсис необходимо рассматривать не как синдром системной воспалительной реакции в ответ на инфекцию, а как угрожающую жизни дисфункцию, причиной которой является дисрегуляторный ответ организма на инфекцию [1]. Дисрегуляторные нарушения при сепсисе могут наблюдаться в частности со стороны работы иммунной системы и непосредственно врожденного иммунитета, так как именно он является первой линией защиты нашего организма. Нейтрофильным

гранулоцитам в настоящее время отводится важная роль в развитии и поддержании воспалительных процессов, что обусловлено продукцией ими различных медиаторов воспаления [2]. Помимо способности к фагоцитозу и дегрануляции нейтрофилы обладают способностью образовывать внеклеточные структуры. Эти структуры получили название «нейтрофильные внеклеточные ловушки» (Neutrophil Extracellular Traps, NETs или НВЛ) [3]. Нейтрофильные ловушки – один из важных механизмов противоинфекционной защиты при сепсисе, биологическая роль которого не менее важна, чем способность к фагоцитозу и секреции медиаторов. Однако гиперактивация иммунной системы и резкое увеличение нейтрофильных сетей несет негативный характер и, как правило, приводит к летальному исходу [4].

Исходя из этого, **целью** настоящего исследования явилось изучение показателей функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных с сепсисом в зависимости от тяжести течения заболевания.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили 34 пациента с диагнозом сепсис, находившихся на лечение в хирургических отделениях и ОРИТ ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница». В зависимости от тяжести течения заболевания обследуемые были разделены на две группы: в 1-ю группу (n=15) включены пациенты с тяжелым сепсисом, во 2-ю группу (n=19) – с септическим шоком. Проводили забор венозной крови в динамике с момента постановки диагноза. Пациентам проводили комплекс лабораторных тестов по оценке функциональной активности нейтрофилов периферической крови, который включал: подсчет количества лейкоцитов (счетная камера Горяева) и лейкоцитарной формулы (окраска по Романовскому-Гимзе, световая иммерсионная микроскопия); проводили оценку фагоцитарной активности нейтрофилов (по методу Фрейдлин И. С., 1984), рассчитывали активность фагоцитоза, интенсивность фагоцитоза и фагоцитарное число; проводили оценку внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов (постановку НСТ-теста осуществляли в модификации А. Н. Маянского и М.К Виксмана 1979); проводили подсчет нейтрофильных внеклеточных ловушек (окраска по Романовскому-Гимзе, световая иммерсионная микроскопия). Полученные данные были обработаны методами дескриптивной статистики

и представлены в виде средней арифметической и её стандартной ошибки ( $M \pm m$ ). Различия между группами выявляли с помощью критерия Манна-Уитни и считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведения вышеописанных методик было выявлено несколько различий, имеющих статистическую значимость, а часть показателей имела тенденцию к увеличению в группе больных с септическим шоком. Наблюдалась тенденция к увеличению относительного и абсолютного количества нейтрофилов, общего количества лейкоцитов и палочкоядерных нейтрофилов в группе 2. Установлено достоверное увеличение относительного и абсолютного количества НВЛ у пациентов с септическим шоком. Результаты спонтанного НСТ-теста у больных с тяжелым сепсисом были выше, чем у больных с септическим шоком, а результаты индуцированного НСТ-теста ниже. Показатели поглотительной активности нейтрофилов (активность фагоцитоза, интенсивность фагоцитоза и фагоцитарное число) у больных с септическим шоком отличаются достоверным увеличением от таковых у больных с тяжелым сепсисом. Также было установлено снижение количества моноцитов и лимфоцитов в группе 2.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании установлено, что подавляющее большинство показателей функциональной активности нейтрофилов и общее количество лейкоцитов у больных с септическим шоком при сравнении с аналогичными у больных с тяжелым сепсисом отличаются и характеризуются увеличением. Аналогичные данные были получены нами ранее при сравнении данных показателей у больных с летальным исходом с группой больных с благоприятным исходом [2]. Обращает на себя внимание тот факт, что летальность при септическом шоке почти в два раза выше нежели при тяжелом сепсисе. Это и объясняет прямую зависимость полученных нами ранее данных в группе больных с летальным исходом с данными полученными в этом исследовании в группе с септическим шоком. Все это говорит о том, что гиперактивация иммунной системы, чрезмерное образование сетей ДНК, содержащих различные медиаторы воспаления, нарушения регуляции фагоцитарной реакции биологически активными веществами (нейро-

медиаторами, гормонами, простагландинами, биогенными аминами, пептидами и др.) может вызвать локальные аутоиммунные реакции с повреждением тканей, а токсичность ферментов лизосом и метаболитов кислорода, присутствующих в нейтрофильных внеклеточных ловушках, ведет к повреждению эндотелия, появлению очагов внутрисосудистого воспаления, что наряду с действием микроорганизмов и их токсинов, приводит к развитию полиорганной недостаточности и наступлению смерти [2].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Shankar-Hari M., Phillips G. S., Levy M. L., Seymour C. W., Liu V. X., Deutschman C. S., Angus D. C., Rubenfeld G. D., Singer M. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *J.A.M.A.* 2016, 315(8), 775–787.
2. Долгушин И. И., Торопова Л. Р., Савочкина А. Ю., Абрамовских О. С., Четвернина Е. А., Полторак А. Е. Динамика изменения показателей функциональной активности нейтрофилов у больных сепсисом с неблагоприятным исходом. *Российский иммунологический журнал* 2017, 11(20), 2, 295–296. In: *Dolgushin I. I., Toropova L. R., Savochkina A. Y., Abramovskikh O. S., Chetvernina E. A., Poltorak A. E.* Dynamics of changes functional parameters of neutrophils in septic patients with a faroble outcome. *Russian journal of immunology* 2017, 11(20), 2, 295–296.
3. Brinkmann V., Rechard V., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D. S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004, 303, 1532–1535.
4. Савочкина А. Ю., Пыхова Л. Р., Абрамовских О. С., Полторак А. Е., Четвернина Е. А. Сравнительный анализ показателей функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных с сепсисом в зависимости от исхода. *Российский иммунологический журнал* 2018, 12(21), 4, 407–411 [A. Y. Savochkina, L. R. Pykhova, O. S. Abramovskikh, A. E. Poltorak, E. A. Chetvernina. Comparative analysis of the indicators of the functional activity of neutrophils peripheral blood in patients with sepsis depending on the exodusion. *Russian journal of immunology* 2018, 12(21), 4, 407–411.]

### COMPARATIVE ANALYSIS OF THE INDICATORS OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH SEVERE SEPSIS AND SEPTIC SHOCK

© 2019 I. I. Dolgushin<sup>1</sup>, A. Y. Savochkina<sup>1\*</sup>, L. R. Pykhova<sup>1</sup>, O. S. Abramovskikh<sup>1</sup>, E. A. Chetvernina<sup>1</sup>, A. E. Poltorak<sup>2</sup>

\*E-mail: alina7423@mail.ru

<sup>1</sup>South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

<sup>2</sup>Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 26.03.2019

A comparative analysis of the functional activity of peripheral blood neutrophils in patients with sepsis, depending on the severity of the disease, has been carried out. An increase in the total number of leukocytes, neutrophil extracellular networks, indicators of neutrophil absorption activity and the activity of intracellular oxygen-dependent metabolism of neutrophils in patients with septic shock was detected.

*Key words:* severe sepsis, septic shock, neutrophil extracellular traps

#### Authors:

**Dolgushin I. I.**, Ph.D. Professor of the department of Microbiology, Virology, Immunology and CLD, academician of RAS, honored scientist of the RF, president South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

**Savochkina A. Y.**, ✉ Ph.D. Professor of the department of Microbiology, Virology, Immunology and CLD South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. E-mail: alina7423@mail.ru;

**Pykhova L. R.**, Senior laboratory assistant of the central research laboratory South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

**Abramovskikh O. S.**, Ph.D. Professor of the department of Microbiology, Virology, Immunology and CLD South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

**Chetvernina E. A.**, Assistant of the department of Microbiology, Virology, Immunology and CLD South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

**Poltorak A. E.**, doctor surgeon of surgical department № 1 Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НОВОГО ИММУНОКОРРЕКТОРА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

© 2019 г. С. В. Дутова<sup>1\*</sup>, М. Р. Карпова<sup>2</sup>

\*E-mail: coluria@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России,  
Томск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

В статье представлены результаты доклинического исследования иммунокорригирующих свойств суммарного этанольного извлечения из сырья лекарственного растения народной медицины Сибири – колюрии гравилатовидной (*Coluria geoides* (Pall.) Ledeb.), *Rosaceae*). Оценивали влияние извлечения на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови и основные показатели гуморального иммунного ответа (число антителообразующих клеток селезенки и синтез антиэритроцитарных антител) на модели экспериментального иммунодефицита у инбредных мышей. Извлечение из сырья *C. geoides* проявило выраженное иммунокорригирующее действие, по отдельным параметрам превосходящим действие официальной настойки эхинацеи.

**Ключевые слова:** вторичный иммунодефицит, *Coluria geoides*, иммунокорригирующие свойства, фагоцитарная активность, антителообразующие клетки селезенки

DOI: 10.31857/S102872210006587-0

Адрес: 655017 Абакан, проспект Ленина 90, ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Медико-психолого-социальный институт, Дутова Светлана Вячеславовна. Тел./факс: +7 (3902) 237997, 8923 215 3667 (моб.)  
E-mail: coluria@mail.ru

**Авторы:**

Дутова С. В., д.фарм.н., доцент, и.о. заведующего кафедрой фундаментальной медицины и гигиены Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;  
Карпова М. Р., д.м.н., заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время доказана необходимость использования иммуностропных лекарственных средств (ИЛС) для терапии и профилактики вторичных иммунодефицитов, что позволяет сдерживать распространение множественной лекарственной устойчивости микроорганизмов и добиваться излечения пациентов с недостаточностью иммунного ответа [1, 2]. Несмотря на многочисленные данные о наличии иммуностимулирующих и иммунокорригирующих свойств у растений, степень внедрения в медицинскую практику лекарственных препаратов на их осно-

ве остается невысокой [3]. Это связано с определенными трудностями в описании механизмов действия и стандартизации комплексов биологически активных соединений растительного происхождения. В процессе поиска новых растительных источников ИЛС важным этапом является изучение растений из арсенала народной и традиционной медицины. В этом плане большой интерес представляет народная медицина коренных жителей Южной Сибири, на которую огромное влияние оказали традиционные системы врачевания, сложившиеся в Монголии, Китае, на Тибете. В связи с этим, **целью работы** явилось проведение доклинического исследования иммуностропных свойств суммарных извлечений из сырья эфирномасличного растения народной медицины, накапливающего в качестве основного компонента эвгенол – колюрии гравилатовидной (*Coluria geoides* (Pall.) Ledeb.), *Rosaceae*).

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению иммуностропной активности лекар-

ственных средств [4] на половозрелых инбредных мышцах линии СВА/СаЛас в возрасте 2–2,5 месяцев, полученных из отдела экспериментального биомедицинского моделирования ФГБУ «НИИ фармакологии им. Е. Д. Гольдберга» СО РАМН (г. Томск). Иммунотропные эффекты извлечения оценивали в сравнении с официальным лекарственным средством растительного происхождения – настойкой эхинацеи пурпурной (ООО «Ватхэм-Фармация», рег. № ЛСР-007043/09). Этаноловое извлечение из сырья *C. geoides* получали методом перколяции 40%-ным этиловым спиртом (извлечение С1), стандартизовали по выходу экстрактивных веществ и по содержанию *m*-кумаровой кислоты (методом высокоэффективной жидкостной хроматографии). Высушенное досуха извлечение С1 непосредственно перед экспериментом суспендировали в очищенной воде и в дозе 50 мг/кг, вводили животным в желудок в течение 5 дней. Экспериментальную модель иммунодепрессии у животных создавали однократным введением циклофосфана (ОАО «Биохимик», рег. № Р N001579/01) внутривентрально в максимально переносимой дозе для используемых экспериментальных животных (250 мг/кг). Влияние извлечения С1 на гуморальный иммунный ответ оценивали по способности стимулировать синтез антител-гемагглютининов и лимфопролиферативные процессы в селезенке после иммунизации животных тимусзависимым антигеном – эритроцитами барана в дозе 0,2 мл 15% суспензии. Забор материала для исследования осуществляли на 4, 7, 14 и 21 сутки после иммунизации. Фагоцитарную активность перитонеальных нейтрофилов оценивали по способности этих клеток поглощать частицы латекса (концентрация суспензии – 60 тыс. частиц/мл), учет результатов осуществляли микроскопически.

Полученные результаты обрабатывали с использованием пакетов программ «IBM SPSS Statistics 19» и «Statistica 6.1». Для проверки статистической значимости различий показателей использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (для сравнения независимых выборок), различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В целом, в экспериментах *in vivo* на модели экспериментального вторичного иммунодефицита извлечение С1 проявило иммунокорригирующее действие, сопоставимое с действием

настойки эхинацеи. Однако, по влиянию на активность фагоцитоза, на пролиферацию антигенообразующих клеток (АОК) селезенки и синтез иммуноглобулинов в процессе гуморального иммунного ответа – превосходящее действие препарата сравнения. Так, в условиях иммунодепрессии извлечение С1 оказало стимулирующее влияние на фагоцитирующую активность нейтрофилами периферической крови, статистически значимо повышая фагоцитарный индекс до 29,0(22,0÷35,0)% (в контроле у животных с иммунодефицитом 17,0(16,0–20,0)%; при введении препарата сравнения 14,0(13,0–22,0)%). Курсовое применение извлечения С1 (5 дней) устраняло иммунодепрессивное действие циклофосфана на гуморальный иммунный ответ, статистически значимо в 1,3–2,2 раза увеличивая содержание АОК селезенки по сравнению с показателями животных с иммунодефицитом: 23,8(22,6÷26,5)% и 19,0(17,6÷20,7)% соответственно на 7 день и 35,6(33,8÷38,2)% и 25,8(24,1÷26,2)% соответственно на 14 день наблюдения. Максимальное содержание АОК в группах экспериментальных животных регистрировали на 14 день после введения антигена, причем значение этого показателя у животных, получавших С-1, достоверно ( $p=0,017$ ) превысило показатель животных контрольной группы без иммунодепрессии. Введение животным настойки эхинацеи приводило к снижению числа АОК селезенки по сравнению с показателями животных с иммунодепрессией статистически значимо на 7 и 14 день после введения антигена, только на 21 день под его влиянием число АОК селезенки увеличивалось. Извлечение С1 также устраняло действие циклофосфана на синтез специфических иммуноглобулинов класса G (IgG), статистически значимо увеличивая их титр до значений животных контрольной группы без иммунодепрессии и выше до 21 дня наблюдения (пик синтеза). Препарат сравнения также стимулировал синтез специфических IgG, но пик их синтеза приходился на 14 день, а к 21 дню их концентрация снижалась.

Таким образом, извлечение из сырья *C. geoides* обладает выраженным иммунокорригирующим действием, по отдельным параметрам превосходящим действие официальной настойки эхинацеи. Причем в условиях отсутствия иммунодефицита их стимулирующее действие на иммунную систему выражено незначительно. Это свойство очень важно, так как оно характерно для истинных иммунокорректоров, активных только в условиях поврежденного иммунитета [5].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Караулов А. В., Калюжнин О. В. Иммуноterapia инфекционных болезней: проблемы и перспективы. Терапевтический архив. 2013, 85 (11), 100–108. [Karaulov A. V., Kaliuzhin O. V. Immunotherapy for infectious diseases: challenges and prospects // Terapevticheskiy arkhiv. – 2013, 85 (11), 100–108.]
2. Ревякина В. А. Перспективы использования растительных иммуномодуляторов в профилактике и терапии респираторных инфекций у детей. Инфекционные болезни, 2013, 11(1), 93–96. [Revyakina V. A. Perspectives in using herbal immunomodulators for prevention and therapy of respiratory infections in children // Infektsionnye bolezni 2013, 11(1), 93–96.]
3. Хобракова В. Б., Цыренова Д. З., Торопова А. А., Оленников Д. Н. Иммуномодулирующая и антиоксидантная активность сухого экстракта *Phlomis tuberosa* (L.) MOENCH. Экспериментальная и клиническая фармакология, 2017, 80 (3), 26–30. [Khabrakova V. B., Tsyrenova D. Z., Toropova A. A., Olennikov D. N. Immunomodulatory and antioxidant activity of dry extract from *Phlomis tuberosa* (L.) Moench // Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology. – 2017, 80 (3), 26–30.]
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А. Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012, 944 с. [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. Ed. A. N. Mironov. M.: Grief and K, 2012, 944 c].
5. Хобракова В. Б., Николаев С. М. Растительные иммуномодуляторы в коррекции иммунодефицитов. Российский аллергологический журнал, 2008, 1, 324–325. [Khabrakova V. B., Nikolaev S. M. Herbal immunomodulators in the correction of immunodeficiencies. Russian Journal of Allergy, 2008, 1, 324–325.]

**RESULTS OF THE PRE-CLINICAL STUDY  
OF A NEW IMMUNOCORRECTOR OF FLORAL ORIGIN**

© 2019 S. V. Dutova<sup>1\*</sup>, M. R. Karpova<sup>2</sup>

\*E-mail: coluria@mail.ru

<sup>1</sup>Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia

<sup>2</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 28.03.2019

The article presents the results of the preclinical study of the immunocorrective properties of the total ethanol extract from the raw material of the medicinal plant of the traditional medicine of Siberia – *Coluria geoides* (Pall.) Ledeb.), *Rosaceae*. The effect of extract on the phagocytic activity of peripheral blood neutrophils and the main indicators of the humoral immune response (the number of antibody-forming cells of the spleen and the synthesis of anti-erythrocyte antibodies) were evaluated on a model of experimental immunodeficiency in inbred mice. Extract from raw materials *C. geoides* showed a pronounced immunomodulatory effect, in some parameters superior to the effect of officinal tincture of *Echinacea*.

*Key words:* secondary immunodeficiency, *Coluria geoides*, immunocorrective properties, phagocytic activity, antibody-forming cells of the spleen

**Authors:**

**Dutova S. V.**, ✉ DPhs, associate Professor, acting head of the Department of fundamental medicine and hygiene of Medical, psychological and social Institute of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia. **E-mail:** coluria@mail.ru;  
**Karpova M. R.**, DM, Professor, head of the Department of Microbiology and Virology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia.

## КАТАЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КАТАЛИТИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

© 2019 г. Е. А. Ермаков<sup>1,2\*</sup>, Л. П. Смирнова<sup>3</sup>, Н. М. Кротенко<sup>3</sup>,  
А. В. Семке<sup>3</sup>, В. Н. Бунева<sup>2</sup>, Г. А. Невинский<sup>2</sup>

\*E-mail: evgeny\_ermakov@mail.ru

<sup>1</sup>ФГАОУВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup>ФГБНУ «НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук», Томск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

В работе исследовалась способность каталитических антител (абзимов) больных шизофренией и здоровых доноров катализировать реакцию разложения пероксида водорода. Обнаружено, что поликлональные IgG больных шизофренией и здоровых доноров обладают каталазной активностью, причем активность IgG больных в 1,7 раз выше. Показана гетерогенность абзимов с каталазной активностью по сродству к ионам металлов, рН-оптимуму, кинетическим параметрам. Обсуждается возможная антиоксидантная функция каталитических антител с каталазной активностью.

**Ключевые слова:** каталитические антитела, абзимы, иммуноглобулины, каталазная активность, шизофрения

DOI: 10.31857/S102872210006588-1

**Адрес:** 630090, Новосибирская область, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, лаборатория ферментов репарации. Ермаков Евгений Александрович. Тел./факс: +7(383) 363-51-50.

**E-mail:** evgeny\_ermakov@mail.ru

**Авторы:**

**Ермаков Е. А.**, ассистент кафедры молекулярной биологии и биотехнологии ФГАОУВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия; старший лаборант лаборатории ферментов репарации ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия;

**Смирнова Л. П.**, к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск, Россия;

**Кротенко Н. М.**, к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск, Россия;

**Семке А. В.**, д. м. н., проф., заместитель директора по научной и лечебной работе, заведующий отделением эндогенных расстройств ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск, Россия;

**Бунева В. Н.**, д. б. н., проф., главный научный сотрудник лаборатории ферментов репарации ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия;

**Невинский Г. А.**, д. б. н., проф., заведующий лабораторией ферментов репарации ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск.

### ВВЕДЕНИЕ

Вовлеченность окислительного стресса в патогенез шизофрении подтверждается множественностью исследований [1]. Прооксидантное состояние и окислительный стресс неразрывно связаны с иммунологическими нарушениями и воспалением при шизофрении [2]. Показано, что нарушения в работе иммунной системы сопровождаются образованием каталитических антител, или абзимов, обладающих ферментативными функциями [3]. В сыворотке крови здоровых доноров, а также больных шизофренией обнаружены каталитические антитела с оксидоредуктазной активностью [4]. В данной работе решено исследовать каталазную активность ан-

тител при шизофрении и их способность катализировать реакцию разложения  $H_2O_2$ .

**Цель работы:** исследовать каталазную активность поликлональных IgG, выделенных из крови больных шизофренией и здоровых доноров.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 18 пациентов с диагнозом шизофрения и 21 здоровый донор. Средний возраст пациентов с шизофренией составил 33,6 лет (от 23 до 55 лет), длительность заболевания в среднем 8,9 лет (от 3 до 19 лет). Препараты поликлональных IgG получали методом аффинной хроматографии белков сыворотки крови на колонках ProteinG-Sepharose. Чистоту и гомогенность полученных препаратов IgG определяли методом SDS PAGE. Каталазную активность полученных препаратов определяли по уменьшению оптической плотности при 240 нм с использованием спектрофотометра LAMBDA 45 UV/Vis (PerkinElmer). Ингибиторный анализ каталазной активности IgG проводился с использованием специфического ингибитора 3-амино-1,2,4-триазола. Статистическую обработку производили в программе Statistica-10 с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Показано, что IgG здоровых доноров и больных шизофренией обладают каталазной активностью и катализируют реакцию разложения  $H_2O_2$ . При этом уровень активности IgG больных шизофренией был в 1,7 раз выше, по сравнению со здоровыми донорами ( $p < 0.05$ ). Медианное значение уровня каталазной активности IgG больных шизофренией составило 0,515 мМ  $H_2O_2$ /мин/мг IgG (У.Е.), интерквартильный интервал – 0,711 У.Е., в то время как у здоровых доноров медианное значение уровня активности – 0,301 У.Е., интерквартильный интервал – 0,138 У.Е. С использованием жестких, разработанных ранее, критериев, доказано, что каталазная активность принадлежит непосредственно IgG, а не является следствием контаминации каноническими ферментами.

Поскольку классические антиоксидантные ферменты являются, в основном, металл-зависимыми ферментами, мы изучили зависимость каталазной активности IgG от присутствия ионов металлов. Удаление ионов металлов, связанных с IgG, путем диализа против буфера, содержащего 0,3 М ЭДТА, приводило к снижению активности

IgG в 3,1 раза, но не к полной потере активности. Это указывает на чрезвычайную гетерогенность поликлональных каталитических антител, среди которых встречаются металл-зависимые и независимые абзимы. При добавлении ионов металлов ( $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ) активность значительно возрастала. Примечательно, что присутствие  $Fe^{2+}$  не оказывало влияния на активность.

Ингибирование каталазной активности IgG с помощью необратимого ингибитора каталазы 3-амино-1,2,4-триазола указывает на наличие гистидина в каталитическом участке активного центра IgG и предполагает сходный механизм катализа.

Исследована зависимость скорости каталазной реакции от pH среды. Обнаружено, что каждый препарат IgG демонстрирует несколько оптимумов pH в диапазоне от 4,0 до 9,5. Эти данные подтверждают гетерогенность исследуемых каталитических антител.

При анализе кинетических параметров каталазной реакции, катализируемой IgG, начальная скорость реакции зависела от концентрации  $H_2O_2$  и подчинялась кинетике Михаэлиса-Ментен. Получены величины  $K_m$ , на 3 порядка меньшие, чем у нативного фермента каталазы. Полученные данные указывают на большее сродство каталитических антител к  $H_2O_2$  по сравнению с нативным ферментом каталазой. Необходимо отметить, что значительное отличие биохимических свойств абзимов от свойств классических ферментов является еще одним доказательством принадлежности каталитической активности IgG.

## ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Образование каталитических антител обычно связано с воспалением и аутоиммунными реакциями. Один из возможных механизмов генерации абзимов заключается в образовании антиидиотипических антител к антителам, образовавшимся к активным центрам ферментов. Полученные данные свидетельствуют о чрезвычайной гетерогенности абзимов с каталазной активностью. Исследуемые препараты поликлональных IgG содержат различные субфракции антител, обладающие металл-зависимой и независимой каталазной активностью, различным сродством к ионам металлов и обладающие различными оптимумами pH.

Антиоксидантные ферменты, в том числе и каталаза, защищают организм от активированных кислородных метаболитов. Полученные данные позволяют предположить, что абзимы с каталазной активностью могут являться компонентом

антиоксидантной системы организма. Однако следует отметить, что скорость катализа и другие кинетические параметры абзимов значительно ниже классических ферментов. Поэтому вклад каталитических антител в работу антиоксидантной системы может быть незначительным. С другой стороны, антитела присутствуют в кровотоке длительное время, а антиоксидантные ферменты находятся в основном в эритроцитах и при попадании в кровоток быстро инактивируются протеазами. Поэтому абзимы с каталазной активностью могут иметь защитную биологическую функцию. Таким образом, иммунная система посредством каталитических антител может участвовать в поддержании гомеостаза организма и защите от оксидативного стресса.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-15-00053 «Поиск периферических маркеров ассоциированных с нарушением миелинизации головного мозга и патогенезом заболевания при шизофрении» 2018–2020 гг.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Yao J.K., Reddy R. Oxidative Stress in Schizophrenia: Pathogenetic and Therapeutic Implications. *Antioxid. Redox Signal.* 2011, 15(7), 1999–2002.
2. Steullet P., Cabungcal J.H., Monin A., Dwir D., O'Donnell P., Cuenod M., Do K. Q. Redox dysregulation, neuroinflammation, and NMDA receptor hypofunction: A “central hub” in schizophrenia pathophysiology? *Schizophrenia research.* 2016, 176(1), 41–51.
3. Nevinsky G. A., Buneva V. N. Natural catalytic antibodies in norm, autoimmune, viral, and bacterial diseases. *The Scientific World Journal*, 2010, 10, 1203–1233.
4. Ермаков Е. А., Толмачева А. С., Смирнова Л. П., Иванова С. А., Бунева В. Н., Невинский Г. А. Особенности окислительно-восстановительных, амилазной и АТФазной активностей IgG антител из крови больных шизофренией. *Российский иммунологический журнал*, 2017, 11(4), 627–640. [Ermakov E. A., Tolmacheva A. S., Smirnova L. P., Ivanova S. A., Buneva V. N., Nevinsky G. A. Features of the redox, amylase and ATPase activity of IgG antibodies from the blood of schizophrenic patients. *Russian Journal of Immunology*, 2017, 11 (4), 627–640.]

## CATALASE ACTIVITY OF CATALYTIC ANTIBODIES IN SCHIZOPHRENIA

© 2019 Е. А. Ermakov<sup>1,2\*</sup>, L. P. Smirnova<sup>3</sup>, N. M. Krotenko<sup>3</sup>,  
A. V. Semke<sup>3</sup>, V. N. Buneva<sup>1,2</sup>, G. A. Nevinsky<sup>1,2</sup>

\*E-mail: evgeny\_ermakov@mail.ru

<sup>1</sup>Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

<sup>3</sup>Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 01.04.2019

In this work, the ability of catalytic antibodies (abzymes) in patients with schizophrenia and healthy donors to catalyze the decomposition of hydrogen peroxide was investigated. The polyclonal IgG in patients with schizophrenia and healthy donors was found to have catalase activity, and the activity of patient's IgG was 1.7 times higher. The heterogeneity of abzymes with catalase activity by affinity to metal ions, pH optimum, kinetic parameters is shown. A possible antioxidant function of catalytic antibodies with catalase activity is discussed.

*Key words:* catalytic antibodies, abzymes, immunoglobulins, catalase activity, schizophrenia

### Authors:

**Ermakov E. A.**, ☒ Assistant of Department of Molecular Biology and Biotechnology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia; Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Repair Enzymes, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** evgeny\_ermakov@mail.ru;

**Smirnova L. P.**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia;

**Krotenko N. M.**, Ph.D., Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia;

**Semke A. V.**, MD, Professor, Deputy Director for Scientific and Medical Work, Head of the Department of Endogenous Disorders, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Tomsk National Research Institute of Mental Health, Tomsk, Russia;

**Buneva V. N.**, Dr. Sc., prof., Chief Researcher of the Laboratory of Repair Enzymes, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia;

**Nevinsky G. A.**, Dr. Sc., prof., Head of the Laboratory of Repair Enzymes, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia.

## ИНФЕКТОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КАК ПРЕДИКТОРЫ ФЕРТИЛЬНОГО НЕБЛАГОПОЛУЧИЯ

© 2019 г. О. О. Жеребятьева<sup>1\*</sup>, А. Ю. Миронов<sup>2</sup>, Е. А. Михайлова<sup>1</sup>,  
Г. О. Махалова<sup>1</sup>, С. Б. Киргизова<sup>1</sup>, М. В. Фомина<sup>1</sup>,  
И. Э. Ляшенко<sup>1</sup>

\*E-mail: k\_microbiology@orgma.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,  
Оренбург, Россия;

<sup>2</sup>ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

Поступила: 12.03.2019. Принята: 25.03.2019

Исследовано состояние факторов антимикробной резистентности в отделяемом половых путей, а также иммунонейтрализующая способность урогенитальной микрофлоры здоровых и инфертильных пациентов. Отличия в изучаемых признаках использованы как предикторы бесплодия.

**Ключевые слова:** инфектология, иммунитет, бесплодие, семейные пары

DOI: 10.31857/S102872210006589-2

**Адрес:** 460014 Оренбург, ул. Советская, д. 6, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии. Жеребятьева Ольга Олеговна.  
Тел/факс: +7 353 250 00 06, доб. 205, 8 903 398 61 79 (моб.).

**E-mail:** k\_microbiology@orgma.ru

### Авторы:

**Жеребятьева О. О.**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

**Миронов А. Ю.**, д.м.н., профессор, руководитель отдела микробиологии ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, академик Российской академии медицинских наук, Москва, Россия;

**Михайлова Е. А.**, д.б.н., доцент, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

**Махалова Г. О.**, ассистент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

**Киргизова, С. Б.**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

**Фомина М. В.**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

**Ляшенко И. Э.**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Оренбургский го-

сударственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Инфекционный процесс является известной причиной нарушения гомеостаза макроорганизма, приводя, в частности, к формированию бесплодия. Нарушения фертильности в результате воспаления могут быть от легкого снижения оплодотворяющей способности спермы у мужчин или нарушения трофики слизистых оболочек у женщин, до обтурации/стенозов семявыносящих путей у мужчин или тубоварильных абсцессов у женщин. Степень и объем этих нарушений определяются как качествами инфекционных агентов: видами, способностью изменять внутреннюю среду макроорганизма, так и свойствами макроорганизма противостоять микробной агрессии на разных уровнях взаимодействия, то есть антиинфекционной резистентностью. Изучение механизмов взаимодействия микробиологических партнеров в ходе инфекционного процесса показало, что элиминация возбудителя не всегда/не сразу приводит к стабилизации иммунологического баланса макроорганизма и может явиться причиной постинфекционного бесплодия.

В связи с этим **целью** данной работы явился анализ видового состава, иммунонейтрализующих свойств микрофлоры отделяемого половых путей и состояния факторов местной противомикробной защиты уrogenитального тракта пациентов с бесплодием.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 60 здоровых фертильных пациентов (25 мужчин и 35 женщин) и 78 пациентов (30 мужчин и 48 женщин) репродуктивного возраста, находящихся в бесплодном браке 1 год и более.

На момент включения в исследование пациенты не демонстрировали клинических признаков уrogenитальных инфламационных заболеваний, однако в анамнезе все бесплодные пациенты более трех месяцев назад получали антибактериальную терапию в связи с воспалительными заболеваниями половых органов (излеченность 100%). Отсутствие специфического инфекционного процесса устанавливали при проведении бактериологического и ПЦР исследований. Больные с положительными результатами тестов были исключены из дальнейшего обследования. Лабораторное исследование биологических секретов проводили согласно рекомендациям ВОЗ [1]. Мурамидазу, активность комплемента, антикомплемментарную (АКА) и антилизосимную (АЛА) активности определяли по методикам О. В. Бухарина [2].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При лабораторном исследовании установлено, что у здоровых мужчин уровень лизоцима в эякуляте был равен  $6,1 \pm 0,33$  мкг/мл, а у бесплодных —  $0,73 \pm 0,14$  мкг/мл. При исследовании уровня комплемента в эякуляте выявлено, что у здоровых данный фактор составлял  $4180 \pm 430$  ед. СН 50. В сперме бесплодных мужчин концентрация комплемента была  $3880 \pm 401$  ед. СН 50.

Результаты изучения антиинфекционного гомеостаза у женщин сходные с таковыми у мужчин. Уровень лизоцима в цервикальном отделяемом здоровых женщин был равен  $5,3 \pm 0,33$  мкг/мл. Содержание же лизоцима уrogenитального тракта у пациенток с формирующимся бесплодием было достоверно снижено и не превышало  $2,7 \pm 0,12$  мкг/мл. Комплемент у здоровых женщин регистрировался на уровне  $3990 \pm 340$  ед.

СН 50, тогда как при изменении детородной функции у женщин концентрация комплемента была ниже —  $3480 \pm 380$  ед. СН 50.

Показатель микробной обсемененности (ПМО) здоровых не превышал  $10^1 - 10^2$  КОЕ/мл, тогда как интенсивность обсемененности изучаемого биотопа у больных колебалась в пределах  $10^3 - 10^4$  КОЕ/мл.

Состав микрофлоры бесплодных пациентов отличался более высокой частотой высеваемости энтеробактерий (13,1% против 5,3% у здоровых) и дрожжевых грибов (12,3% против 2,6%).

Индикаторами неблагополучия могут служить АЛА и АКА штаммов от больных. У стафилококков, стрептококков и энтеробактерий в 100% случаев выявлялась АЛА, а ее выраженность была в 2,5–4 раза выше, чем штаммов, выделенных от здоровых. Средние (2–3 мкг/мл) и высокие (3–5 мкг/мл) значения АЛА были отмечены у подавляющего количества штаммов энтеробактерий, которые чаще высевались от инфертильных пациентов. АКА энтеробактерий, проявлялась в 58,0% случаев. Условно-патогенные стафилококки, изолированные в обеих группах не отличались по частоте встречаемости и выраженности АКА. Выявленность и встречаемость АКА у энтерококков была такой же, как и у штаммов от здоровых лиц. Стрептококки имели АКА в 50%, уровень её был таким же, как у микроорганизмов данного таксона, выделенных от здоровых мужчин.

Проведенный анализ данных выявил достоверную ( $p < 0,05$ ) связь между выраженностью АЛА персистирующей флоры и низкой концентрацией лизоцима в эякуляте. В отношении АКА микроорганизмов достоверно значимая зависимость не определена. Выявленные отличия были использованы для разработки программы ЭВМ «Интегральная оценка показателей здоровья супружеских пар для назначения персонализированной прегравидарной подготовки» Патент РФ № 2018661536 от 07.09.2018 г.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. WHO. Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen Cervical Mucus Interaction. Fifth edition – Cambridge, 2010.
2. Бухарин О. В., Лобакова Е. С., Перунова Н. Б., Усвятцов Б. Я., Черкасов С. В. Симбиоз и его роль в инфекции. Екатеринбург: УрО РАН, 2011. 301 с.

## INFECTOLOGICAL PARAMETERS AS PREDICTORS OF FERTILITY FAILURE

© 2019 O. O. Zherebyateva<sup>1\*</sup>, A. Yu. Mironov<sup>2</sup>, E. A. Mikhailova<sup>1</sup>,  
G. O. Makhalova<sup>1</sup>, S. B. Kirgizova<sup>1</sup>, M. V. Fomina<sup>1</sup>, I. E. Lyashenko<sup>1</sup>

\*E-mail: k\_microbiology@orgma.ru

<sup>1</sup>Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

<sup>2</sup>Federal Budget Institution of Science «Moscow Research Institute of Epidemiology  
and Microbiology. G. N. Gabrichevsky» of The Federal Service on Customers' Rights Protection  
and Human Well-being Surveillance, Moscow, Russia

Received: 12.03.2019. Accepted: 25.03.2019

The state of factors of antimicrobial resistance in the secretions of the genital tract, and the immunoneutralizing ability of the urogenital microflora of healthy and infertile patients were investigated. Differences in the studied features are used as predictors of infertility.

*Key words:* infectology, immunity, sterility, couples

### Authors:

**Zherebyatieva O. O.**, ✉ PhD, Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia. E-mail: k\_microbiology@orgma.ru;

**Mironov A. Yu.**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Microbiology, FBUN MNIIEМ them. G. N. Gabrichevsky Rospotrebnadzor, Academician of the Russian Academy of Medical and Technical Sciences;

**Mikhailova E. A.**, Doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Orenburg State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

**Makhalova G. O.**, Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

**Kirgizova S. B.**, PhD, Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia;

**Fomina M. V.**, PhD, Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

**Lyashenko I. E.**, PhD, Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia.

## ВЛИЯНИЕ ТРИГГЕРНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ИММУННЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ УРОГЕННЫМ РЕАКТИВНЫМ АРТРИТОМ

© 2019 г. М. О. Журавлева\*, А. В. Мещеряков

\*E-mail: m.o.juravleva@yandex.ru

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» Минздрава России,  
Оренбург, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 12.03.2019

Изучено влияние триггерных инфекций на состояние иммунного статуса 150 больных УРеА. Наблюдалось угнетение Т-зависимых реакций, гиперпродукция Ig и ЦИК, торможение фагоцитарной активности нейтрофилов, что может способствовать персистенции инфекции в организме, хронизации воспаления и поддержанию аутоиммунного процесса. Значимых различий иммунных показателей в зависимости от выявленного инфекционного агента не обнаружено.

**Ключевые слова:** Реактивный артрит, триггерные инфекции, иммунный статус

DOI: 10.31857/S102872210006590-4

Адрес: 460000 Оренбург, ул. Советская, д. 6, ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, Оренбург, Россия. Журавлева Мария Олеговна. Тел./факс: 8 903 360 04 98 (моб.).

E-mail: m.o.juravleva@yandex.ru

Авторы:

Журавлева М. О., к.м.н., доцент кафедры поликлинической терапии ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, Оренбург, Россия;

Мещеряков А. О., студент 6 курса ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, Оренбург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем современной ревматологии является диагностика и лечение воспалительных заболеваний суставов. Наиболее распространен среди них реактивный артрит (РеА), который составляет 10–41% всех ревматических болезней. Заболеваемость РеА в России в 2016 г. была 65,4 на 100 тыс. населения. Прирост заболеваемости за год составил 25,9 тыс. [1]. Данное заболевание актуально как в медицинском, так и в социальном аспектах еще и потому, что им страдают лица молодого и зрелого возраста, у которых он склонен к рецидивированию [2] и хронизации. К РеА относят воспалительные негнойные заболевания суставов, развивающиеся вследствие иммунных нарушений, вскоре после кишечной или урогенитальной инфекции у генетически предрасположенных людей [3, 4].

Триггерными факторами урогенных РеА считаются *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*. В преобладающем большинстве случаев РеА ассоциируется с острой или персистирующей урогенитальной инфекцией, вызываемой *Chlamydia trachomatis* [2]. Имеются данные о связи РеА с клостридиями, микоплазменной и другой инфекцией [5]. Этиопатогенетические аспекты заболевания до конца не изучены, в связи, с чем его лечение недостаточно эффективно. Важной в настоящий момент представляется роль инфекционных факторов в индукции аутоиммунных при РеА. Исходя из этого, целью данного исследования явилось изучение влияния триггерных инфекций на состояние иммунного статуса больных УРеА.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 150 больных РеА, средний возраст которых составил  $39,7 \pm 12,3$  года, из них 44 мужчин и 106 женщин. Всем было проведено физикальное, лабораторное, рентгенологическое, ультразвуковое, иммунологическое, микробиологическое обследование.

Диагноз ставился на основании критериев, принятых на III Международном совещании по РеА в Берлине в 1996 г. Исследование одобрено локальным этическим комитетом, все паци-

енты подписывали информированное добровольное согласие. Острое течение заболевания наблюдалось у 45%, хроническое – у 48%, тяжелое – у 7%. Преобладали больные с умеренной степенью активности по DAS28 и высокой по ASDAS. По количеству пораженных суставов пациенты распределились следующим образом: олиго- (45%), моно- (29%) и полиартриты (29%), преимущественно суставов нижних конечностей. В исследование включались больные РеА, не получавшие ранее базисную терапию. При рентгенологическом исследовании костной патологии периферических суставов в 90% случаев не обнаруживалось. Признаки синовита отмечались при ультразвуковом исследовании у всех обследованных, периартрита более чем у половины. По функциональной недостаточности суставов преобладали пациенты с нарушениями способности к трудовой деятельности, но сохранением способности к самообслуживанию.

Идентификация триггерных инфекций проводилась иммунологическим (ИФА), молекулярно-биологическим (ПЦР) и бактериологическим методами. *Chlamydia trachomatis* была выявлена у 38,7% больных УРеА, *Ureaplasma urealyticum* – 19,1%, *M. Genitalium* – 42,%, сочетание хламидийной и уреоплазменной инфекцией – у 41,2%. У 57,1% триггерными факторами развития РеА явилась смешанная инфекция. В зависимости от выделенных микроорганизмов было выделено три парных группы по 30 человек с наличием инфекции и без таковой. Первую составили пациенты с УРеА, индуцированным *Ch. Trachomatis*, вторую – *Ureaplasma urealyticum*, третью – *M. Genitalium*.

Иммунологическое исследование включало определение циркулирующих иммунных комплексов CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов и CD20<sup>+</sup>-В-лимфоцитов в крови больных методом иммунофенотипирования с использованием моноклональных антител («Сорбент», Москва). Определение концентраций ФНО- $\alpha$ , ИЛ-10 проводилось методом ИФА в сыворотке крови с использованием наборов «Цитокин», ЦИК – методом преципитации с раствором полиэтиленгликоля. Для определения содержания сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G использовали метод радиальной иммунодиффузии в агаровом геле. В качестве контроля использованы параметры 50 здоровых лиц. Статистическую обработку материала выполняли с использованием пакета прикладных программ StatSoft STATISTICA 12.0. Результаты выража-

ли в виде средней арифметической (М), ошибки средней арифметической (m), медианы (Me), нижних (Q1) и верхних (Q3) квартилей. Значимость различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок и непараметрического критерия Манна-Уитни для сравнения подвыборок. Корреляционный анализ проводился с расчетом рангового коэффициента корреляции Спирмена. Значения статистически значимы при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Отмечалось достоверное снижение средних значений CD3<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов и фагоцитарного показателя ( $p < 0,0001$ ) у пациентов с УРеА, что свидетельствует о снижении количества Т-хелперов и фагоцитарной активности нейтрофилов. Такое снижение может быть индуцировано инфекционным фактором. Сопоставление иммунологических показателей, в зависимости от триггерных факторов РеА, позволяет констатировать практическое отсутствие изменений со стороны общего количества CD3<sup>+</sup> клеток, а также со стороны CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> во всех группах.

Отмечалась тенденция к незначительному снижению количества лейкоцитов в первой и второй группах. В третьей группе не обнаружено отклонений от контрольных значений абсолютного количества лейкоцитов крови, хотя отмечалось достоверное снижение данного показателя в подгруппе больных РеА без *M. Genitalium* ( $p = 0,01$ ). Наблюдалось статистически значимое увеличение процентное содержание эозинофилов в крови этих пациентов ( $4,31 \pm 2,8\%$  и  $1,91 \pm 1,4\%$  соответственно). Фагоцитарный индекс был достоверно выше в группе *Ur. urealyticum* и составил  $6,8 \pm 3,4$  усл.ед. против  $4,7 \pm 2,2$  усл.ед. ( $p = 0,02$ ).

Установлено, что процентное содержание лимфоцитов было достоверно выше у больных с хламидия-индуцированным РеА. Имелась тенденция к повышению содержания CD20<sup>+</sup>-В-лимфоцитов у пациентов с хламидийным и уреоплазменным РеА. Обнаружено увеличение содержания ЦИК, Ig M, G, A при РеА ( $p < 0,0001$  по сравнению с группой контроля), что может быть связано с защитой организма от инфекционного агента, а в случае неэффективной элиминации возбудителя может приводить к развитию аутоиммунного компонента. Наиболее значима была гипер G иммуноглобулинемия у пациентов третьей группы ( $16,18 \pm 3,9$  г/л и  $12,32 \pm 3,9$  г/л,  $p = 0,008$ )

Установлено статистически значимое превышение концентрации ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови у больных УРеА ( $28,86 \pm 0,28$  пг/мл) по сравнению со здоровыми лицами ( $3,81 \pm 0,34$  пг/мл), как «ключевого» цитокина в развитии воспалительной реакции при артрите. Однако достоверных различий в зависимости от триггерных инфекций не получено. Обнаружены значимые различия между сывороточными концентрациями ИЛ-10 у больных первой группы ( $14,81 \pm 9,0$  пг/мл) и у здоровых лиц ( $7,70 \pm 8,6$  пг/мл).

Таким образом, изменение иммунного статуса под действием инфекционного агента при УРеА носило характер угнетения Т-зависимых реакций, гиперпродукции Ig и ЦИК, торможения фагоцитарной активности нейтрофилов, что может способствовать персистенции инфекции в организме, хронизации воспаления и поддержанию аутоиммунного процесса. Значимых различий иммунных показателей в зависимости

от выявленного инфекционного агента не обнаружено.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Балабанова Р. М., Дубинина Т. В., Демина А. Б., Кричевская О. А. Заболеваемость болезнями костно-мышечной системы в РФ за 2015–2016 гг. Научно-практическая ревматология 2018, 56(1), 15–21. [Balabanova R. M., Dubinina T. V., Demina A. B., Krichevskaya O. A. The incidence of musculoskeletal diseases in the RF over 2015–2016. Rheumatology Science and Practice 2018, 56(1), 15–21].
2. Hannu T. Reactive arthritis. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2011; 25(3): 347–57.
3. Kwiatkowska B., Filipowicz-Sosnowska A. Reactive arthritis. Pol Arch Med Wewn. 2009, 119(1–2), 60–5.
4. Carter J. D., Hudson A. P. Reactive arthritis: clinical aspects and medical management. Rheum. Dis. Clin. North Am. 2009, 35(1), 21–44.
5. Rohekar S., Pope J. Epidemiologic approaches to infection and immunity: the case of reactive arthritis. Curr Opin Rheumatol. 2009 Jul; 21(4): 386–90.

### INFLUENCE TRIGGER INFECTIONS ON THE IMMUNE STATUS OF PATIENTS URINOGENOUS REACTIVE ARTHRITIS

© 2019 М. О. Zhuravleva\*, A. V. Meshcheryakov

\*E-mail: M. O. Juravleva@yandex.ru

Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 12.03.2019

The influence of trigger infections on the immune status of 150 patients with UReA was studied. There was inhibition of T-dependent reactions, hyperproduction of Ig and CIC, inhibition of phagocytic activity of neutrophils, which can contribute to the persistence of infection in the body, chronic inflammation and maintenance of autoimmune process. No significant differences in immune parameters depending on the identified infectious agent were found.

*Key words:* Reactive arthritis, trigger infections, immunity

#### Authors:

Zhuravleva M. O., ✉ Ph.D., associate Professor, associate Professor of polyclinic therapy Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia. E-mail: m.o.juravleva@yandex.ru;

Meshcheryakov A. O., student Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia.

## СОСТОЯНИЕ СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ И ВПЧ

© 2019 г. Л. Ф. Зайнетдинова\*, А. В. Коряушкина, Л. Ф. Телешева

\*E-mail: sea-gull6@yandex.ru

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

Поступила: 13.03.2019. Принята: 26.03.2019

Генитальный эндометриоз – эстрогензависимое воспалительное заболевание, этиология которого не известна. Учитывая высокую распространенность ВПЧ среди женщин репродуктивного возраста, а также развитие эндометриоза преимущественно в этой же возрастной группе можно предположить участие ВПЧ в формировании особенностей системного иммунитета при данном заболевании. Результаты исследования показали наличие ВПЧ ВКР у 13 (18,8%) женщин с 1–2 стадиями НГЭ и у 22 (24,4%) – с 3–4 стадиями НГЭ. При наличии ВПЧ ВКР у женщин с 1–2 стадиями НГЭ установлено: повышение относительного количества Т-НК-лимфоцитов, снижение IL-2, IL-6 и повышение IL-4, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  в сыворотке крови. При 3–4 стадиях – повышение абсолютного количества Т-НК-лимфоцитов, IL-4, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  в сыворотке крови. Таким образом, у женщин с НГЭ при наличии ВПЧ ВКР выявлены особенности системного иммунитета, которые могут быть ассоциированы с прогрессированием заболевания.

**Ключевые слова:** эндометриоз, системный иммунитет, вирус папилломы человека высокого онкогенного риска

DOI: 10.31857/S102872210006591-5

Адрес: 454092 Российская Федерация, Уральский федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Зайнетдинова Лариса Феофановна.

Тел.: 8 (351) 7247224, 8(912) 793 49 75 (моб.);

E-mail: sea-gull6@yandex.ru

Авторы:

**Зайнетдинова Л. Ф.**, д. м. н., доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии, кафедра акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия;

**Телешева Л. Ф.**, д. м. н., профессор, профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия;

**Коряушкина А. В.**, врач акушер-гинеколог клиники ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) – воспалительное, эстрогензависимое заболевание, которое характеризуется имплантацией и разрастанием эндометриальной ткани вне полости матки, сопровождается повышенной продукцией провоспалительных цитокинов,

простагландинов, компонентов комплемента, гидролитических ферментов, усилением процессов ангиогенеза, аномалиями эктопического эндометрия и нарушением функции клеточно-опосредованного иммунитета [1]. Это многофакторное заболевание, этиология которого до настоящего времени не ясна. Было высказано предположение, что внутриматочная инфекция может инициировать развитие эндометриоза путем активации врожденного иммунитета [2]. В зарубежной литературе имеются исследования, которые показали наличие вируса папилломы человека в эндометриоидных гетеротопиях у 11,3–26% женщин с НГЭ [3, 4]. До настоящего времени механизмы первоначального развития и прогрессирования НГЭ окончательно не известны. Остается не ясным, имеются ли нарушения иммунитета изначально у женщин с эндометриозом или развиваются только при прогрессировании заболевания, и имеет ли значение наличие вируса папилломы человек высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) при НГЭ.

**Цель исследования.** Изучить особенности системного иммунитета у женщин с наружным генитальным эндометриозом и ВПЧ ВКР.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 159 женщин с НГЭ, поступивших в гинекологическое отделение Клиники ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России для проведения оперативного лечения. Среди обследованных женщин ВПЧ ВКР выявлен в 13 (18,8%) случаях при 1–2 стадиях НГЭ и у 22 (24,4%) – при 3–4 стадиях НГЭ. Диагноз был установлен во время лечебно-диагностической лапароскопии и подтвержден при гистологическом исследовании операционного материала (капсулы эндометриоидных кист яичников, инфильтраты, «малые» формы эндометриоза). Для оценки степени тяжести НГЭ использована классификация R-AFS (1996) [5]. Биопсию эндометрия и очагов эндометриоза для ПЦР диагностики ВПЧ ВКР проводили во время лапароскопии. Забор периферической крови для исследования показателей системного иммунитета производили утром, в день операции. В периферической крови изучали: абсолютное и относительное количество лейкоцитов, популяции лейкоцитов, субпопуляции лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии, функциональную активность нейтрофилов. Для определения цитокинов использовали набор «Цитокин-Стимул-Бэст». Наличие ВПЧ ВКР в тканях определяли методом ПЦР с помощью тест-систем «Ампли Сенс® ВПЧ ВКР генотип-FL» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва) на детектирующих амплификаторах ДТ-96 (НПФ «ДНК-технология», Россия) и Rotor-Gene-6000 (Corbett Research, Австралия) в режиме реального времени. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета программ прикладного статистического анализа IBM SPSS Statistics Version 22.2. Определяли медиану, минимальную и максимальную величины. Различия показателей определяли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни и признавали статистически значимыми при  $p=0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения анализа иммунологических показателей среди пациенток с НГЭ было выделено 4 группы в зависимости от стадии заболевания и наличия или отсутствия генитальной инфекции. Группу контроля составили

14 практически здоровых женщин репродуктивного возраста, поступивших для проведения хирургической стерилизации. Средний возраст пациенток с НГЭ составил  $31,23 \pm 0,42$  год. В группе контроля средний возраст женщин был  $30,79 \pm 1,54$  лет. У женщин с 1–2 стадиями НГЭ без генитальной инфекции ( $n=16$ ) по сравнению с группой контроля выявлено снижение абсолютного количества  $CD3^+CD19^-$ ,  $CD3^+CD25^+$  лимфоцитов, повышение IgA, IL-4, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ . У женщин с 1–2 стадиями НГЭ при наличии ВПЧ ВКР ( $n=13$ ) по сравнению с группой контроля отмечено повышение относительного количества  $CD3^+CD16^+CD56^+$  лимфоцитов, IgA, IL-4, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , снижение лизосомальной активности нейтрофилов крови, IL-2, IL-6. При сравнении с группой без инфекции отмечено повышение относительного количества  $CD3^+CD16^+CD56^+$  лимфоцитов и снижение IL-6. При 3–4 стадиях НГЭ в группе, где не были обнаружены возбудители генитальной инфекции ( $n=25$ ) по сравнению с контрольной группой установлено снижение IL-2, INF- $\alpha$ , повышение IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ . У пациенток с 3–4 стадиями НГЭ и наличием ВПЧ ВКР ( $n=22$ ) при сравнении с группой контроля отмечено повышение абсолютного количества  $CD3^+CD16^+CD56^+$  лимфоцитов, IgA, IL-4, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ . По сравнению с группой без инфекции – повышение IgM, IL-8, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , снижение C5 компонента комплемента и IL-6. При прогрессировании эндометриоза в сравнении с начальными стадиями у женщин с ВПЧ ВКР снижалось количество INF- $\gamma$  в сыроворотке крови.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в настоящем исследовании, характеризующие состояние системного иммунитета у женщин с НГЭ во многом подтверждают данные предшествующих работ, проведенных другими авторами. Однако, нами были выявлены особенности у пациенток с НГЭ при наличии ВПЧ ВКР: при 1–2 стадиях – повышение относительного количества Т-НК лимфоцитов, снижение лизосомальной активности нейтрофилов крови, снижение IL-2, IL-6; при 3–4 стадиях – повышение абсолютного количества Т-НК лимфоцитов, IgA, IgM, IL-8, IL-10, более выраженное по сравнению с группой без инфекции повышение TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , снижение C5 компонента комплемента и IL-6. При нарастании степени тяжести НГЭ в группах с ВПЧ

ВКР отмечено снижение количества INF- $\gamma$  в сы-  
воротке крови. Таким образом, у женщин с НГЭ  
при наличии ВПЧ ВКР выявлены особенности  
системного иммунитета, которые могут быть ас-  
социированы с прогрессированием заболевания.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Matarese G., De Placido G., Nicas Y., Alviggi C.* Pathogenesis of endometriosis: natural immunity disfunction or autoimmune disease. // Trends Mol.Med.2003Vol. 9.№ 5.– P. 223–228.
2. *Kobayashi H., Higashiura Y., Shigetomi H., Kajihara H.* Pathogenesis of endometriosis: The role of initial infection and subsequent sterile inflammation (Review). Mol Med Rep 2014; 9: 9–15.
3. *Oppelt P., Renner S.P., Strick R., Valletta D., Mehlhorn G., Fasching P.A. et al.* Correlation of high-risk human papilloma viruses but not of herpes viruses or Chlamydia trachomatis with endometriosis lesions. Fertility and Sterility. 2010; 93(6): 1778–86. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.12.061.
4. *Heidarpour M., Derakhshan M., Derakhshan-Horeh M., Kheirollahi M., Dashti S.* Prevalence of high-risk human papillomavirus infection in women with ovarian endometriosis. J. Obstet Gynaecol Res. 2017 Jan; 43(1): 135–139. doi: 10.1111/jog.13188.
5. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных. Москва, 2016: 66с. [Endometriosis: diagnosis, treatment and rehabilitation. Federal clinical guidelines for the management of patients. Moscow, 2016: 66]

### THE CONDITION OF SYSTEMIC IMMUNITY IN WOMEN WITH EXTERNAL GENITAL ENDOMETRIOSIS AND HUMAN PAPILLOMA VIRUS

© 2019 L. F. Zaynetdinova\*, L. F. Telesheva, A. V. Koryaushkina

\*E-mail: sea-gull6@yandex.ru

South Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

Received: 13.03.2019. Accepted: 26.03.2019

Genital endometriosis is an estrogen-dependent inflammatory disease, the etiology of which is not known. Given the high prevalence of HPV among women of reproductive age, as well as the development of endometriosis mainly in the same age group, we can assume the participation of HPV in the formation of features of systemic immunity in this disease. The results of the study showed the presence of HPV in 13 (18,8%) women with 1–2 stages of endometriosis and in 22 (24,4%) – with 3–4 stages of endometriosis. In the presence of HPV in women with 1–2 stages of endometriosis, it was established: an increase in the relative number of T-NK lymphocytes, a decrease in IL-2, IL-6 and an increase in serum IL-4, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ . With 3–4 stages – an increase in the absolute number of T-NK-lymphocytes, IL-4, IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  in serum. Thus, in women with endometriosis in the presence of HPV, the features of systemic immunity have been identified, which may be associated with disease progression.

*Key words:* endometriosis, systemic immunity, genital infection

#### Authors:

**Zaynetdinova L. F.**, ✉ Department of Obstetrics and Gynecology, South Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** sea-gull6@yandex.ru;

**Telesheva L. F.**, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, South Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia;

**Koryaushkina A. V.**, clinic of the South Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia.

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ИММУННОГО СТАТУСА У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ В УСЛОВИЯХ ВЫПОЛНЕНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАДАЧ

© 2019 г. Н. С. Зайцева\*, Л. П. Сизякина

\*E-mail: n.zaitseva@list.ru

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,  
Ростов-на-Дону, Россия

Поступила: 25.02.2019. Принята: 05.03.2019

В статье представлены результаты динамического наблюдения за военнослужащими, участвовавшими в спецоперациях. Документированы изменения в иммунном статусе непосредственно по возвращению военнослужащих из командировки в районы со сложной оперативной обстановкой и отсутствие их спонтанного восстановления спустя 6 месяцев.

**Ключевые слова:** стресс, адаптация, иммунитет

DOI: 10.31857/S102872210006592-6

**Адрес:** 344022, Ростов-на-Дону пер. Нахичеванский 29  
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», Зайцева Наталия Сергеевна  
тел. +7 (863) 2634441, 89287550770 (моб.)

**E-mail:** n.zaitseva@list.ru

**Авторы:**

**Зайцева Н. С.**, к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Сизякина Л. П.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФПК и ППС, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия.

Реакция на острый стресс может усиливать иммунные реакции, однако, длительная активация в условиях хронического стресса может усугублять иммунопатологию [1, 2]. При этом процесс формирования долгосрочных последствий для здоровья остается не до конца изученным.

**Цель исследования:** проследить динамические изменения иммунных реакций у военнослужащих в условиях профессионального стресса.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 42 военнослужащих (средний возраст  $34,6 \pm 5,1$  лет) до, сразу и через 6 месяцев после участия в спецоперациях (продолжительность — 3 мес.). За период динамического на-

блюдения (6 мес.) после возвращения из района со сложной оперативной обстановкой все обследуемые проходили обязательный однократный курс стандартной санаторно-курортной реабилитации в течение 21 суток. Состояние иммунного статуса оценивали по экспрессии CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup> методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием соответствующих моноклональных антител в иммунофлюоресцентном тесте на лазерном проточном цитофлюориметре Cytomics FC500 (Beckman Coulter, USA). Оценка состояния моноцитарно-макрофагального звена изучали по количеству CD14<sup>+</sup>HLADR<sup>+</sup> и экспрессии TLR2, TLR4, TLR9 на моноцитах. Уровни сывороточных иммуноглобулинов методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. Уровень циркулирующих иммунных комплексов определяли методом их преципитации в растворе полиэтиленгликоля. Интегральную кислородзависимую микробицидность нейтрофилов оценивали в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте с расчетом коэффициента стимуляции. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием набора прикладных программ MS Office 2010, Statistica 7,0 for Windows. Достоверные отличия между показателями определялись при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамическое наблюдение за военнослужащими после участия в спецоперациях выявило следующие нарушения в иммунном статусе: непосредственно после возвращения в Т-клеточном звене иммунной системы регистрируется тенденция к повышению CD4<sup>+</sup> лимфоцитов (42,5±2,072 до и 51±3,03% непосредственно после участия в спецоперациях) и снижению CD8<sup>+</sup> клеток (28±2,3% против 25±2,23%). Это сопровождалось достоверным усилением их готовности к апоптозу (CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup> 1,9±0,38% до и 3,5±0,5%) и снижением функциональной в эффекторной CD8<sup>+</sup> субпопуляции лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> 2,8±0,42% и 1,1±0,33%) и достоверным снижением цитолитически активных CD8<sup>+</sup>-клеток (CD8<sup>+</sup>Gr<sup>+</sup> 25,8±3,4% и 15,1±0,33%). Вышеописанные изменения компенсировались значительным усилением активационного потенциала CD4<sup>+</sup> субпопуляции лимфоцитов (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 1,65±0,35% и 4,7±0,49%) и тенденцией к активации супрессорной функции Т-регуляторных клеток (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> 1,05±0,25% и 2,35±0,3%, соответственно). Изменения эффекторного звена врожденного иммунитета определялись в снижении относительного количества клеток — натуральных киллеров (CD16<sup>+</sup> 10,5±1,67% и 7±2,9%) и достоверным угнетением их цитолитической активности (CD16<sup>+</sup> Gr<sup>+</sup> 8,5±1,6% и 4,3±1,4%, соответственно). В гуморальном звене отмечено значительное угнетение синтеза В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup> 14,5±1,52% и 5,5±1,9%) при сохраненной иммуноглобулин-продуцирующей функции. Анализ рецепторного представления на моноцитах показал достоверное снижение экспрессии поверхностных TLR2 (66±3,5% и 49±4,8%) и TLR4 (30±4,5% и 10±2,5%), при этом внутриклеточное содержание TLR9 снижалось незначительно (7,5±1,25% и 5±0,88%, соответственно).

Спустя 6 месяцев наблюдения в клеточном звене документировано снижение готовности общей популяции Т-лимфоцитов к апоптозу (содержание CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup> достигло исходных значений — 1,8±0,2% против 1,9±0,38% исходно), тенденция к повышению ранее достоверно сни-

женного позднего активационного потенциала (CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> 1,8±0,24% против 2,8±0,42% исходно и 1,1±0,33% после воздействия) и возвращение ранее значительно угнетенной цитолитической активности CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов к исходным значениям (CD8<sup>+</sup>Gr<sup>+</sup> 24±4,8% против 25,8±3,4% исходно и 15,1±0,33% после воздействия). Обращало на себя внимание количественное восстановление содержания клеток натуральных киллеров при их сохраняющейся достоверно сниженной гранзим-продуцирующей функции (CD16<sup>+</sup>Gr<sup>+</sup> 5,5±1,7% против 8,5±1,6% исходно и 4,3±1,4% после воздействия). Рецепторное представление клеток моноцитарно-макрофагального звена характеризовалось возвращением к исходным значениям достоверно сниженной экспрессии TLR2 (63±8,5% против 66±3,5% исходно и 49±4,8% после воздействия) при продолжающемся значительном угнетении экспрессии TLR4 (до 7,4±2,7% против 30±4,5% и 10±2,5%, соответственно) и TLR9 (до 3±0,83% против 7,5±1,25% и 5±0,88%, соответственно).

## ВЫВОДЫ

Краткосрочное плановое участие в спецоперациях профессионально подготовленных военнослужащих приводит к нарушениям иммунного статуса во врожденном и в адаптивном иммунном ответе. При этом 6 месяцев наблюдения, включавших в себя стандартный курс санаторно-курортной реабилитации, документировали отсутствие полного восстановления гомеостатических резервов иммунной системы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Firdaus S. D.* Enhancing versus Suppressive Effects of Stress on Immune Function: Implications for Immunoprotection and Immunopathology / S. D. Firdaus // *Neuroimmunomodulation*. 2009, 16(5), 300–317.
2. *Зайцева Н. С., Сизякина Л. П.* Дисфункция иммунной системы в структуре коморбидной патологии у военнослужащих-ветеранов боевых действий в отдаленном периоде наблюдения. *Иммунология*. 2016, 5, 267–270. [*Zaitseva N. S., Sizyakina L. P.* Dysfunction of the immune system in the structure of comorbid pathology in veterans of military operations in the remote period of observation. *Immunology*, 2016, 5, 267–270]

## THE DYNAMICS OF CHANGES IN THE IMMUNE STATUS OF THE MILITARY PERSONNEL IN TERMS OF PROFESSIONAL TASKS

© 2019 N. S. Zaitseva\*, L. P. Sizyakina

\*E-mail: n.zaitseva@list.ru

Rostov state medical university, Rostov-on-Don, Russia

Received: 25.02.2019. Accepted: 05.03.2019

The article presents the results of dynamic monitoring of soldiers who participated in special operations. The changes in the immune status were documented immediately upon the return of military personnel from a mission to areas with difficult operational conditions and the absence of their spontaneous recovery after 6 months.

*Key words:* stress, adaptation, immunity

### Authors:

**Zaitseva N. S.**, ✉ PhD, associate professor, Department of clinical immunology and allergology, Rostov state medical university, Rostov-on-Don, Russia. **E-mail:** n.zaitseva@list.ru;

**Sizyakina L. P.**, Doctor of science, professor, Head of Department of clinical immunology and allergology, Rostov state medical university, Rostov-on-Don, Russia.

## ВЛИЯНИЕ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО $\beta$ 1-ГЛИКОПРОТЕИНА НА ХЕМОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ Т-ХЕЛПЕРОВ И МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК

© 2019 г. С. А. Заморина<sup>1\*</sup>, Л. С. Литвинова<sup>2</sup>, К. А. Юрова<sup>2</sup>,  
О. Г. Хазиахматова<sup>2</sup>, В. П. Тимганова<sup>1</sup>, М. С. Бочкова<sup>1</sup>,  
П. В. Храмцов<sup>1,2</sup>, М. Б. Раев<sup>1</sup>

\*E-mail: mantissa7@mail.ru

<sup>1</sup>Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал  
ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

Поступила: 07.03.2019. Принята: 20.03.2019

Изучали влияние трофобластического  $\beta$ 1-гликопротеина человека (ТБГ) на продукцию хемокинов мононуклеарными клетками и Т-хелперами в условиях *in vitro* методом проточной флуориметрии. Установлено, что ТБГ подавляет продукцию хемокинов, повышенный уровень которых ассоциирован с самопроизвольным прерыванием беременности: IL-8, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES и MCP-1. В итоге, можно сделать вывод, что ТБГ формирует фетопротективный хемокиновый профиль исследованных периферических клеток иммунной системы.

**Ключевые слова:** трофобластический  $\beta$ 1-гликопротеин (ТБГ), беременность, хемокины, лимфоциты, моноциты, CD4<sup>+</sup>- лимфоциты

DOI: 10.31857/S102872210006593-7

**Адрес:** 614081 Пермь, ул. Голева, д. 13, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, лаборатория экологической иммунологии. Заморина Светлана Анатольевна. Телефон: +7 (342) 280-77-94,  
**E-mail:** mantissa7@mail.ru

**Авторы:**

**Заморина С. А.**, д.б.н., в.н.с., «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия;

**Литвинова Л. С.**, д.м.н., заведующая Базовой лабораторией иммунологии и клеточных биотехнологий «БФУ имени И. Канта», Калининград, Россия;

**Юрова К. А.**, к.м.н., научный сотрудник «БФУ имени И. Канта», Калининград, Россия;

**Хазиахматова О. Г.**, к.б.н., научный сотрудник «БФУ имени И. Канта», Калининград, Россия;

**Бочкова М. С.**, к.б.н., н.с. «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия;

**Тимганова В. П.**, к.б.н., м.н.с. «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь Россия;

**Храмцов П. В.**, к.б.н., н.с. «ИЭГМ УрО РАН», Пермь, Россия; научный сотрудник «БФУ имени И. Канта», Калининград, Россия.

**Раев М. Б.**, д.б.н., в.н.с. «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь Россия.

С позиции современного понимания процессов репродукции, беременность является

физиологическим состоянием толерантности иммунной системы матери к полуаллогенному эмбриону. Цитокиновая сеть, включающая в себя и хемокины, непосредственно участвует в формировании иммунологической толерантности, выполняя функцию межклеточной коммуникации и выполняя интегративную роль в период беременности [1]. Трофобластический  $\beta$ 1-гликопротеин (ТБГ) – фетоплацентарный белок, синтезирующийся во время беременности клетками цито- и синцитиотрофобласта. Роль ТБГ в регуляции продукции хемокинов на уровне клеток человека изучена недостаточно. Прежде всего, это связано с отсутствием в открытом доступе нативного (не рекомбинантного) препарата ТБГ человека. В лаборатории экологической иммунологии («ИЭГМ УрО РАН», г. Пермь) разработана и запатентована авторская технология выделения и очистки ТБГ [2].

**Целью работы** являлась оценка роли ТБГ в регуляции продукции ключевых хемокинов, регулирующих клеточную интеграцию – CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, CCL11/Eotaxin, CCL5/RANTES, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 $\alpha$  и CCL4/

MIP-1 $\beta$  мононуклеарными клетками и CD4<sup>+</sup>-лимфоцитами человека в системе *in vitro*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали периферическую кровь небеременных женщин репродуктивного возраста (n=8). В эксперименте использовали суспензию мононуклеарных клеток, которые получали центрифугированием в градиенте плотности фикола-урографина. Затем методом позитивной иммуномагнитной сепарации («Invitrogen», США) из суспензии мононуклеарных клеток изолировали CD4<sup>+</sup>-лимфоциты. Полученные клетки – мононуклеары (1×10<sup>7</sup> кл/проба) и CD4<sup>+</sup>-лимфоциты (1×10<sup>6</sup> кл/проба) инкубировали с ТБГ (1, 10 и 100 мкг/мл) в плоскодонном 24-луночном планшете в ППС в течение 18 ч при 37 °С и 5% CO<sub>2</sub> без дополнительных индукторов. После инкубации методом проточной флуориметрии («Luminex xMAP») в инкубационной среде определяли содержание ключевых хемокинов: CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, CCL11/Eotaxin, CCL5/RANTES, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ . Процедуры осуществляли согласно протоколу «Bio-Plex Pro™ 27-Plex Assay». Результаты регистрировали с помощью автоматического фотометра для микропланшет Bio-Plex (Bio-Plex® 200 Systems, «Bio-Rad», США) и программы Bio-Plex Manager («Bio-Rad») в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Статистическую обработку результатов проводили с использованием парного критерия t Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что при внесении в культуру интактных мононуклеарных клеток ТБГ подавлял продукцию провоспалительного цитокина CXCL8/IL-8, и хемокинов CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL2/MCP-1. Эффекты, оказываемые ТБГ на продукцию хемокинов, зависели от его концентрации – так, продукция CXCL8/IL-8 угнеталась низкой и высокой концентрациями ТБГ (1 и 100 мкг/мл), CCL2/MCP-1 и CCL4/MIP-1 $\beta$  высокой концентрацией ТБГ (100 мкг), а продукция CCL3/MIP-1 $\alpha$  – только низкой концентрацией (1 мкг/мл). Не выявлено эффектов ТБГ на продукцию CXCL8/IP-10,

CCL11/Eotaxin и CCL5/RANTES мононуклеарными клетками. Установлено, что при внесении в культуру изолированных CD4<sup>+</sup>-клеток (Т-хелперов), ТБГ также снижал продукцию провоспалительного цитокина CXCL8/IL-8. В отношении синтеза хемокинов установлено, что ТБГ подавлял продукцию CCL3/MIP-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$ , CCL5/RANTES (100 и 10 мкг/мл) и CCL2/MCP-1 в низкой концентрации. Не выявлено эффектов ТБГ на продукцию CXCL8/IP-10 и CCL11/Eotaxin Т-хелперами. Известно, что IL-8, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES и MCP-1 реализуют транзит клеток в норме и миграцию клеток при воспалении, а повышение их уровня во время беременности ассоциировано с развитием самопроизвольных аборт [1]. Тот факт, что ТБГ способен угнетать их продукцию клетками иммунной системы, свидетельствует о фетопротективном потенциале этого белка.

Таким образом, ТБГ оказывал преимущественно супрессивный эффект на продукцию исследуемых хемокинов, причем эффект высокой концентрации белка носил универсальный характер. С учетом того факта, что повышение уровней IL-8, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES и MCP-1 во время беременности ассоциировано с развитием самопроизвольных аборт, способность ТБГ снижать их продукцию клетками иммунной системы можно трактовать как вклад данного белка в формирование иммунологической толерантности при беременности.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: 01201353248 и программы повышения конкурентоспособности (5-100) и субсидии «Организация проведения научных исследований 20.4986.2017/ВУ» БФУ им. И. Канта.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Du M.-R., Wang S.C., Li D.J. The integrative roles of chemokines at the maternal-fetal interface in early pregnancy // Cell. Mol. Immunol. 2014; 11(5): P. 438–448.
2. Раев М. Б. Способ выделения и очистки трофобластического  $\beta$ -1-гликопротеина. Патент РФ № 2367449 от 20.09.2009. / «Изобретения. Полезные модели». – 2009. – № 26. [Rayev M. B. A Method for the Isolation and Purification of Trophoblastic B-1-Glycoprotein. Patent of the Russian Federation 2367449, published on 2006, September 20, Bul. 26.]

**EFFECT OF PREGNANCY-SPECIFIC  $\beta$ 1-GLYCOPROTEIN  
ON CHEMOKINE PROFILE OF CULTURED T-HELPER  
AND MONONUCLEAR CELLS**

© 2019 S. A. Zamorina<sup>1</sup>, L. S. Litvinova<sup>2</sup>, K. A. Yurova<sup>2</sup>,  
O. G. Khaziakhmatova<sup>2</sup>, V. P. Timganova<sup>1</sup>, M. S. Bochkova<sup>1</sup>,  
P. V. Khrantsov<sup>1,2</sup>, M. B. Rayev<sup>1</sup>

\*E-mail: mantissa7@mail.ru

<sup>1</sup>Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, Russia;

<sup>2</sup>Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

**Received:** 07.03.2019. **Accepted:** 20.03.2019

The effect of human pregnancy-specific  $\beta$ 1-glycoprotein (PSG) on the production of chemokines by intact mononuclear cells and monocultures of CD4<sup>+</sup> cells in vitro by Bio-Plex® multiplex immunoassay technology was studied. It has been established that PSG suppresses the production of IL-8, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES and MCP-1, chemokines, an elevated level of which is associated with spontaneous abortion. As a result, it can be concluded that PSG forms the fetoprotective chemokine profile of the studied immune cells.

*Key words:* trophoblastic  $\beta$ 1-glycoprotein (PSG), pregnancy, chemokines, lymphocytes, monocytes, CD4<sup>+</sup>- lymphocytes

**Authors:**

**Zamorina S. A.**, ✉ PhD, MD (Biology), leading researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russian Federation. E-mail: mantissa7@mail.ru;

**Litvinova L. S.**, PhD, MD (Medicine), Head, Basic Laboratory of Immunology and Cell Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia;

**Yurova K. A.**, PhD (Medicine), Researcher, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia;

**Khaziakhmatova O. G.**, PhD (Biology), Researcher, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia;

**Timganova V. P.**, PhD, junior researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russia;

**Bochkova M. S.**, PhD, researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russia;

**Khrantsov P. V.**, PhD, researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russian Federation, researcher, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia;

**Rayev M. B.**, PhD, MD, Leading Researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russia.

## НОВЫЕ АСПЕКТЫ ИММУНОПАТОГЕНЕЗА БОЛЕЗНИ ГРЕЙВСА – ЦИТОКИНОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ И КЛЕТОЧНАЯ ИНФИЛЬТРАЦИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ АУТОИММУННОМ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

© 2019 г. В. В. Здор<sup>1\*</sup>, Б. И. Гельцер<sup>2</sup>

\*E-mail: victoria.zdor@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 13.03.2019

При болезни Грейвса выявлены значимые изменения сывороточных уровней ряда оппозитных цитокинов с существенным увеличением содержания IFN $\gamma$  и IL-2 на фоне дефицита TGF $\beta$ 1 исходно и на фоне терапии тиамазолом, что свидетельствует о дисфункции Tregs с последующим феноменом истощения. Сохранение повышенного уровня IL-10 на фоне 6 месяцев терапии тиреотоксикоза свидетельствует о негативной роли цитокина из-за известной индукции им дифференцировки Treg в Th17-клетки с последующим снижением числа Tregs. Наряду с исследованием тиреоидных гормонов, ТТГ и тиреоидных аутоантител, целесообразно проводить мониторинг сывороточного уровня IL-2, IFN $\gamma$ , IL-6, sIL-6R, IL-17 и TGF $\beta$ 1 исходно и на фоне терапии тиамазолом для адекватного контроля за течением аутоиммунного процесса и прогнозирования возможного рецидива заболевания, в том числе при решении вопроса о проведении радикального лечения. Получены убедительные данные об участии мастоцитов в патогенезе болезни Грейвса, но не при узловом эутиреоидном зобе. Активная миграция мастоцитов в щитовидную железу при болезни Грейвса, их дегрануляция в интра- и межфолликулярном пространстве и экспрессия ими CD86 предопределяет способность мастоцитов участвовать в антиген-презентирующей функции при аутоиммунном тиреотоксикозе, что раскрывает перспективы для персонифицированной патогенетической терапии заболевания.

**Ключевые слова:** аутоиммунный тиреотоксикоз, тиреоидэктомия, цитокины, мастоциты, CD86

DOI: 10.31857/S102872210006594-8

**Адрес:** 690002 г. Владивосток, проспект Острякова 4, Центральная научно-исследовательская лаборатория, н.с. Здор Виктория Владимировна. Тел./факс: +79147919625.

**E-mail:** victoria.zdor@mail.ru

**Авторы:**

**Здор В. В.**, к.м.н., научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Гельцер Б. И.**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор департамента клинической медицины ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Болезнь Грейвса (БГ) – аутоиммунный тиреотоксикоз – относят к мультифакторным по этиопатогенезу аутоиммунным заболеваниям.

Важные аспекты иммунопатогенеза БГ неизвестны – триггерный механизм, первичный аутоантиген, все антиген-презентирующие клетки (АПК) [1]. Роль тиреоидных гормонов (ТГ) в реакциях врожденного и адаптивного иммунитета, влияние ТГ на иммунорегуляторные процессы интенсивно исследуется в последние годы. Доказано взаимное влияние ТГ на иммунокомпетентные клетки лимфоидного ряда через их специфические мембранные и ядерные рецепторы [2, 3]. Существенную роль в развитии БГ играют регуляторные нарушения в системе иммунитета, в том числе дисбаланс в системе цитокинов, но нарушения цитокин-опосредованных механизмов трактуются неоднозначно [4, 5]. Кроме того, до сих пор неизвестны все меха-

низмы потери толерантности к аутоантигенам ЩЖ [1]. В связи с этим, актуально детальное изучение механизмов прогрессирования аутоиммунного тиреотоксикоза, что явилось **целью** нашего исследования.

## МЕТОДЫ

Исследование было проспективное, открытое, наблюдательное, с параллельным принципом формирования групп: 1-я – пациенты с БГ в состоянии медикаментозного эутиреоза (51 человек); 2-я – пациенты с узловым эутиреоидным зобом (32 человека) и группа контроля (50 человек). Пациентам с узловым эутиреоидным зобом (УЗ) была проведена гемитиреоидэктомия с предварительной морфологической верификацией диагноза (32 человека). Тотальная тиреоидэктомия применялась при БГ в случаях рецидива тиреотоксикоза (28 человек; 54,9%) и/или при увеличении объема ЩЖ с компрессионным синдромом (23 человека; 45,1%). Определение сывороточного уровня ТТГ, свободного Т3, Т4, антител к рТТГ, ТПО и к тиреоглобулину проведено электрохемилюминисцентным методом всем пациентам. Сывороточные уровни IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и sIL-6 R, IL-8, IL-17, IL-2 и рецептора sIL-2 RI, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  и рецепторов sTNF $\alpha$  RI и RII; IL-4, IL-10, IL-13, IL-22, TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 3 определяли методом ИФА (чувствительность 1 пг/мл). Применяли гистохимические, ИГХ методы. Иммунное окрашивание проводилось стрептавидин-биотиновым пероксидазным методом. Хромогеном служил DAB+; ставили позитивные и негативные контроли. Морфометрия с подсчетом количества МС в единице площади ЩЖ и степень их дегрануляции при помощи программы «Motic Images Plus, 2.0». Методом электронной и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии изучали (в диапазоне увеличения 1200–20000) ультрамикроструктуру тиреоцитов и иммуноцитов, экспрессию CD86 в ЩЖ, идентифицировали маркер МС – триптазу. Использовали валидные статистические методы, ROC-анализ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При БГ установлен функциональный дисбаланс в системе клеточного иммунного реагирования на основании сохранения значимо высокого абсолютного уровня и нарушения соотношения оппозитных цитокинов, несмотря на достижение медикаментозного эутиреоза перед тиреоид-

эктомией, что указывает на прогрессирование аутоиммунного процесса в ЩЖ на фоне терапии. Значимое снижение концентрации цитокинов было зафиксировано через 2 месяца после тиреоидэктомии. Так, предоперационный уровень IL-1 $\alpha$  превышал аналогичный показатель контроля в 45 раз, но после тиреоидэктомии IL-1 $\alpha$  существенно снижился, но оставался в 1,6 раза выше нормы ( $p < 0,05$ ). При БГ значительно снижались после тиреоидэктомии уровень IL-6 ( $16,24 \pm 2,37$  пг/мл против  $2,74 \pm 0,34$  пг/мл,  $p < 0,001$ ) и его растворимого рецептора sIL-6 R (перед операцией –  $4303,02 \pm 37,12$  пг/мл, через 2 месяца –  $3889,21 \pm 40,76$  пг/мл,  $p < 0,05$ ), что демонстрирует участие тиреоидного эпителия в комплексе местных и, вероятно, системных воспалительных реакций посредством IL-6 и sIL-6 R. Исходно значимо высокий IFN $\gamma$  при БГ практически нормализовался после операции ( $72,98 \pm 6,21$  пг/мл против  $10,27 \pm 1,47$  пг/мл,  $p < 0,01$ ). Перед тиреоидэктомией была высокой (в 7 раз выше нормы) концентрация сывороточного IL-17, которая нормализовалась через 2 месяца после операции ( $74,56 \pm 11,04$  пг/мл против  $9,46 \pm 0,24$  пг/мл после операции,  $p < 0,01$ ). Сывороточный уровень IL-10 был значимо высоким ( $131,94 \pm 11,84$  пг/мл против контроля  $11,06 \pm 0,30$  пг/мл,  $p < 0,01$ ), отмечалась прямая зависимость содержания IL-10 от уровня свободного Т3 ( $r = 0,57$ ;  $p < 0,01$ ); он достоверно снижался через 2 месяца после тиреоидэктомии до  $17,24 \pm 4,10$  пг/мл ( $p < 0,01$ ). Корреляция показателей данных цитокинов с тяжестью тиреотоксикоза предполагает перспективным рассмотрение вопроса о таргетной антицитокиновой терапии при БГ. Через 2 месяца после тиреоидэктомии при БГ зафиксировано достоверное возрастание исходно низкого TGF $\beta$ 1 ( $11,21 \pm 1,49$  нг/мл до  $18,49 \pm 1,41$  нг/мл,  $p < 0,05$ ). Значимый абсолютный и относительный дефицит TGF $\beta$ 1 подтверждает ключевую роль цитокина в поддержании аутоиммунного воспаления в ЩЖ и свидетельствует в пользу феномена активационного истощения Tregs, обусловленного генетическим дефектом в системе иммунорегуляции при БГ, вероятно за счёт нарушения специфической индукции Tregs [5]. Взаимосвязь TGF $\beta$ 1 и объема ЩЖ оказалась обратной средней силы ( $r = -0,52$ ;  $p < 0,05$ ). Кроме того, при БГ после тиреоидэктомии зафиксировано значимое снижение исходно высокого уровня IL-2 ( $16,91 \pm 3,36$  пг/мл против  $122,51 \pm 2,80$  пг/мл до операции;  $p < 0,001$ ), которое сопровождалось

достоверным нарастанием уровня его растворимого рецептора sIL-2 R ( $184,17 \pm 29,79$  пг/мл и после операции  $440,86 \pm 39,84$  пг/мл;  $p < 0,001$ ). Незначительная эффективность тиамазола при осложненном течении тиреотоксикоза доказывает иммуностимулирующее действие исходно высоких уровней ТГ, а возрастающий в динамике на фоне терапии уровень ТТГ может влиять на синтез ТЗ в иммунocyтaх. При БГ цитокины могут индуцировать противоречивые иммунные реакции, которые зависят от взаимодействия с другими медиаторами [1, 4, 5], дальнейшее их изучение позволит провести эффективных поиск иммуноотропных препаратов, способных воздействовать на течение аутоиммунного процесса при БГ. В отличие от пациентов с узловым эутиреоидным зобом, при БГ получены достоверные данные об активной миграции, дегрануляции и экспрессии мастocyтaми CD86 в межфолликулярном пространстве ЩЖ, что доказывает участие МС в функции антигенпрезентации при аутоиммунном тиреотоксикозе. Ингибирование дегрануляции МС может являться одной из реальных задач патогенетической терапии БГ. Дальнейшее изучение данных аспектов иммунного ответа при БГ будет способствовать эффективной разработке соответствующих стратегий регуляции.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общими предикторами прогрессирования аутоиммунного процесса при БГ могут являться высокие сывороточные уровни IL-6, sIL-6R,

IL-17. Дополнительными иммунологическими маркерами для прогнозирования тяжести дальнейшего течения и возможного рецидива заболевания, при решении вопроса о тиреоидэктомии могут служить высокие показатели IL-1 $\alpha$ , IL-6, IFN $\gamma$ . Значительное увеличение или сохранение в процессе терапии БГ показателей IFN $\gamma$  в сыворотке крови свидетельствует о вероятном прогрессировании или рецидиве аутоиммунного тиреотоксикоза. Обнаруженные при БГ интенсивные корреляции между показателями ряда оппозитных цитокинов и ТГ, активно дегранулирующие и экспрессирующие CD86 интратиреоидные МС свидетельствуют об их участии в антигенпрезентации при БГ, возможно, после идентификации уровня тиреоидных гормонов в крови.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *McLachlan S. M., Rapoport B.* Breaking tolerance to thyroid antigens: changing concepts in thyroid autoimmunity. *Endocr. Rev.* 2014, 35(1), 59–105.
2. *Csaba G.* Hormones in the immune system and their possible role. A critical review. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 2014, 61 (3), 241–260.
3. *Brown M. A., Hatfield J. K.* Mast cells are important modifiers of autoimmune disease: with so much evidence, why is there still controversy? *Front. Immunol.* 2012, 3, 147.
4. *Kristensen B.* Regulatory B and T cell responses in patients with autoimmune thyroid disease and healthy controls. *Dan. Med. J.* 2016, 63(2), 27.
5. *Wiersinga W. M.* Thyroid autoimmunity. *Endocr. Dev.* 2014, 26, 139–157.

**NEW ASPECTS OF IMMUNOPATHOGENESIS OF GRAVES' DISEASE –  
CYTOKINES REGULATION AND CELLULAR INFILTRATION  
OF A THYROID GLAND AT AN AUTOIMMUNE THYROTOXICOSIS**

© 2019 V. V. Zdor<sup>1\*</sup>, B. I. Geltser<sup>2</sup>

*E-mail: victoria.zdor@mail.ru*

<sup>1</sup>*FSBEI HE Pacific State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation,  
Vladivostok, Russia;*

<sup>2</sup>*FSAEI HE Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia*

**Received:** 28.02.2019. **Accepted:** 13.03.2019

It is revealed that significant changes in serum levels of a number of opposed cytokines with a significant increase of IFN- $\gamma$  and IL-2 on the background of TGF- $\beta$ 1 deficiency initially and on the background of thiamazole therapy, which indicates Tregs dysfunction followed by a depletion phenomenon occur in Graves' disease. Preservation of elevated IL-10 levels on the background of 6 months of thyrotoxicosis therapy indicates a negative role of the cytokine due to the well-known induction of Treg differentiation into Th17 cells with subsequent reduction in the number of Tregs. Along with the study of thyroid hormones, TSH and thyroid autoantibodies, it is advisable to monitor the serum levels of IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-6, sIL-6R, IL-17 and TGF- $\beta$ 1, initially and during the thiamazole therapy for adequate monitoring of the autoimmune process and prediction of a possible recurrence of the disease, including when deciding on the radical treatment. The study obtained convincing data on the participation of mastocytes in the pathogenesis of Graves' disease, but not in the nodal euthyroid goiter. The active migration of mast cells to the thyroid gland in Graves' disease, their degranulation in the intra- and interfollicular space and their expression of CD86 predetermines the ability of mast cells to participate in the antigen-presenting function in autoimmune thyrotoxicosis, which opens up prospects for personalized pathogenetic therapy of the disease.

*Key words:* autoimmune thyrotoxicosis, thyroidectomy, cytokines, mast cells, CD86

**Authors:**

**Zdor V. V.**, ✉ PhD, candidate of sciences, research associate of the Central Research Laboratory within FSBEI HE Pacific State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Vladivostok, Russia; 690106, 4 Ostryakova st., Vladivostok, Russia. **E-mail:** victoria.zdor@mail.ru;

**Geltser B. I.**, MD, professor, Corresponding Member of RAS, Chair of Department clinical medicine Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia.

## СВЯЗЬ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ КОГНИТИВНОЙ ДИСФУНКЦИИ (ПКД) С УРОВНЕМ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 2, ИНТЕРЛЕЙКИНА 17 И ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА $\beta 2$ (бетта2)

© 2019 г. А. А. Зенина\*, Д. Ф. Бекерова, Александра И, Л. Д. Маркина

\*E-mail: zenina.aa@dvfu.ru

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия

Поступила: 25.02.2019. Принята: 11.03.2019

Обследовано 30 пациентов после АКШ, распределенных на две группы на основании данных MoCa. Мониторинг уровня MMP-2, IL-17, TGF $\beta$ 2 в сыворотке крови проведен методом ИФА 4 раза: до операции, после операции, на 1е и 7е сутки после операции. У пациентов с ПКД выявлено более высокое содержание ИЛ-17 на всех этапах исследования и низкое содержание TGF $\beta$ 2 и MMP-2 после операции, что обусловлено более выраженным провоспалительным ответом и недостаточностью противовоспалительной реакции.

**Ключевые слова:** TGF $\beta$ 2, IL-17, MMP-2, АКШ, ПКД

**DOI:** 10.31857/S102872210006595-9

**Адрес:** г. Владивосток. 690002, проспект Острякова, д. 4. ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Кафедра нормальной и патологической физиологии, Зенина Александра Александровна. Тел. 8914 707 26 52.

**E-mail:** zenina.aa@dvfu.ru

**Авторы:**

**Зенина А. А.**, аспирант кафедры нормальной и патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Бекерова Д. Ф.**, студентка ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**И Александра**, студентка ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Маркина Л. Д.**, д.м.н., профессор кафедры нормальной и патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Проблема развития ПКД всегда представляла большой интерес у больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) после аортокоронарного шунтирования (АКШ) [1]. В качестве основного механизма развития этого осложнения рассматривается нейровоспаление и нейрогуморальные

изменения, возникающие в ответ на операционную травму и стресс. Резидентные клетки мозга массивно продуцируют медиаторы иммунной системы, такие как цитокины, тем самым усугубляя процесс тканевого повреждения [2].

Среди биомаркеров повреждения головного мозга активно исследуется содержание цитокинов и металлопротеиназ. В нашем исследовании мы рассматриваем такие цитокины как IL-17, TGF $\beta$ 2 и матриксную металлопротеиназу 2 типа.

**Цель исследования:** исследовать особенности показателей системного воспаления у пациентов с ПКД после АКШ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовало 30 пациентов после АКШ. Для скрининга когнитивных нарушений использовалась Монреальская шкала когнитивного обследования (MoCa тест) до оперативного вмешательства и на 7-е сутки после операции. Пациенты разделены на две группы на основании данных MoCa теста. В 1-ю группу вошли 17 пациентов без ПКД (снижение данных MoCa теста менее 3 баллов), а во 2-ю — 13 пациентов с ПКД (MoCa тест более 3 баллов).

Определение уровня MMP-2 и IL-17, TGFβ2 в сыворотке крови проводилось методом твердофазного ИФА (R & D Systems, USA) до операции, после операции, на 1-е и 7-е сутки после операции. Статистический анализ проводился с помощью непараметрических критериев. Результаты представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Сравнение средних значений в выборках осуществляли с помощью непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Р значение менее 0,05 считалось статистически значимым. Результаты интерлейкинов выражали в пг/мл, а MMP-2 в нг/мл.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание MMP-2 было исходно сопоставимо в обеих группах. В 1-й группе 135,85 (116; 146,14) нг/мл, а во 2-й группе – 131,27 (112,03; 160,64) нг/мл, ( $p>0,05$ ). После операции концентрация этой MMP значительно увеличилась в обеих группах по сравнению с дооперационным периодом, но его значение в 1-й группе было значительно выше 221,26 (193,1; 224,24) нг/мл, чем в 2-й 174,75 (173,04; 184,87) нг/мл, ( $p<0,05$ ). В 1-е сутки после операции содержание MMP-2 продолжало значительно возрастать в обеих группах (276,99 (275,76; 294,36) нг/мл и 277,93 (228,38; 287,64) нг/мл,  $p>0,05$  в группах соответственно). На 7-е сутки после операции значение MMP-2 существенно снижалось в двух группах. Однако в 1-й группе величина этого показателя (135,43 (115,53; 146,33) нг/мл) стала ниже дооперационного уровня, а в 2-й группе достигло 175,02 (174,29; 220,33) нг/мл, что несколько выше, чем после операции, но значительно ниже, чем в 1-е сутки после операции.

Показатели IL-17 во все периоды исследования во II группе были, выше, чем в I группе ( $p<0,05$ ). В период после операции в I группе отмечено снижение этого цитокина 3,73 (3,35; 3,83) пг/мл по сравнению с дооперационным периодом 4,07 (3,9; 4,21) пг/мл ( $p<0,05$ ) с последующей высокой его концентрацией (в 1-е сутки – 4,19 (3,79; 4,94) пг/мл и 7-е сутки 4,21 (3,78; 4,94) пг/мл). Во II группе в период после операции содержание IL-17 было максимально высоким 5,44 (3,67; 5,46) пг/мл и в дальнейшем изменилось мало: в 1-е сутки после операции 4,9 (3,54; 5,76) пг/мл и 7-е сутки – 4,62 (3,92; 5,59) пг/мл.

В результате проведенного исследования выявлено, что содержание TGFβ2 у пациентов I группы до операции 18,44 (14,26; 31,99) пг/мл оказалось примерно одинаковым со II группой

22,67 (5,51; 29,82) пг/мл, ( $p>0,05$ ). После операции у пациентов без ПКД уровень TGFβ2 возростал до 31,26 (14,95; 51,1) пг/мл и достиг максимального значения для этой группы. А у пациентов с ПКД, напротив, содержание TGFβ2 снижалось до 13,58 (8,82; 20,54) пг/мл, ( $p<0,05$ ) и было минимальным в этой группе. В 1-е сутки и 7-е сутки после операции в I группе показатели плавно уменьшались до 29,82 (10,84; 32,45) пг/мл и 17,74 (13,58; 30,54) пг/мл соответственно, но оставались все же выше дооперационного уровня. Во II группе на 1-е сутки после операции значение TGFβ2 достигало максимума в этой группе 40,1 (15,65; 42,21) пг/мл, а на 7-е сутки в среднем было 31,9 (16,34; 69,14) пг/мл ( $p<0,05$ ), но значение этого цитокина оставалось выше, чем в 1-й группе на всех этапах исследования и дооперационного уровня во 2-й группе.

## ОБСУЖДЕНИЕ / ВЫВОДЫ

В основе ПКД лежит нейровоспаление. Оно проходит две фазы – провоспалительную и противовоспалительную. IL-17 – это провоспалительный цитокин, участвующий во многих стадиях иммунного ответа: стимулирует продукцию хемокинов и миграцию нейтрофилов к месту воспаления, обладает способностью к продукции многих цитокинов и хемокинов, действующих на разные клетки – ИЛ-8, ИЛ-6, ФНО-α, ИЛ-1, а также простагландина E2, запускает обширную тканевую реакцию, приводящую к миграции нейтрофилов в зону воспаления [3, 4]. Возможно, именно этим и обусловлено более высокое содержание IL-17 у пациентов с ПКД на всех этапах исследования.

Выделение противовоспалительных цитокинов, в том числе TGFβ2, оказывает холинергическое влияние на иммунное воспаление, и их недостаточность играет ключевую роль в патогенезе ПКД [4]. Этим и обусловлено низкое содержание TGFβ2 после операции у пациентов с ПКД. Возможно, более низкое содержание MMP-2 у пациентов с ПКД после операции связано с генетически обусловленным снижением противовоспалительного ответа у этой категории пациентов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Новицкая-Усенко Л. В.* ПКД в практике врача-анестезиолога // Медицина неотложных состояний. – 2017. – № 4(83). – С. 9–15. [*Novitskaya-Usenko L.V.* PCD in an Anesthesiologist's Practice // Emergency Medicine. – 2017. – № 4(83). – P. 9–15].

2. Левин С. Г., Годухин О. В. Модулирующее действие цитокинов на механизмы синаптической пластичности в мозге обзор // Биохимия.—2017.—Т. 82.—№ 3.—Р. 397–409. [Levin S. G., Godukhin O. V. The modulating effect of cytokines on the synaptic plasticity mechanisms in the brain review // Biochemistry.—2017.—Т. 82.—№ 3.—Р. 397–409].
3. Просекова Е. В., Турянская А. И., Сабыныч В. А. Оценка системы Ил-17 у детей с аллергической бронхиальной астмой // ТМЖ —2018.—№ 4.—С. 29–31. [Prosekova E. V., Turanskaya A. I., Sabinich V. A. Evaluation of Il-17 system in children with allergic bronchial asthma // PMJ.—2012.—№ 4.—Р. 29–31.
4. Симбирцев А. С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. СПб.: Фолиант, 2018. 512 с. [Simbirtsev A. S. Cytokines in Pathogenesis and Treatment of Disorders in Humans. St-Petersburg: Foliant, 2018. 512 p.]

## THE RELATIONSHIP OF POSTOPERATIVE COGNITIVE DYSFUNCTION WITH THE LEVEL OF METALLOPROTEINASE-2 AND INTERLEUKIN-17 AND TRANSFORMING GROWTH FACTOR $\beta$ 2

© 2019 A. A. Zenina\*, D. F. Bekerova, Aleksandra I, L. D. Markina

\*E-mail: zenina.aa@dyfu.ru

FSBEU HPE «Pacific State Medical University» of the Ministry of Health Care of the Russia, Vladivostok, Russia

Received: 25.02.2019. Accepted: 11.03.2019

30 patients after CABG were examined. The patients were divided into two groups on the basis of MoCa test results. Outcome monitoring of MMP-2, IL-17, TGF $\beta$ 2 level in the blood serum was carried out 4 times by means of microparticle enzyme immunoassay before the surgery, after the surgery, as well as on the 1st and 7th day following the surgery. In patients with PCD the higher level of IL-17 was distinguished. Alongside with the low levels of GF $\beta$ 2 and MMP-2 after the surgery, which is determined by a more vivid proinflammatory response and the insufficiency of the proinflammatory reaction.

*Key words:* TGF $\beta$ 2, IL-17, MMP-2, CABG, PCD

### Authors:

**Zenina A. A.**, ☒ post-graduate student of the department of Normal and Pathological physiology, FSBEU HPE “Pacific State Medical University”, Vladivostok, Russia. **E-mail:** zenina.aa@dvfu.ru;

**Bekerova D. F.**, student of the FSBEU HPE “Pacific State Medical University”, Vladivostok, Russia;

**I Aleksandra**, student of the FSBEU HPE “Pacific State Medical University”, Vladivostok, Russia;

**Markina L. D.**, DMS, professor of the department of Normal and pathological physiology, FSBEU HPE “Pacific State Medical University”, Vladivostok, Russia.

## ГЛИКОПАТОЛОГИЯ В СИСТЕМЕ МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПЛОД ПРИ РАЗВИТИИ БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ, СВЯЗАННЫХ С ДЕФЕКТАМИ ПЛАЦЕНТАЦИИ

© 2019 г. М. М. Зиганшина<sup>1\*</sup>, Н. В. Шилова<sup>1,2,4</sup>, Г. В. Куликова<sup>1</sup>,  
Н. Р. Хасбиуллина<sup>1,3,4</sup>, А. И. Щеголев<sup>1</sup>, А. Ю. Нокель<sup>1,4</sup>,  
Е. Л. Долгополова<sup>1</sup>, Н. В. Бовин<sup>2</sup>

\*E-mail: mmz@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского» РАН, Москва, Россия;

<sup>4</sup>ООО «Семиотик», Москва, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 14.03.2019

Изучены особенности гликофенотипа плаценты, репертуара и содержания антигликановых антител крови с помощью лектиновой гистохимии и гликоципа при преэклампсии (ПЭ) и задержке роста плода (ЗРП), которые свидетельствуют о развитии гликопатологии в системе мать-плацента-плод и различном патогенезе ранней и поздней ПЭ и ЗРП.

**Ключевые слова:** гликопатология, гликофенотип плаценты, антигликановые антитела, преэклампсия, задержка роста плода

DOI: 10.31857/S102872210006596-0

**Адрес:** 117997 Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии, Зиганшина Марина Михайловна. Тел./факс: +7(495) 4381183, 89031059746 (моб.).

**E-mail:** mmz@mail.ru

### Авторы:

**Зиганшина М. М.**, к.б.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Шилова Н. В.**, к.х.н., с.н.с. отдела химической биологии гликанов и липидов ФГБУН «Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН; с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова»; главный специалист по микроципам ООО «Семиотик», Москва, Россия;

**Куликова Г. В.**, к.б.н., с.н.с. патологоанатомического отделения, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Хасбиуллина Н. Р.**, м.н.с. лаборатории химии углеводов ФГБУН «Института органической химии им. Н. Д. Зелин-

ского»; н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова»; специалист по микроципам ООО «Семиотик», Москва, Россия;

**Щеголев А. И.**, профессор, д.м.н., заведующий патологоанатомическим отделением, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Нокель А. Ю.**, к.х.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова»; главный инженер ООО «Семиотик», Москва, Россия;

**Долгополова Е. Л.**, ординатор 2-го года ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Бовин Н. В.**, д.х.н., заведующий отделом химической биологии гликанов и липидов ФГБУН «Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия.

В настоящее время гликопатология, изучающая нарушение биосинтеза, экспрессии и функции гликанов, признана одним из но-

вых направлений в исследованиях патогенеза патологических процессов в организме. Гликаны являются ключевыми участниками межклеточных взаимодействий при органогенезе, иммунном ответе, канцерогенезе, воспалении, аутоиммунных реакциях. Однако их роль в формировании патологии плаценты при развитии больших акушерских синдромов (БАС), связанных с дефектами плацентации, к которым относятся преэклампсия (ПЭ) и задержка роста плода (ЗРП), остается недооцененной.

**Целью** данного исследования явилось изучение особенностей гликофенотипа плаценты, репертуара и содержания антигликановых антител (АгАт) при различных формах преэклампсии (ПЭ) и задержки роста плода (ЗРП).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проводилось одномоментное исследование в параллельных группах, в которое были включены 246 пациенток во II и III триместрах беременности. Контрольную группу составила 81 условно здоровая беременная. В основную группу включались пациентки с ПЭ (74 с умеренной ПЭ (уПЭ) и 36 с тяжелой (тПЭ)) и ЗРП (ранней (рЗРП) 15 и поздней (пЗРП) 40 пациенток). Материалом служила ткань плаценты и сыворотка периферической крови. Исследовался гликофенотип плаценты методом лектиновой гистохимии с помощью панели лектинов (Con A, UEA-I, ECL, VVL, GSL-I, GSL-II, MAL-II, SNA, DSL и SBA), которые связываются с остатками гликанов в соответствии со своей специфичностью. Дополнительно проводилась ферментативная обработка ткани для выявления изменения субтерминальных структур гликанов. Проводили количественный анализ интенсивности окрашивания гликоконъюгатов в составе гликокаликса синцитиотрофобласта и эндотелия терминальных ворсин плаценты. Сыворотка периферической крови анализировалась на содержание АгАт с помощью гликочипов, содержащих 689 гликанов, представляющих собой синтетические олигосахариды и гликаны из природных источников, которые были напечатаны, как описано в [1]. Сыворотки анализировали согласно [2].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлены особенности содержания (по сравнению с нормальной беременностью) фукозиллированных гликанов (окраска UEA I), гликанов олигоманнозного типа (Con A), 3'- 6'-сиало-

дов (MAL II и SNA) гликанов с терминальными остатками хитобиозы (GSL-II и DSL), галактозы и N-ацетилгалактозамина (VVL, GSL-I, ECL и SBA) в гликокаликсе эндотелия и синцитиотрофобласта терминальных ворсин плаценты при ПЭ и ЗРП. ТПЭ характеризуется выраженными изменениями гликокаликса обеих исследованных структур: установлены изменения содержания гликанов олигоманнозного типа,  $\beta$ -Gal-терминированных структур гликанов, 6'- и 3'-сиалозидов. При уПЭ гликокаликс синцитиотрофобласта не изменен; в гликокаликсе эндотелия выявлено снижение 6'-сиалозидов. При рЗРП и пЗРП значительные изменения гликокаликса выявляются в обеих структурах плаценты. Отмечаются как общие для обеих форм ЗРП изменения гликанов, так и характерные для конкретной формы. Причем, при рЗРП изменены, главным образом, терминальные гликаны; при пЗРП – субтерминальные структуры гликанов. Анализ изменения АгАт показал, что при ПЭ выявлены значимые различия с нормальной беременностью только на сроках после 34 недель: при уПЭ изменения затрагивают широкий репертуар АгАт IgG-класса, в частности снижены АгАт к гликанам – фрагментам гликолипидов (производные олигосахаридов Н тип 1 и Le<sup>Y</sup>), О-цепей гликопротеинов, в том числе коровым структурам, структурным гликанам гликокаликса (гиалуроновой кислоте и ее структурному дисахариду) и гликанам, не встречающимся у млекопитающих, например, О-полисахаридам бактерий (*E. coli* и *P. mirabilis*). При тПЭ репертуар АгАт узкий, выявляются различия по АгАт IgM-класса, в частности, к бактериальным полисахаридам. При ранней и поздней манифестации ЗРП выявлены различия по АгАт IgM-класса, в частности, при ранней – снижение АгАт к бактериальному полисахариду из *Sh. Boydii*; при поздней – снижение к GMDP-Lys, изомальтотриозе и производным дисахарида Le<sup>C</sup>.

Полученные результаты свидетельствуют о формировании гликопатологии в фетоплацентарной системе при БАС, развитие которых связано с дефектами плацентации, и подтверждают отличный патогенез различных форм ПЭ и ЗРП. Специфичность АгАт крови отражает изменения гликанов плаценты, что позволит, в будущем, обосновать их диагностическое и прогностическое значение.

Работа выполнена при поддержке ГК № АААА-А18-118053190026-6 и гранта РФФИ № 19-015-00102А.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Blixt O., Head S., Mondala T., Scanlan C., Huflejt M. E., Alvarez R., Bryan M. C., Fazio F., Calarese D., Stevens J., Razi N., Stevens D. J., Skehel J. J., van Die I., Burton D. R., Wilson I. A., Cummings R., Bovin N., Wong C. H., Paulson J. C. Printed covalent glycan array for ligand profiling of diverse glycan binding proteins. *Proc Natl Acad Sci.* 2004, 7;101(49):17033–8.
2. Huflejt M. E., 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. *Mol. Immunol.* 2009, 46(15): 3037–49.

**GLYCOPATHOLOGY OF FETOPLACENTAL-MATERNAL SYSTEM  
IN THE «GREAT OBSTETRICAL SYNDROMES» ASSOCIATED  
WITH DISORDERS OF DEEP PLACENTATION**

© 2019 M. M. Ziganshina<sup>1\*</sup>, N. V. Shilova<sup>1,2,4</sup>, G. V. Kulikova<sup>1</sup>,  
N. R. Khasbiullina<sup>1,3,4</sup>, A. I. Shchegolev<sup>1</sup>, A. Yu. Nokel<sup>1,4</sup>,  
E. L. Dolgoplova<sup>1</sup>, N. V. Bovin<sup>2</sup>

\*E-mail: mmz@mail.ru

<sup>1</sup>National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Federal Budget Institution of Science «M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry», Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Federal Budget Institution of Science «N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry», Moscow, Russia;

<sup>4</sup>Semiotik LLC, Moscow, Russia

**Received:** 28.02.2019. **Accepted:** 14.03.2019

The features of the glycophenotype of the placenta, the repertoire and the content of anti-glycan antibodies of the blood were studied using lectin histochemistry and glycochip in preeclampsia (PE) and fetal growth restriction (FGR), which indicate the development of glycopathology in the fetoplacental-maternal system and the different pathogenesis of early and late PE and FGR.

*Key words:* glycopathology, placental glycophenotype, anti-glycan antibodies, pre-eclampsia, foetal growth restriction

**Authors:**

**Ziganshina M. M.**, ☒ PhD, senior scientist of laboratory of clinical immunology of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia. **E-mail:** mmz@mail.ru;

**Shilova N. V.**, PhD, senior scientist of Department of chemical biology of glycans and lipids M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry; senior scientist of laboratory of clinical immunology National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation; chief microchip specialist of Semiotik LLC, Moscow, Russia;

**Kulikova G. V.**, PhD, senior scientist of department of anatomic pathology of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia;

**Khasbiullina N. R.**, junior scientist of laboratory of carbohydrate chemistry Zelinsky Institute of Organic Chemistry; staff scientist of laboratory of clinical immunology National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation; microchip specialist of Semiotik LLC, Moscow, Russia;

**Shchegolev A. I.**, MD, prof., head of the department of anatomic pathology of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia;

**Nokel A. Yu.**, PhD, senior scientist of laboratory of clinical immunology National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation; chief engineer of Semiotik LLC, Moscow, Russia;

**Dolgoplova E. L.**, 2<sup>nd</sup> year resident of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation Moscow, Russia

**Bovin N. V.**, Dr. habil., professor, chief of Department of chemical biology of glycans and lipids M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry.

## ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ТКАНЕВОГО УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ

© 2019 г. Е. Ю. Златник\*, А. Л. Базаев, С. С. Кочуев

\*E-mail: elena-zlatnik@mail.ru, rnioi@list.ru

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»  
Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

Поступила: 13.03.2019. Принята: 26.03.2019

В опухолевой ткани и перитуморальной зоне 36 больных раком пищевода и 56 больных меланомой кожи определяли содержание цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , которое сопоставляли с клиническим течением этих заболеваний. С помощью ROC-анализа показано, что содержание некоторых из них позволяет прогнозировать высокий риск раннего прогрессирования. Высокий уровень IL-1 $\beta$  и IL-6 в ткани опухоли, IL-1 $\beta$  и IL-2 в перитуморальной зоне характеризует микроокружение меланомы кожи как наиболее опасное в плане негативного прогноза. При раке пищевода он связан с высоким содержанием IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10 в ткани опухоли, IL-8 и TNF- $\alpha$  в перитуморальной зоне, TNF- $\alpha$  и IL-10 в линии резекции.

**Ключевые слова:** локальный иммунитет, цитокины, меланома кожи, рак пищевода, прогнозирование

DOI: 10.31857/S102872210006597-1

Адрес: 344037 Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, лаборатория иммунофенотипирования опухолей. Златник Елена Юрьевна.  
Тел.: 8 961 272 69 68 (моб.).

E-mail: elena-zlatnik@mail.ru

**Авторы:**

**Златник Е. Ю.**, д.м.н., проф., главный научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Базаев А. Л.**, аспирант ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Кочуев С. С.**, аспирант ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия.

Прогнозирование течения онкологических заболеваний является актуальной научной и клинической проблемой. Использование широко известных методов лечения (хирургический и химиолучевой) не всегда приводит к желаемому результату, поэтому анализ различных характеристик опухоли и особенностей больных является важной задачей для разработки персонализированных подходов. Нередко у больных, сходных по возрасту, полу, стадии заболевания

и пр. традиционно учитываемым характеристикам наблюдаются различные эффекты от аналогичного лечения. Известно, что опухоль способна к «ускользанию» от иммунного надзора и реализации «отрицательного иммунорегулирования» [1]. Большое значение придается локальному микроокружению опухоли, включающему вырабатываемые опухолевыми клетками вещества и привлекаемые опухолью ресурсы организма. Цитокины как молекулы межклеточных взаимодействий участвуют в регуляции процессов пролиферации и апоптоза, баланс которых в большой мере определяет рост или регрессию опухоли [2, 3].

**Цель работы:** изучение локальных уровней цитокинов в некоторых опухолях (меланома кожи и рак пищевода), прилежащих к ним тканях в сопоставлении с клиническим течением этих заболеваний и оценка возможности их использования в качестве прогностических факторов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучали цитокиновый состав образцов тканей опухоли, перитуморальной зоны (ПЗ), взятых при операции у 36 больных плоскокле-

точным раком пищевода (РП) II–III стадии и у 56 больных меланомой кожи (МК) с преобладанием II а, б, с стадий по TNM, III степени инвазии меланомы по Кларку и толщины T3–T4 по Бреслоу. У больных РП определяли также цитокиновый состав ткани линии резекции (ЛР), отстоящей от опухоли на 3–5 см. Все опухоли были первично выявленными, операция выполнялась первым этапом лечения, далее оно проводилось в соответствии со стандартами для данной распространенности процесса. При дальнейшем наблюдении больные были разделены на группы с коротким и длительным периодом до прогрессирования (до и свыше 1,5 лет соответственно для РП и до и свыше 1 года соответственно для МК), между которыми проводили сравнительное исследование цитокинового состава. Уровни цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  в гомогенатах тканей, полученных с помощью MediMachine (BD), определяли методом ИФА с тест-системами «Вектор-Бест» (Новосибирск); результаты выражали в виде удельных показателей (пг/мл/г общего белка, оцененного биуретовым методом). Для статистической обработки применяли параметрические и непараметрические методы, а также ROC-анализ с вычислением площади под ROC-кривой (AUC) и точки разделения (cut-off) для статистически значимых показателей, позволяющие с максимальной диагностической чувствительностью (ДЧ) и специфичностью (ДС) провести разделение на два альтернативных признака (наличие или отсутствие риска раннего прогрессирования). Учитывали только AUC с величиной, характеризующейся как отличная (0,9–1,0), хорошая (0,8–0,9) и удовлетворительная (0,7–0,8) при достоверности различий  $p < 0,005$  [4].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты показали, что у больных с прогрессированием и без прогрессирования РП в течение 1,5 лет после операции выявлен различный первоначальный уровень тканевых про- и противовоспалительных цитокинов. Так, ткань ПЗ больных с последующим прогрессированием РП характеризовалась статистически достоверно более высоким содержанием TNF- $\alpha$  и IL-10, чем у больных, у которых в течение данного срока прогрессирования не наступало ( $6,6 \pm 1,3$  и  $6,08 \pm 1,0$  против  $3,5 \pm 0,3$  и  $3,8 \pm 0,4$  пг/мл/г соответственно;  $p < 0,05$ ). В опухолевой ткани больных с быстро развившимся прогрессированием

процесса отмечены более высокие уровни IL-1 $\beta$  и IL-8 ( $116,1 \pm 24,7$  и  $129 \pm 20,3$  против  $54,5 \pm 7,8$  и  $81,0 \pm 11,7$  пг/мл/г у больных с длительной ремиссией соответственно;  $p < 0,05$ ). По результатам ROC-анализа для исследованных цитокинов cut-off составили 57,5 пг/мл/г (IL-1 $\beta$  в ткани опухоли), 4,5 пг/мл/г (IL-10 в ткани опухоли), 36,0 пг/мл/г (IL-8 в ПЗ), 7,4 пг/мл/г (TNF- $\alpha$  в ПЗ); превышение этих значений предполагает риск раннего прогрессирования заболевания. Кроме того, ROC-анализ позволил выявить еще два показателя, статистически значимых для оценки риска раннего прогрессирования РП: TNF- $\alpha$  и IL-10 в ткани ЛР, превышение уровней которых 9,8 и 5,2 пг/мл/г соответственно говорит о таком риске.

При МК локальные уровни цитокинов различались только по IL-1 $\beta$ , который у больных с прогрессированием в течение срока наблюдения (1 год) был выше, чем у больных без прогрессирования (в опухоли  $95,6 \pm 21,3$  и  $41,8 \pm 9,1$  пг/мл/г, в ткани ПЗ  $118,5 \pm 41,5$  и  $16,7 \pm 4,3$  пг/мл/г соответственно;  $p < 0,05$ ). Проведение ROC-анализа позволило выявить cut-off и для других цитокинов: его результаты говорят о достоверном увеличении риска раннего прогрессирования МК при превышении содержания IL-6 в ткани опухоли более 4,5 пг/мл/г с ДЧ 90% и ДС 60,6% ( $p = 0,002$ ), а также при превышении содержания IL-2 в ткани ПЗ более 1,71 пг/мл/г с ДЧ 95% и ДС 95% ( $p = 0,005$ ). Остальные исследованные цитокины, включая интерфероны, не показали прогностически значимой роли в прогрессировании МК, несмотря на то, что препараты интерферонов широко применяются в ее лечении.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, оценка локального уровня цитокинов в ткани РП и МК, а также в близлежащих тканях позволила выявить те из них, которые с высокой прогностической значимостью наряду с общепринятыми клиническими признаками, прежде всего, стадией, определяют прогноз течения исследованных опухолей. Выявлены статистически значимые критерии риска развития раннего прогрессирования МК по локальному содержанию IL-6 в ткани опухоли, IL-1 $\beta$  и IL-2 в ткани ПЗ и плоскоклеточного РП по уровням IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10 в ткани опухоли, IL-8 и TNF- $\alpha$  в ПЗ, TNF- $\alpha$  и IL-10 в ЛР. Полученные данные могут быть использованы для разработки математических моделей про-

гнозирования течения злокачественных опухолей и обоснования персонализированного подхода к лечению онкологических больных.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Corthay A.* Does the immune system naturally protect against cancer? *Front Immunol.* 2014, 5, 197.
2. *Lippitz B. E.* Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol.* 2013, 14, 218–228
3. *Fridman W.H., Pages F., Sautes-Fridman C., Galon J.* The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer* 2012, 12(4), 298–306
4. *Greenhalgh T.* How to Read a Paper: The Basics of Evidence Based Medicine. Second Edition. London: BMJ, 2001. 222.

### PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CYTOKINES' TISSUE LEVELS IN SOME MALIGNANT TUMORS

© 2019 E. Y. Zlatnik\*, A. L. Bazaev, S. S. Kochuev

|\*E-mail: elena-zlatnik@mail.ru, rnioi@list.ru

Federal Budget Institution Rostov Research Institute of Oncology,  
Rostov-on-Don, Russia

Received: 13.03.2019. Accepted: 26.03.2019

Levels of cytokines TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  were evaluated in samples of tumor and peritumoral tissue of 36 patients with esophageal cancer and 56 patients with skin melanoma in comparison with their clinical course. By means of ROC-analysis we showed that cytokines' levels in tissues are of some use for prognosis of the risk of the tumors' early progression. High levels of IL-1 $\beta$  and IL-6 in tumor, IL-1 $\beta$  and IL-2 in peritumoral tissue characterize the melanoma's microenvironment as the most dangerous in course of negative prognosis. As for the esophageal cancer it is related to high amounts of IL-1 $\beta$ , IL-8 and IL-10 in tumor, IL-8 and TNF- $\alpha$  in peritumoral tissue, TNF- $\alpha$  and IL-10 in the resection line.

*Key words:* local immunity, cytokines, skin melanoma, esophageal cancer, prognosis

#### Authors:

**Zlatnik E. Y.**, ✉ MD, Prof., Chief Researcher, Laboratory of Immunophenotyping of Tumors Rostov Research Institute of Oncology Rostov-on-Don, Russia. E-mail: elena-zlatnik@mail.ru;

**Bazaev A. L.**, post-graduate student, Rostov Research Institute of Oncology Rostov-on-Don, Russia;

**Kochuev S. S.**, post-graduate student, Rostov Research Institute of Oncology Rostov-on-Don, Russia.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ СОЦИАЛЬНОГО ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ У ДЕТЕЙ С ЭНДОГЕННЫМИ ПСИХОЗАМИ

© 2019 г. С. А. Зозуля\*, С. Г. Никитина, Н. В. Симашкова,  
Т. П. Ключник

\*E-mail: s.ermakova@mail.ru

ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 12.03.2019

Проблема исходов первых психотических эпизодов, протекающих в детском возрасте, а также уровень нарушения социального функционирования (СФ) является актуальной проблемой современной психиатрии. Принимая во внимание результаты исследований последних лет, свидетельствующих о вовлеченности иммунной системы в патогенез эндогенных психических заболеваний, целью настоящей работы было выявление иммунологических предикторов СФ детей, перенесших эндогенный психоз, в соответствии со шкалой PSP. Показано, что уровень активации иммунной системы (на основе иммунных показателей в рамках «Нейро-иммуно-теста») на психотическом этапе может служить предиктором дальнейшего СФ ребёнка в постприступном периоде.

**Ключевые слова:** детские психозы, социальное функционирование, воспалительные и ауто-иммунные маркеры, уровень активации иммунной системы

DOI: 10.31857/S102872210006598-2

**Адрес:** 115522 Москва, Каширское шоссе, 34, ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», лаборатория нейроиммунологии, Зозуля Светлана Александровна.

Тел.: +7 (499)109 03 93 (3104); 8 962 943 01 41 (моб.).

**E-mail:** s.ermakova@mail.ru

**Авторы:**

**Зозуля С. А.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;

**Никитина С. Г.**, младший научный сотрудник отдела детской психиатрии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;

**Симашкова Н. В.**, профессор, д.м.н., руководитель отдела детской психиатрии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;

**Ключник Т. П.**, профессор, д.м.н., руководитель лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Детские психозы являются смешанной группой тяжелых расстройств, характеризующихся грубыми отклонениями в области интеллектуальных и социальных возрастных норм. Компенсация нарушенных функций после перенесенных первых психотических эпизодов на-

ступает не всегда и носит частичный характер, что затрудняет социальное функционирование (СФ), требует длительного сопровождения специалистами, создания особых условий обучения и ухода. Прогноз постприступного СФ актуален также в связи с необходимостью выбора персонализированного маршрута ведения пациента и улучшения качества их жизни. Принимая во внимание результаты исследований последних лет, в ходе которых была доказана вовлеченность врожденного и приобретенного иммунитета в патогенез эндогенных психозов [1], перспективным направлением исследований является поиск иммунологических предикторов для прогнозирования уровня СФ ребенка с эндогенным психозом в постприступном периоде.

**Целью** настоящей работы было выявление иммунологических предикторов социального функционирования детей, перенесших эндогенный психоз, в соответствии со шкалой PSP.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 52 пациента (средний возраст  $9 \pm 3,7$  лет) с эндогенными психозами (F84.02,

F84.1x, F20.8xx3 по МКБ-10). На 1-м этапе исследования (в манифестном приступе) была проведена психопатологическая оценка состояния пациентов, а также определение воспалительных (энзиматической активности лейкоцитарной эластазы (ЛЭ), функциональной активности а1-протеиназного ингибитора (а1-ПИ)) и аутоиммунных (уровня аутоантител к нейроантгенам S-100b и ОБМ) маркеров сыворотки крови (медицинская технология «Нейро-иммуно-тест») [2]. На основе комплексного определения этих показателей условно было выделено 3 уровня активации иммунной системы: 1-й и 2-й уровни — «активация преимущественно врожденного иммунитета», различающиеся по уровню повышения активности воспалительных маркеров по сравнению с контролем; 3-й уровень — «активация как врожденного, так и приобретенного иммунитета», т.е. выраженное повышение активности как воспалительных, так и аутоиммунных маркеров.

На 2-м этапе исследования (в ремиссии), проведенном не ранее, чем через 1–3 месяца после приступа, был оценен уровень СФ больных при помощи шкалы «Повседневного социального функционирования» (PSP), адаптированной для применения в детском возрасте от 3-х до 16-ти лет. Сопряженность уровня активации иммунной системы в приступе и уровня постприступного СФ оценивали с помощью математического анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании оценки состояния больных по шкале PSP были выделены 3 группы пациентов, разделенных по уровню СФ и возможности социальной адаптации в постприступный период: I группа (n=18) — значительные затруднения СФ с возможностью дальнейшей социальной адаптации (от 60 до 41 балла). При иммунологическом обследовании в приступе у 94,4% пациентов была выявлена умеренная активация врожденного иммунитета (повышение активности ЛЭ и а1-ПИ); II группа (n=17) — сильно выраженные затруднения СФ с ограниченными возможностями социальной адаптации (от 40 до 21 балла). В активном периоде болезни в 76,5% случаев у этих пациентов отмечалась выраженная активация врожденного иммунитета (повышение активности ЛЭ на фоне дальнейшего повышения активности а1-ПИ); III группа (n=17) — грубые нарушения СФ со значи-

тельными трудностями социальной адаптации (ниже 20 баллов). В приступе у 82,3% пациентов наблюдалась активация как врожденного, так и приобретенного иммунитета (повышение активности ЛЭ, а1-ПИ, а также нарастание титров антител). Сопряженность уровня активации иммунной системы на этапе обострения с уровнем дальнейшего СФ детей статистически подтверждена с помощью критерия хи-квадрата Пирсона ( $\chi^2=63.02$ ;  $df=4$ ;  $p<<0,00$ ).

Таким образом, комплексное определение иммунных показателей сыворотки крови, а также оценка уровня активации иммунной системы (в рамках медицинской технологии «Нейро-иммуно-тест») на этапе обострения клинической симптоматики может служить предиктором социального функционирования ребёнка в постприступном периоде. Неблагоприятным социальным прогнозом обладают пациенты, характеризующиеся выраженной активацией как врожденного, так и приобретенного иммунитета, т.е. повышением активности как воспалительных, так и аутоиммунных маркеров сыворотки крови.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Андросова Л. В., Симашкова Н. В., Шушпанова О. В., Отман И. Н., Ключник Т. П. Возможности использования некоторых иммунологических показателей для оценки тяжести клинического состояния пациентов с начавшейся в детском возрасте шизофренией. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2016, № 2, 85–89. [Androsova L. V., Simashkova N. V., Shushpanova O. V., Otman I. N., Klyushnik T. P. The possibility of using some immunological indicators to assess the severity of the clinical condition of patients with schizophrenia that began in childhood. Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S. S. Korsakova. 2016, № 2, 85–89].
2. Ключник Т. П., Зозуля С. А., Андросова Л. В., Сарманова З. В., Отман И. Н., Пантелеева Г. П., Олейчик И. В., Копейко Г. И., Борисова О. А., Абрамова Л. И., Бологов П. В., Столяров С. А. Лабораторная диагностика в мониторинге пациентов с эндогенными психозами («Нейро-иммуно-тест»). Медицинская технология, 2-издание (дополненное). Медицинское информационное агентство. Москва, 2016. [Klyushnik T. P., Zozulya S. A., Androsova L. V., Sarmanova Z. V., Otman I. N., Panteleeva G. P., Oleichik I. V., Kopeiko G. I., Borisova O. A., Abramova L. I., Bologov P. V., Stolyarov S. A. Laboratory diagnostics in monitoring patients with endogenous psychosis (“Neuro-immuno-test”). Medicinskaya tekhnologiya, 2-izdanie (dopolnennoe). Medicinskoe informacionnoe agentstvo. Moskva, 2016].

## IMMUNOLOGICAL PREDICTORS OF SOCIAL FUNCTIONING IN CHILDREN WITH ENDOGENOUS PSYCHOSES

© 2019 S. A. Zozulya\*, S. G. Nikitina, N. V. Simashkova,  
T. P. Klyushnik

\*E-mail: s.ermakova@mail.ru

Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center",  
Moscow, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 12.03.2019

The problem of the outcomes of the first psychotic episodes occurring in childhood as well as the level of disruption of social functioning (SF) is an actual problem of psychiatry. Taking into account the results of recent studies demonstrating the involvement of the immune system in the pathogenesis of endogenous mental disorders, the purpose of this work was to identify the immunological predictors of SF in children undergoing endogenous psychosis in accordance with the PSP scale. It is shown that the level of activation of the immune system (based on the "Neuro-immuno-test" immune indicators) at the psychotic stage can serve as a predictor of further social functioning SF of the child in the post-attack period.

*Key words:* children psychosis, social functioning, inflammatory and autoimmune markers, level of activation of the immune system

### Authors:

**Zozulya S. A.**, ✉ PhD, Leading Researcher, Laboratory of Neuroimmunology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russia. E-mail: s.ermakova@mail.ru;

**Nikitina S. G.**, Junior Researcher of Department of Child Psychiatry, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russia;

**Simashkova N. V.**, MD, professor, Head of Department of Child Psychiatry, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russia;

**Klyushnik T. P.**, MD, professor, Head of Laboratory of Neuroimmunology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Mental Health Research Center", Moscow, Russia

## СПЕКТР МЕТАБОЛИТОВ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ У ПАЦИЕНТОВ С АСТМОЙ

© 2019 г. О. Ю. Зольникова, В. Т. Ивашкин

*E-mail: ks.med@mail.ru*

*ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет  
им. И. М. Сеченова» (Сеченовский университет) Минздрава России, Москва, Россия*

Поступила: 17.02.2019. Принята: 01.03.2019

Изучены содержание и профиль короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) в кале у пациентов, страдающих бронхиальной астмой и здоровых лиц. При бронхиальной астме снижено абсолютное содержание КЖК и изменен их профиль, что отражает нарушение метаболической активности молочнокислой флоры (бифидобактерий и лактобактерий). В свою очередь, повышение изоформ кислот (изоСп и изоСп/Сп) указывает на деструкцию приэпителиального слоя кишечной стенки. Значения анаэробного индекса, свидетельствуют в пользу роста аэробной факультативной и остаточной (условно-патогенной) аэробной микрофлоры. Выявленные изменения КЖК указывают на выраженные нарушения микробиоценоза кишечного биотопа, что может рассматриваться в качестве одной из причин развития бронхиальной астмы.

**Ключевые слова:** короткоцепочечные жирные кислоты, бронхиальная астма, микробиота, иммуномодуляция

DOI: 10.31857/S102872210006599-3

**Адрес:** 119991 Москва, улица Трубецкая дом 8/2. Сеченовский университет, Минздрава России, кафедра пропедевтики внутренних болезней Зольникова Оксана Юрьевна  
Тел./факс: 8 (499)248–35–12, 89163916056 (моб)

**E-mail:** ks.med@mail.ru

**Авторы:**

**Ивашкин В. Т.**, академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета, директор клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии имени В. Х. Василенко, Сеченовский Университет, Москва, Россия;

**Зольникова О. Ю.**, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Сеченовский Университет, Москва, Россия;

Микробиота кишечника посредством производимых метаболитов – короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) участвует в формировании иммунной системы [1–4].

**Цель исследования** – изучить профиля КЖК в кале у пациентов, страдающих БА и здоровых лиц.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 44 пациента бронхиальной астмой в стадии обострения, не принимавшие на протяжении предшествующих 3 месяцев

антибактериальные препараты, а также про- и пребиотики, ингибиторы протонной помпы и сахароснижающие препараты. Всем пациентам проведен общепринятый спектр клинико-лабораторных исследований. Группу контроля составили 17 здоровых добровольцев. Спектр КЖК определялся методом газожидкостного хроматографического анализа. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США) с оценкой значимости «р».

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Респонденты всех групп сопоставимы по возрасту, полу; больные с сопоставимы так же по длительности анамнеза, тяжести заболевания ( $p > 0,05$ ). Содержание КЖК значимо различалось  $p < 0,001$  между группами. В норме содержание ацетата составило  $5,87 \pm 0,22$  мг/г, пропионата  $1,77 \pm 0,08$  и бутирата  $1,73 \pm 0,09$ ; у пациентов аллергической астмой  $1,31 \pm 0,59$ ;  $0,56 \pm 0,33$  и  $0,39 \pm 0,23$  мг/г соответственно, а в случае неаллергической астмой  $1,41 \pm 0,59$ ;  $0,64 \pm 0,36$  и  $0,57 \pm 0,23$ . В профиле КЖК выявлены три типа изменений. У 59% обследованных

пациентов снижено относительное содержание уксусной кислоты при увеличении доли пропионовой и масляной кислот. У 25% пациентов – снижение долей уксусной кислоты и пропионовой при увеличении масляной. Оба этих типа соответствуют анаэробному метаболизму микрофлоры. У 17% выявлен аэробный метаболизм – преобладали доля уксусной и пропионовой кислот при снижении масляной кислоты. Протеолитическую активность микроорганизмов оценивали по сумме концентраций изокилот, а также пропорции всех изокилот ко всем неразветвленным кислотам (ИзоСн/Сн). Выявлено снижение показателей ИзоСн и ИзоСн/Сн у лиц, имеющих преимущественно анаэробный спектр КЖК и увеличение при его в подгруппе пациентов, имеющих аэробный спектр метаболического профиля КЖК. Значения анаэробного индекса, отражающего окислительно-восстановительный потенциал среды, существенно различались при разных метаболических типах. Зарегистрировано резкое смещение индекса в сторону отрицательных значений при анаэробном типе ( $p < 0,01$  при сравнении с референсными значениями) и в зону противоположных

значений – при аэробном типе. Что может свидетельствовать о росте соответственно анаэробных или аэробных популяций на фоне снижения активности облигатной флоры в связи с угнетением ферредоксин-содержащих дыхательных ферментов, обеспечивающих их нормальную жизнедеятельность. Выявленные изменения КЖК указывают на выраженные нарушения микробиоценоза кишечного биотопа, что может рассматриваться в качестве одной из причин развития бронхиальной астмы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Arrieta M.* Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma // *Sci. Transl. Med.* 2015. N7. P. 307–312.
2. *Berthon B., Macdonald-Wicks L., Gibson P., Wood L.* Investigation of the association between dietary intake, disease severity and airway inflammation in asthma // *Respirology.* 2013. N18. P. 447–454.
3. *Cerdá B., Pérez M., Pérez-Santiago J.* Gut Microbiota Modification: Another Piece in the Puzzle of the Benefits of Physical Exercise in Health? // *Front. Physiol.* 2016. N7. P. 51–56.
4. *Gallaracher D.J., Kotecha S.* Respiratory Microbiome of New-Born Infants // *Front Pediatr.* 2016. N4. P. 10–15.

### A METABOLIC SPECTRUM OF THE GUT MICROBIOTA FOR THE PATIENTS WITH ASTHMA

© 2019 O. Yu. Zolnikova, V. T. Ivashkin

*E-mail: ks.med@mail.ru*

*Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia*

**Received:** 17.02.2019. **Accepted:** 01.03.2019

A content and profiles of short chain fatty acids (SCFAs) were studied into the feces of the patients with bronchial asthma and healthy persons too. A decrease of the absolute content and profiles changing of the short chain fatty acids (SCFAs) were detected after the lactic acid flora metabolic activity decreasing of (bifidobacteria and lactobacilli). An increasing of these parameters (isoCn and isoCn / Cn) indicates on a destruction of the epithelial layer of the intestinal wall. The anaerobic index values have reflected the redox potential of the intraluminal environment. As it was detected the anaerobic index changing could lead to the growth of the facultative aerobic and residual (conditionally pathogenic) aerobic microflora. The revealed SCFA's changes give evidence about the pronounced disorders in the intestinal biotope's microbiocenosis and this fact could be considered as one of the reasons of the bronchial asthma development.

*Key words:* SCFA, gut microbiota, bronchial asthma, immunomodulation

#### Authors:

**Ivashkin V. T.**, MD, Academician of Russian Academy of Sciences. Head of the department of internal Diseases Propedeutics, Director of V. Vasilenko Clinic of internal diseases propedeutics, gastroenterology, and hepatology, Sechenov University, Moscow, Russia;  
**Zolnikova O. Yu.**, associate professor of the department of internal Diseases Propedeutics, Sechenov University, Moscow, Russia.

## КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА ЧЕЛОВЕКА

© 2019 г. А. В. Зубков\*, М. А. Андреева, А. В. Сидоров, А. В. Милованова, Л. Г. Бутова

\*E-mail: alex\_zubkov@list.ru

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

Поступила: 11.03.2019. Принята: 25.03.2019

Получение рекомбинантных фрагментов рТТГ открывает новые возможности в разработке иммунохимических тестов для определения стимулирующих и блокирующих антител к рТТГ, в исследовании роли антигенной структуры рТТГ в патогенезе аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Клонирована оригинальная последовательность мРНК  $\alpha$ -субъединицы рТТГ, не содержащая нуклеотидных замен. Получен рекомбинантный вектор pVAX1-TSHR, подготовленный для трансфекции в клетки млекопитающих и экспрессии рекомбинантного белка  $\alpha$ -субъединицы рецептора тиреотропного гормона.

**Ключевые слова:** аутоантигены щитовидной железы, рТТГ, ампликоны, клонирование, рекомбинантный вектор

DOI: 10.31857/S102872210006600-5

Адрес: 105064 Москва, Малый Казенный пер., дом 5А, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», лаборатория иммунологической диагностики эндокринных заболеваний.

Зубков Александр Владимирович, Тел: +7 495 917 5242

E-mail: alex\_zubkov@list.ru

### Авторы:

**Зубков А. В.**, к.м.н., заведующий лабораторией иммунологической диагностики эндокринных заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

**Андреева М. А.**, м.н.с. лаборатории иммунологической диагностики эндокринных заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

**Сидоров А. В.**, к.б.н., заведующий лабораторией генетики ДНК-содержащих вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

**Милованова А. В.**, н.с. лаборатории генетики ДНК-содержащих вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

**Бутова Л. Г.**, к.б.н., в.н.с. лаборатории иммунологической диагностики эндокринных заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Рецептор ТТГ играет основную роль в патогенезе диффузного токсического зоба (ДТЗ) или болезни Грейвса — аутоиммунного заболе-

вания щитовидной железы (АИЗ ЩЖ), характеризующееся высокой продукцией аутоантител (аутоАТ) к рТТГ, что вызывает устойчивое состояние гипертиреоза [1].

По данным литературы, в структуре рТТГ три домена: внеклеточный, трансмембранный и внутриклеточный. Внеклеточный домен состоит из обогащённого лейцином участка и шарнирной области, которая связывается с трансмембранным доменом. рТТГ может расщепляться в двух участках, что приводит к выделению ( $\alpha$ )-субъединицы, состоящей из обогащённого лейцином участка и шарнирной области, и ( $\beta$ )-субъединицы, состоящей из С-концевой части рецептора и трансмембранного домена. По-видимому, расщепление рецептора происходит после взаимодействия расщепляющих аутоАТ с шарнирной частью рТТГ.  $\alpha$ -субъединица рТТГ является основным участком рецептора, к которому формируются аутоАТ [2, 3]. АТ к рТТГ могут либо напрямую стимулировать функцию щитовидной железы (стимулирующие аутоАТ), либо блокировать биологические эффекты ТТГ (блокирующие аутоАТ) [4]. АутоАТ, блокирующие стимуляцию щитовидной железы, могут быть использованы для прогнозирования клинических исходов болезни Грейвса. В связи с этим,

усилия ученых направлены на создание новых тестов для отдельного выявления блокирующих и стимулирующих аутоАТ к рТТГ.

Клонирование фрагментов рТТГ в клетках прокариот позволяет расширить спектр возможностей для его изучения, по сравнению с очисткой нативной формы белка с сохранением антигенных детерминант рТТГ.

**Целью работы** явилось клонирование гена рТТГ человека, получение и анализ рекомбинантных фрагментов рТТГ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали: ткань ЩЖ оперированного пациента с ДТЗ. Для получения мРНК ткань ЩЖ замораживали в жидком азоте и гомогенизировали. Нуклеиновые кислоты очищали от белков и разделяли методом ультрацентрифугирования при 100000 g в градиенте цезия хлорида. Для получения кДНК использовали ферментативный синтез двухцепочечной кДНК на poly (A)<sup>+</sup> – мРНК.

Для трансформации использовали компетентные клетки *E. coli*, штамм DH5 $\alpha$ .

Олигонуклеотидные праймеры были подобраны на основе последовательностей нуклеотидов, собранных в Gen Bank с использованием онлайн-программы Primer Blast. Синтезированы пять пар праймеров на участок, соответствующий внеклеточному (экстрацеллюлярному, ЭД) домену рТТГ, в компании «Синтол» (Россия).

Для амплификации участков ДНК, необходимых для создания конструкций, содержащих участки ЭД рТТГ различной длины, использовали метод ПЦР, который проводили с помощью ПЦР-амплификатора T-100 (Bio-Rad). Полученные ПЦР-продукты и на этапах клонирования пробы ДНК разделяли методом электрофореза в 1,5% агарозном геле. ПЦР-продукты очищали из агарозного геля, используя набор реактивов Cleanup Standart по методике, рекомендованной производителем.

Лигирование проводили с помощью набора Quick-TA kit без предварительной обработки рестриктазами в соответствии с инструкцией к набору. Для клонирования полученных ПЦР-продуктов были использованы векторы: рUC19, рAL2-T, в качестве экспрессирующего вектора использовали плазмиду рVAX1.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Работ, посвященных клонированию гена рТТГ человека, нам обнаружить не удалось.

Молекулярное клонирование гена рТТГ собаки было выполнено Парментье и его коллегами в 1989 г.: была получена кДНК 4,9 Кб, кодирующий пептид, состоящий из 744-х аминокислотных остатков. [5].

На первом этапе наших экспериментов было проведено выделение РНК из ткани ЩЖ человека. Полученные образцы содержали (от 0,2 до 0,7) мкг/мкл РНК, что было подтверждено методом электрофореза проб РНК в 1,5% агарозном геле.

Для получения генно-инженерных конструкций, содержащих фрагменты гена рТТГ, соответствующие ЭД, нуклеотидная последовательность которого включает в себя (1–1239) п.н. синтезированы пять пар праймеров. В указанной области были выбраны пять участков, на которые были синтезированы специфические олигонуклеотиды: 1-й участок – 1160 п.н.; 2-й участок – 1156 п.н.; 3-й участок – 432 п.н.; 4-й участок – 414 п.н.; 5-й участок – 389 п.н.

На следующем этапе была синтезирована кДНК на матрице РНК в двух вариантах, с использованием oligo(dT) и random праймеров. На матрице кДНК, полученной с использованием random праймеров, удалось синтезировать ПЦР-продукты длиной: 1160 п.н., 1156 п.н., 432 п.н., 389 п.н.

Аmplифицированные продукты были клонированы в плазмидный вектор рAL2-T, который трансформирован в компетентные клетки *E. coli*, штамм DH5 $\alpha$ .

Содержание плазмиды со вставкой проверяли методом ПЦР с праймерами M13 и дальнейшей визуализацией ПЦР-продуктов и исходных плазмид в агарозном геле. В результате были получены три варианта вектора рAL2-T, содержащие фрагменты рТТГ – векторы рAL2-T с ПЦР-продуктами участка 1 (1160 п.н.), участка 3 (432 п.н.) и участка 5 (389 п.н.). Для секвенирования были отобраны три клона. Секвенирование клонов показало, что на фрагменте 432 п.н. обнаружены 5 замен нуклеотидов; фрагменты, размером 1160 п.н. и 389 п.н., полностью идентичны опубликованным последовательностям (GenBank). Затем протяженный участок (1160 п.н.), кодирующий фрагмент альфа-субъединицы рТТГ, переведен в экспрессирующий вектор рVAX1, предназначенный для работы с клеточными линиями млекопитающих.

Полученный рекомбинантный белок рТТГ будет использован для создания высокочувствительного иммунохимического теста ново-

го поколения, для определения специфических аутоантител в сыворотке пациентов с ДТЗ.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Smith T.J.* TSHR as a therapeutic target in Graves' disease. *Expert Opin Ther Targets.* 2017; 21(4): 427–432.
2. *Rapoport B., McLachlan S.M.* TSH receptor cleavage into subunits and shedding of the A-subunit; a molecular and clinical perspective. *Endocrine Reviews.* 2016; 37(2): 114–34.
3. *Sanders J., Bolton J., Sanders P., Jeffreys J., Nakatake N., Richards T., Evans M., Kiddie A., Summerhayes S., Roberts E., Miguel R.N., Furmaniak J., Smith B.R.* Effects of TSH receptor mutations on binding and biological activity of monoclonal antibodies and TSH. *Thyroid.* 2007; 17(2): 1195–1206.
4. *Furmaniak J., Sanders J., Núñez Miguel R., B. Rees Smith.* Mechanisms of Action of TSHR Autoantibodies. *Horm Metab Res.* 2015; 47: 735–752.
5. *Parmentier M., Libert F., Maenhaut C., Lefort A., Gerard C., Perret J., Van Sande J., Dumont J.E., Vassart G.* Molecular cloning of the thyrotropin receptor. *Science.* 1989; 246(4937): 1620–1622.

## MOLECULAR CLONING OF HUMAN THYROID STIMULATING HORMONE RECEPTOR GENE

© 2019 **A. V. Zubkov\***, **M. A. Andreeva**, **A. V. Sidorov**,  
**A. V. Milovanova**, **L. G. Butova**

\*E-mail: alex\_zubkov@list.ru

*Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia*

**Received:** 11.03.2019. **Accepted:** 25.03.2019

Producing of recombinant TSHR fragments opens up new possibilities in the development of immunochemical tests to detect stimulating and blocking antibodies to TSHR, in studying the role of the antigenic structure of TSHR in the pathogenesis of autoimmune diseases of the thyroid gland. The original mRNA sequence of the  $\alpha$ -subunit of the thyroid stimulating hormone receptor, not containing nucleotide substitutions, was cloned. The obtained recombinant vector pVAX1-TSHR, prepared for transfection into cells of mammals and for the expression of the recombinant protein of the  $\alpha$ -subunit of the thyroid stimulating hormone receptor.

*Key words:* thyroid autoantigens, TSHR, amplicons, cloning, recombinant vector

#### Authors:

**Zubkov A. V.**, ✉ M. D. PhD, Head of the Laboratory for Immunological Diagnostics of Endocrine Diseases, Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia. **E-mail:** alex\_zubkov@list.ru;

**Andreeva M. A.**, junior researcher, of the Laboratory for Immunological Diagnostics of Endocrine Diseases, Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia;

**Sidorov A. V.**, Ph. D. Head of the Laboratory for Genetics of DNA viruses, Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia;

**Milovanova A. V.**, researcher of the Laboratory for Genetics of DNA viruses, Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia;

**Butova L. G.**, Ph.D., leading researcher, of the Laboratory for Immunological Diagnostics of Endocrine Diseases, Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia.

## ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В ДИНАМИКЕ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

© 2019 г. М. Ф. Иванов<sup>1</sup>, А. В. Жестков<sup>1</sup>, А. А. Суздальцев<sup>1</sup>,  
Л. Л. Попова<sup>1</sup>, И. П. Балмасова<sup>2,3\*</sup>

\*E-mail: iri.balm@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Самара, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический  
университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ,  
Москва, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 28.03.2019

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) является острой зоонозной вирусной инфекцией, клинически проявляющейся геморрагическим синдромом и острой почечной недостаточностью. Целью работы послужило исследование динамики лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунного ответа у больных ГЛПС в ходе лихорадочного, олигурического, полиурического периодов и в реконвалесценцию. Были зафиксированы некоторые особенности иммунопатогенеза ГЛПС – высокое содержание в крови регуляторных Т-лимфоцитов, преобладание на начальных этапах заболевания реакции естественных киллеров, запаздывание развития адаптивного клеточного иммунного ответа с участием цитотоксических Т-лимфоцитов.

**Ключевые слова:** ГЛПС, Т-лимфоциты, естественные киллеры

DOI: 10.31857/S102872210006601-6

**Адрес:** 127473 Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава РФ, лаборатория патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний. Балмасова Ирина Петровна.  
Тел./факс: +7 (910) 4689772, +7 (495) 3659855.

**E-mail:** iri.balm@mail.ru

**Авторы:**

**Иванов М. Ф.**, к.м.н., доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Самара, Россия;

**Жестков А. В.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Самара, Россия;

**Суздальцев А. А.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Самара, Россия;

**Попова Л. Л.**, д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Самара, Россия;

**Балмасова И. П.**, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией патогенеза и методов лечения инфекционных заболе-

ваний ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава РФ, Москва, Россия; профессор кафедры аллергологии и иммунологии ФНМО Мединститута ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ, Москва, Россия.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – инфекционное зоонозное заболевание, вызываемое хантавирусами и имеющее природно-очаговый характер. Ежегодно в мире регистрируется более 150000 случаев ГЛПС. Это острая инфекция с аэрогенным механизмом передачи возбудителя, характеризуется системным поражением мелких сосудов, геморрагическим диатезом, гемодинамическими расстройствами и поражением почек. ГЛПС имеет циклическое течение, в течении этого заболевания несколько периодов [1]. Согласно клинической классификации Б. З. Сиротина [2], различают начальный (долигурический, лихорадочный) период, олигурический, полиурический, восстановительный периоды.

Учитывая многообразие клинических проявлений заболевания, цикличность течения, сложность его патогенеза, определенный интерес представляет изменение характера иммунного ответа на разных стадиях инфекционного процесса, что и является основной целью данной работы. Этой теме посвящен ряд исследований последних лет [3, 4, 5], однако динамике иммунного ответа организма больного как на вирусного возбудителя, так и на те патологические изменения, которые происходят в организме под его воздействием, уделяется мало внимания.

Под наблюдением находились 54 больных ГЛПС, клинический диагноз у которых был верифицирован на основе эпидемиологических и серологических данных. Контрольная группа клинически здоровых людей включала 16 человек.

Кровь пациентов исследовалась методом проточной цитофлуориметрии. Фенотипирование лимфоцитов осуществлялось с определением  $CD3^+$ ,  $CD3^+CD4^+$ ,  $CD3^+CD8^+$ ,  $CD3^+CD56^+$ ,  $CD3^+CD25^{high}$ ,  $CD3^+CD4^+FoxP3^+$ ,  $CD3^+CD8^+FoxP3^+$ ,  $CD19^+$ ,  $CD3^+CD8^+NKG2D^+$ ,  $CD16^+CD56^+$ ,  $CD56^+NKG2D^+$  лимфоцитов. Исследования проводились на протяжении всего заболевания в соответствии с периодами ГЛПС. Продолжительность периодов имела индивидуальные колебания, но в среднем инкубационный период ГЛПС составлял 2–3 недели, продромальный период – 2–3 дня, лихорадочный период – 3–6 дней, олигурический период – с 3–6-го по 8–10-й день, полиурический период начинался с 9–13-го дня, период реконвалесценции продолжался в большинстве случаев от 3-х недель до 2 месяцев.

Было установлено, что в лихорадочный период отклонения иммунного статуса больных ГЛПС от контроля были минимальными и затрагивали только лимфоциты врожденного иммунитета – естественные киллеры (ЕК,  $CD16^+CD56^+$ ), причем не их количественный состав, а функциональную активность. Это проявлялось значительным ростом в крови относительного числа клеток, экспрессирующих активирующий лектиновый рецептор  $NKG2D$  ( $CD314$ ), – с 12,6% до 38,5% от общего числа ЕК ( $p=0,027$ ). Возрастало и число регуляторных Т-клеток ( $CD3^+FoxP3^+$ ) – примерно в 3 раза по сравнению с контролем ( $p=0,039$ ).

В олигурический период увеличивалась не только функциональная активность ЕК, но и их количество. Последний показатель возрастал в крови в 1,3 раза, а доля этих клеток, экспрессирующих рецептор  $NKG2D$ , поднималась до

49,4% ( $p<0,001$ ). В этот период отмечался достоверный рост числа В-лимфоцитов ( $CD19^+$ ) с 10,5% до 13,6% ( $p=0,048$ ). Число Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ) снижалось с 75% до 67,8% ( $p=0,033$ ), что может быть интерпретировано как процесс их активной миграции в основной орган поражения этого периода – почки. Интересно, что с этого периода число регуляторных Т-клеток ( $CD3^+FoxP3^+$ ), проявляющих супрессорную активность, возрастает уже в десятки раз.

В полиурический период активное участие в развитии адаптивного иммунного ответа начинают проявлять все категории Т-лимфоцитов. При этом общее число Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ) остается на прежнем уровне, а основные субпопуляции этих клеток демонстрируют неоднозначную динамику: число Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+$ ) падает с 45,4% до 34,3% ( $p=0,024$ ), а процент цитотоксических Т-лимфоцитов ( $CD3^+CD8^+$ ), наоборот, возрастает с 22,3% до 34,2% ( $p=0,048$ ). В этот период достоверно (в 2 раза) увеличивается содержание в крови еще одной категории Т-лимфоцитов – ЕКТ-лимфоцитов врожденного иммунитета, определяющих соотношение клеток гуморального и клеточного иммунного ответа. Судя по наблюдаемой динамике Т-клеток, свидетельствующей о преобладании цитотоксических Т-лимфоцитов, это равновесие сдвигается в пользу клеточного иммунного ответа. Число В-лимфоцитов и ЕК на этом этапе инфекционного процесса возвращается к исходным значениям, однако число ЕК, экспрессирующих активирующий рецептор, еще продолжает нарастать и достигает 54,7% ( $p<0,001$ ). Высокое содержание регуляторных Т-лимфоцитов остается на прежнем уровне ( $p<0,001$ ).

В период реконвалесценции из всех отмеченных сдвигов продолжает фиксироваться сниженное общее количество Т-лимфоцитов, высокий уровень ЕК, экспрессирующих активирующий рецептор  $NKG2D$ , и значительное количество регуляторных Т-клеток.

Таким образом, при ГЛПС вплоть до полиурического периода отмечается запаздывание развития адаптивного иммунного ответа клеточного типа – основного способа элиминации вирусных возбудителей, в то время как гуморальный иммунный ответ формируется раньше. На начальных этапах ГЛПС основные функции по элиминации хантавирусов берут на себя лимфоциты врожденного иммунитета – естественные киллеры. Такая динамика инфекционного процесса может быть связана с высоким содержанием в крови на протяжении всего заболева-

ния регуляторных Т-клеток с их способностью подавлять как функции лимфоцитов, так и воспалительные реакции, что в условиях системного воспаления при ГЛПС следует расценивать как защитную реакцию.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ткаченко Е. А., Дзагурова Т. К., Бернштейн А. Д., Коротина Н. А., Окулова Н. М., Мутных Е. С., Иванов А. П., Ишмухаметов А. А., Юничева Ю. В., Пиликова О. М., Морозов В. Г., Транквилевский Д. В., Городин В. Н., Бахтина В. А., Соцкова С. Е. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (история, проблемы и перспективы изучения). Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016, 15(3): 23–34. [Tkachenko E. A., Dzagurova T. K., Bernshtein A. D., Korotina N. A., Okulova N. M., Mutnih E. S., Ivanov A. P., Ishmukhametov A. A., Junicheva Yu. V., Pilikova O. M., Morozov V. G., Trankvilevskij D. V., Gorodin V. N., Bakhtina V. A., Sockova S. E. Hemorrhagic fever with renal syndrome (history, problems and prospects of the study). Epidemiology and vaccines. 2016, 15(3): 23–34].
2. Сиротин Б. З. Вопросы классификации геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Клиническая медицина. 1977, 55(2): 117–123. [Siro-tin B. Z. Questions the classification of hemorrhagic fever with renal syndrome. Clinical medicine. 1977, 55(2): 117–123].
3. Jiang H, Du H, Wang LM, Wang PZ, Bai XF. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome: Pathogenesis and Clinical Picture. Front Cell Infect Microbiol. 2016; 6: 1–11.
4. Scholz S., Baharom F., Rankin G., Maleki K. T., Gupta S., Vangeti S., Pourazar J., Discacciati A., Hoijer J., Bottai M., Bjorkstrom N. K., Rasmuson J., Evander M., Blomberg A., Ljunggren H. G., Klingstrom J., Ahlm C., Smed-Sorensen A. Human hantavirus infection elicits pronounced redistribution of mononuclear phagocytes in peripheral blood and airways. PLoS Pathol. 2017, 13(6): e1006462.
5. Zheng X, Ye C, Zhao J, Bian P, Zhang Y, Jia Z. Alterations and clinical significance of exosome-containing innate immunity related lncRNAs in patients of hemorrhagic fever with renal syndrome. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. 2016, 32(11):1522–1526.

### IMMUNOPATOGENIC FEATURES OF HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME IN THE DYNAMICS OF THE INFECTIOUS PROCESS

© 2019 M. F. Ivanov<sup>1</sup>, A. V. Zhestkov<sup>1</sup>, A. A. Suzdalcev<sup>1</sup>,  
L. L. Popova<sup>1</sup>, I. P. Balmasova<sup>2,3\*</sup>

\*E-mail: iri.balm@mail.ru

<sup>1</sup>Samara State Medical University, Samara, Russia;

<sup>2</sup>A. I. Evdokimov Moscow University of Medicine & Dentistry, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 28.03.2019

Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) is an acute zoonotic viral infection, clinically manifested by a hemorrhagic syndrome and acute renal failure. The aim of the work was to study the dynamics of lymphocytes of innate and adaptive immune response in patients with HFRS during feverish, oliguric, polyuric periods and in convalescence. There were some features of the immunopathogenesis of HFRS: a high content in blood of regulatory T-lymphocytes, the prevalence in the initial stages of the disease reaction of natural killer cells, the delay of the development of adaptive cellular immune response involving cytotoxic T-lymphocytes.

*Key words:* HFRS, T-lymphocytes, natural killer cells

#### Authors:

**Ivanov M. F.**, PhD, associate professor of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology of Samara State Medical University, Samara, Russia;

**Zhestkov A. V.**, MD, professor, Head of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology of Samara State Medical University, Samara, Russia;

**Suzdalcev A. A.**, MD, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology of Samara State Medical University, Samara, Russia;

**Popova L. L.**, MD, Professor of the Department of infectious diseases and Epidemiology of Samara State Medical University, Samara, Russia;

**Balmasova I. P.**, MD, Professor, Head of the Laboratory of the Pathogenesis and Treatment of Infectious Diseases of A. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia; Professor of Allergology and Immunology Department of Medical Institute of Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia. **E-mail:** iri.balm@mail.ru

## КОМПЛЕКСНАЯ КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ АДЕНОМИОЗЕ

© 2019 г. О. Ю. Иванова<sup>1\*</sup>, О. В. Телегина<sup>2</sup>, Н. А. Пономарева<sup>1</sup>,  
К. А. Елагина<sup>1</sup>, И. И. Коломоец<sup>1</sup>

\*Email: ivanova1@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Курск, Россия;

<sup>2</sup>ГУЗ Липецкий областной перинатальный центр, Липецк, Россия

Поступила: 15.02.2019. Принята: 27.02.2019

Под наблюдением находилось 42 пациентки с клинически и инструментально подтвержденным аденомиозом II–III степени. В плазме крови и аспирате из полости матки определялась концентрация про-, противовоспалительных и регуляторных цитокинов, компонентов комплемента и их ингибиторов. До лечения на системном и локальном уровнях отмечено повышение концентрации провоспалительных (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17, IL-18), IFN $\gamma$ , G-CSF, IL-2, снижение противовоспалительных (IL-4, IL-1RA) цитокинов, повышение уровня компонентов комплемента (C<sub>3</sub>, C<sub>3a</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>5a</sub>) при дисбалансе содержания их регуляторов (повышение фактора H и снижение C<sub>1</sub>-ингибитора). Комбинация стандартного лечения в сочетании с Ридостином, Гипоксеном и Эссенциале форте Н эффективно корригировало измененные показатели иммунного статуса.

**Ключевые слова:** аденомиоз, коррекция иммунных нарушений

DOI: 10.31857/S102872210006602-7

Адрес: 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3. ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава РФ. Кафедра акушерства и гинекологии, Иванова Оксана Юрьевна. тел. +7(4712) 52-98-80, 8 905 041-82-89 (моб)

E-mail: ivanova1@mail.ru

**Авторы:**

**Иванова О. Ю.**, д.м.н., доцент, зав. кафедрой акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Телегина О. В.**, заместитель главного врача по амбулаторно-поликлинической помощи ГУЗ Липецкий областной перинатальный центр, Липецк, Россия;

**Пономарева Н. А.**, д.м.н., доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Елагина К. А.**, студентка 6 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Коломоец И. И.**, ассистент кафедры биохимии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия.

Аденомиоз сопровождается повышенной продукцией провоспалительных цитокинов, простагландинов, гидролитических ферментов, активацией системы комплемента, усилением процессов ангиогенеза и нарушением функции

клеточно-опосредованного иммунитета, что в свою очередь вызывает развитие метаболических нарушений на системном и местном уровнях [1–3]. Изучение взаимосвязанных и обусловленных изменений иммунного статуса и метаболических нарушений может способствовать улучшению знаний о патогенезе данного заболевания и разработке эффективных способов лечения и реабилитации [4, 5].

**Целью** исследования стало изучение эффективности включения иммуномодулятора, антиоксиданта и мембранопротектора в традиционную фармакотерапию пациенток с аденомиозом.

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 42 пациентки с клинически и инструментально подтвержденным аденомиозом II–III степени [1], проходившими обследование в ГУЗ «Липецкий областной перинатальный центр». Все пациентки были рандомизированы по возрасту ( $34,7 \pm 2,6$  лет), индексу массы тела (не более  $26 \text{ кг/м}^2$ ). Половина пациенток получали только стандартное лечение (СЛ), вторая – дополнительно к нему

сочетание Ридостин, Гипоксен и Эссенциале форте Н. Все препараты вводили согласно рекомендациям, изложенным в Федеральном руководстве по использованию лекарственных средств (формулярная система). Контрольная группа в количестве 25 формировалась за аналогичный период времени из контингента гинекологически здоровых женщин, обратившихся на амбулаторный прием для прохождения диспансеризации.

Лабораторное обследование осуществляли сразу при поступлении в стационар и на 15-е сутки после лечения. Цитокины (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IFN $\gamma$ , IL-2, IL-17, IL-18, G-CSF, IL-4, IL-10, IL-1RA) в плазме крови и аспирате из полости матки выявляли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), компоненты системы комплемента (C<sub>3</sub>, C<sub>3a</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>5a</sub>), фактор Н, sIgA – диагностическим набором ООО «Цитокин» (Россия). Активность C<sub>1</sub>-ингибитора определяли хромогенным методом по способности ингибировать C<sub>1</sub>-эстеразу.

Статистическую обработку результатов проводили по критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (M), ошибки средней арифметической (m) с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel, 2010. Существенность различий оценивали по U-критерию. Статистически значимыми считали различия с  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При поступлении в стационар пациенток основной группы в плазме крови выявлено повышение уровня провоспалительных (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17, IL-18), IFN $\gamma$ , G-CSF, IL-2, снижение противовоспалительных (IL-4, IL-1RA) цитокинов, повышение уровня компонентов комплемента (C<sub>3</sub>, C<sub>3a</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>5a</sub>) при дисбалансе содержания их регуляторов (повышение фактора Н и снижение C<sub>1</sub>-ингибитора). В аспирате из полости матки выявлено повышение уровня исследованных компонентов и регуляторов системы комплемента, цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8, IFN $\gamma$ , IL-2, IL-18, G-CSF, IL-4) с одновременным снижением IL-1RA, IL-10 и sIgA. На фоне проводимого комплексного СЛ у пациенток с аденомиозом в плазме крови частично нормализуется, но не до уровня здоровых доноров, концентрация провоспалительных цитокинов, IL-1RA, C<sub>3</sub>, C<sub>3a</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5a</sub>-компонентов комплемента с повышением

IL-10, C<sub>1</sub>-ингибитора и фактора Н. На локальном уровне СЛ корригирует уровень IL-6, IL-8, IFN $\gamma$ , повышает содержание противовоспалительных цитокинов, нормализует уровень C<sub>5</sub>, частично C<sub>3</sub> и C<sub>3a</sub>, еще в большей степени повышает концентрацию C<sub>5a</sub>-компонента компонента. Включение в фармакотерапию сочетания Ридостин, Гипоксен и Эссенциале форте Н оказалось значительно эффективнее СЛ, так как нормализовало и корригировало более 75% исследованных параметров иммунного статуса. Изменения иммунных показателей достоверно коррелируют с динамикой клинических данных и показателями метаболического статуса, как на системном, так и на местном уровне [4].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Адамян Л. В., Кулаков В. И., Андреева Е. Н. Эндометриоз. Клинические рекомендации, М., 2016. [Adamyan L. V., Kulakov V. I., Andreeva E. N. Endometriosis. Clinical guideline, M., 2016.]
2. Джамалутдинова К. М., Козаченко И. Ф., Гус А. И., Адамян Л. В. Современные аспекты патогенеза и диагностики аденомиоза. Акушерство и гинекология, 2018, 1: 29–34. [Jamalutdinova K. M., Kozachenko I. F., Gus A. I., Adamyan L. V. Modern aspects of the pathogenesis and diagnosis of adenomyosis. Obstetrics and gynecology, 2018, 1: 29–34.]
3. Печеникова В. А., Акопян Р. А., Кветной И. М. К вопросу о патогенетических механизмах развития и прогрессии внутреннего генитального эндометриоза – аденомиоза. Журнал акушерства и женских болезней, 2015, Т. LXIV(6): 51–57. [Pechenikova V. A., Akopyan R. A., Kvetnoy I. M. On the issue of the pathogenetic mechanisms of development and progression of internal genital endometriosis – adenomyosis. Journal of Obstetrics and Women's Diseases, 2015, T. LXIV (6): 51–57.]
4. Конопля А. А., Иванова О. Ю., Быстрова Н. А., Телегина О. В. Клинико-лабораторная эффективность стандартов оказания медицинской помощи при внутреннем эндометриозе. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье», 2018, N1: 10–16. [Konoplya A. A., Ivanova O. Yu., Bystrava N. A., Telegina O. V. Clinical and laboratory effectiveness of standards of care in internal endometriosis. Kursk scientific and practical bulletin "Man and his health", 2018, N1: 10–16.]
5. Незнамова Н. В., Иванова О. Ю., Конопля А. А., Караулов А. В., Мальцева А. Н., Гаприлюк В. П. Иммунные нарушения на системном и местном уровне у пациенток с аденомиозом. Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2015, № 2: 24–28. [Neznamova N. V., Ivanova O. Yu., Konoplya A. A., Karaulov A. V., Maltseva A. N., Gavrilyuk V. P. Immune disorders at the systemic and local level in patients with adenomyosis. Immunopathology, allergology, infectious, 2015, No. 2: 24–28.]

## COMPLEX CORRECTION OF IMMUNE VIOLATIONS IN INTERNAL ENDOMETRIOSIS

© 2019 O. Yu. Ivanova<sup>1\*</sup>, O. V. Telegina<sup>2</sup>, N. A. Ponomareva<sup>1</sup>,  
K. A. Elagina<sup>1</sup>, I. I. Kolomoets<sup>1</sup>

\*E-mail: ivanovao1@mail.ru

<sup>1</sup>Kursk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia;

<sup>2</sup>State Healthcare Institution Lipetsk regional perinatal center, Lipetsk, Russia

Received: 15.02.2019. Accepted: 27.02.2019

42 patients with a verified diagnosis of adenomyosis stage II–III were under constant observation. The concentration of pro-, anti-inflammatory and regulatory cytokines, components of the complement and their inhibitors was determined in the blood plasma and aspirate from the uterine cavity. Prior to treatment, an increase in systemic and local concentrations of pro-inflammatory (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17, IL-18), IFN $\gamma$ , G-CSF, IL-2, anti-inflammatory (IL-4, IL-1RA) cytokines, an increase in the level of the complement components (C<sub>3</sub>, C<sub>3a</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>5a</sub>) with an imbalance in the content of their regulators (an increase in factor H and a decrease in the C<sub>1</sub> inhibitor). The combination of standard treatment in combination with Ridostin, Hypoxen and Essentiale forte H effectively corrected altered immune status parameters.

*Key words:* internal endometriosis, correction of immune disorders

### Authors:

**Ivanova O. Yu.**, ✉ MD, Associate Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology at the Kursk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia. E-mail: ivanovao1@mail.ru;

**Telegina O. V.**, deputy chief physician for outpatient care of the State Healthcare Institution Lipetsk Regional Perinatal Center, Lipetsk, Russia;

**Ponomareva N. A.**, MD, Associate Professor, Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology of Kursk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia;

**Elagina K. A.**, 6th year student of the medical faculty of the Kursk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia;

**Kolomoets I. I.**, Assistant, Department of Biochemistry of Kursk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia.

## ИЗБЫТОЧНЫЙ БАКТЕРИАЛЬНЫЙ РОСТ В ТОНКОЙ КИШКЕ (ИБР) – ФАКТОР, УТЯЖЕЛЯЮЩИЙ ТЕЧЕНИЕ АТОПИЧЕСКОЙ АСТМЫ

© 2019 г. В. Т. Ивашкин, О. Ю. Зольникова\*

\*E-mail: ks.med@mail.ru

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет  
им. И. М. Сеченова» (Сеченовский университет) Минздрава России, Москва, Россия

Поступила: 17.02.2019. Принята: 01.03.2019

Цель исследования: определить роль ИБР в патогенезе бронхиальной астмы (БА). Материал и методы: обследованы 45 пациентов БА. Проведены стандартные лабораторные и инструментальные исследования. ИБР подтвержден водородным дыхательным тестом с лактулозой. Больные получали стандартную базисную терапию комбинированными препаратами ( $\beta_2$ -адреномиметики длительного действия, ингаляционные глюкокортикоиды). Для лечения ИБР назначался рифаксимин или рифаксимин с последующим приемом пробиотика на протяжении 1 месяца. Контрольные исследования проводились на 14 день и через 1 месяц. Результаты: выявлено частое сочетание ИБР и бронхиальной астмы (67%). Высокие уровни IgE ( $p < 0,01$ ), эозинофилов в мокроте ( $p < 0,001$ ), сочетающиеся с выраженными нарушениями функции внешнего дыхания ( $p < 0,01$ ), в случае наличия ИБР при отражают более выраженную степень сенсибилизации этих пациентов. Коррекция нарушений состава кишечной микрофлоры сопровождается статистически достоверным снижением иммунологической активности ( $p < 0,01$ ) и улучшением функции внешнего дыхания ( $p < 0,001$ ). Заключение: ИБР представляет собой значимый фактор, усугубляющий течение бронхиальной астмы, играя важную роль в развитии и поддержании сенсибилизации пациентов.

**Ключевые слова:** избыточный бактериальный рост, микробита, бронхиальная астма

DOI: 10.31857/S102872210006603-8

**Адрес:** 119991 Москва, улица Трубечкая дом 8/2. Сеченовский университет, Минздрава России, кафедра пропедевтики внутренних болезней Зольникова Оксана Юрьевна. Тел./факс: 8 (499)248-35-12, 8916 391 60 56 (моб.)

**E-mail:** ks.med@mail.ru

**Авторы:**

**Ивашкин В. Т.**, академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета, директор клиники пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии имени В. Х. Василенко Сеченовский Университет;

**Зольникова О. Ю.**, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Сеченовский Университет.

Существует гипотеза, что изменение состава микробиоты кишечника служит причинным фактором развития БА [1–5].

**Цель исследования** – изучить частоту развития ИБР у больных БА и оценить его возможную роль в развитии заболевания.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование одобрено этическим комитетом, пациентами подписано информированное согласие. Обследованы 45 пациентов аллергической БА в стадии обострения, с объемом форсированного выдоха за 1 сек. (ОФВ<sub>1</sub>) меньше 80%, не принимающие на протяжении 3 месяцев антибиотики, пре- и пробиотики, прокинетики. Избыточный бактериальный рост в тонкой кишке (ИБР) определяли по стандартной методике водородным дыхательным тестом с лактулозой («Bedfont»). Больные получали стандартную базисную терапию комбинированными препаратами ( $\beta_2$ -адреномиметики длительного действия, ингаляционные глюкокортикоиды). Для лечения ИБР 15 пациентов (группа Б) получали рифаксимин 7 дней в дозе 600 мг в сутки, остальные 15 больных (группа А) – рифаксимин

в той же дозе, с последующим приемом пробиотика (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *L. rhamnosus*) по 1 капсуле 3 раза в день 1 месяц. Контрольные исследования проводились на 14 день и через 1 месяц после лечения. Статистическая обработка результатов осуществлялась при помощи программы STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Средние величины сравнивались при помощи t-теста, критерия  $\chi^2$ , критерия Фишера. Достоверными считались различия при значениях  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ИБР диагностирован у 67% (30%) больных. В случае наличия ИБР достоверно выше был уровень IgE ( $348,4 \pm 110,16$  МЕ/мл vs  $237,1 \pm 103,51$ ;  $p = 0,006$ ), эозинофилы мокроты ( $7,4 \pm 3,03$  ед. vs  $3,06 \pm 1,55$ ;  $p = 0,0002$ ) более значимое уменьшение ОФВ<sub>1</sub> ( $64,6 \pm 5,31\%$  vs  $69,6 \pm 5,47$ ;  $p = 0,011$ ). После добавления к стандартной терапии рифаксимина с целью лечения ИБР уровень IgE достоверно снизился ( $348,4 \pm 110,16$  vs  $249,0 \pm 89,38$ ;  $p < 0,01$ ), чего не наблюдалось в группе пациентов, не имеющих ИБР и получающих только базисную терапию ( $237,1 \pm 103,5$  vs  $241,0 \pm 90,2$ ;  $p = 0,46$ ). Из 30 пациентов ИБР 15 человек получали терапию рифаксимин + пробиотик (группа А) и 15 человек только рифаксимин (группа Б). Значения IgE в обеих группах до начала терапии были сопоставимы ( $308,4 \pm 139,28$  vs  $368,5 \pm 95,3$ ;  $p = 0,13$ ). Уровень IgE на фоне лечения ИБР достоверно снизился в обеих подгруппах: в подгруппе А с  $308,4 \pm 139,28$  до  $192,5 \pm 60,5$ ;  $p < 0,05$ ; в подгруппе Б с  $368,5 \pm 95,3$  до  $280,83 \pm 81,57$ ;  $p < 0,05$ . Выявлено, что добавление к терапии пробиотика привело к статистически значимому уменьшению аллергоспецифических IgE по сравнению с подгруппой, получавшей только рифаксимин (соответственно  $192,5 \pm 60,5$  vs  $280,83 \pm 81,57$ ;  $p < 0,05$ ). В ходе лечения отмечено улучшение функции внешнего дыхания у всех пациентов, вне зависимости от наличия ИБР, что расценено нами в первую очередь как положительный результат от проводимой терапии в условиях стационара. Однако, обращал на себя внимание статистически более значимый прирост после коррекции ИБР (ОФВ<sub>1</sub> до лечения  $64,6 \pm 5,31$ , через 14 дней  $74,2 \pm 5,58$ , через 1 ме-

сяц  $80,1 \pm 5,38$ ;  $p < 0,001$ ). Лечение ИБР привело к уменьшению числа госпитализаций в среднем до 1–2 раза в год, по сравнению с 2–3 раза ежегодно до проведения терапии ( $p < 0,05$  критерий Фишера). В группе пациентов без ИБР (33%), получавших по условиям исследования только базисную терапию, в последующий год наблюдения госпитализированы 2 и более раз, были 100% пациентов (15 человек).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования выявили частое сочетание ИБР и БА. Важно отметить, что назначение с целью лечения СИБР антибактериального препарата (рифаксимин) и последующий прием пробиотика способствовали статистически достоверному снижению IgE до физиологического уровня ( $p < 0,05$ ). У этих пациентов выявлена тенденция к более благоприятному течению бронхиальной астмы в последующий год наблюдения. Эффект пробиотиков в данном случае связан с их выраженным иммунотропным действием, в том числе влиянием на дифференцировку Т-лимфоцитов, продукцию фактора некроза опухоли и цитокинов, функциональную активность макрофагов, активацию синтеза IgA, снижению IgE [3–5].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Trompette A., Gollwitzer E., Yadava K., Sichelstiel A.K., Sprenger N., Ngom-Bru C., Blanchard C., Junt T., Nicod L.P., Harris N.L., Marsland B.J. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nature Medicine* 2014; 20:159–166.
2. Evsyutina Y., Komkova I., Zolnikova O., Tkachenko P., Ivashkin V. Lung microbiome in healthy and diseased individuals. *World J Respirol* 2017;7(2):39–47.
3. Castillo N.A., Perdigon G., Moreno de Leblanc A. Oral administration of a probiotic *Lactobacillus* modulates cytokine production and TLR expression improving the immune response against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in mice. *BMC Microbiol* 2011;11:177.
4. Oelschlaeger T.A. Mechanisms of probiotic actions – a review. *Int. J. Med. Microbiol.* 2010; 300: 57–62.
5. Abrahamsson T.R., Jakobsson H.E., Andersson A.F., Björkstén B. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin Exp Allergy* 2014;44(6):842–50.

## THE ATOPIC ASTHMA DISEASE COMPLICATED BY THE SMALL INTESTINE BACTERIAL OVERGROWTH (SIBO)

© 2019 V. T. Ivashkin, O. Yu. Zolnikova\*

\*E-mail: ks.med@mail.ru

*Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I. M. Sechenov First Moscow  
State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia*

**Received:** 17.02.2019. **Accepted:** 01.03.2019

An efficacy of a gut microbiota control was investigated for the patients with atopic asthma. 45 patients with atopic asthma were included in the study. The results of our clinical and lab tests, PFTs, the lactulose hydrogen breath tests have been presented to evaluate SIBO. Under the standard SIBO's therapy, the first group had being tested with Rifaximinum for the SIBO therapy during 7 days or Rifaximinum and with a succeeding probiotics therapy during 1 month. SIBO was diagnosed for 30 (67%) patients. We have detected the higher IgE level ( $p<0,01$ ), the higher eosinophils level ( $p<0,001$ ) in sputum and more significant decrease for FEV<sub>1</sub> ( $p<0,01$ ) in SIBO. The disorders correction of the intestinal microflora is accompanied the statistically significant decreasing of the immunological activity ( $p<0.01$ ) and improvement of the external respiration function ( $p<0.001$ ). So, SIBO is a significant factor aggravating the atopic asthma in patients.

*Key words:* SIBO, gut microbiota, atopic asthma

### Authors:

**Ivashkin V. T.**, MD, Academician of Russian Academy of Sciences. Head of the department of internal Diseases Propedeutics, Director of V. Vasilenko Clinic of internal diseases propedeutics, gastroenterology, and hepatology, Sechenov University, Moscow, Russia;

**Zolnikova O. Yu.**, ✉ associate professor of the department of internal Diseases Propedeutics, Sechenov University, Moscow, Russia.

**E-mail:** ks.med@mail.ru

## ЛОКАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ БЕЛКОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ У ЖЕНЩИН С ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИЕЙ

© 2019 г. А. Н. Каландарова<sup>1\*</sup>, Т. У. Арипова<sup>1</sup>, Г. З. Ешимбетова<sup>2</sup>

\*E-mail: amina\_kan@mail.ru

<sup>1</sup>Институт иммунологии и геномики человека АН Уз, Ташкент, Узбекистан

<sup>2</sup>Ташкентский институт усовершенствования врачей, Ташкент, Узбекистан

Поступила: 15.03.2019. Принята: 29.03.2019

Проведено исследование уровня белков острой фазы в цервикальной слизи у 48 женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN). Выявлено, что уровень С3 компонента комплемента и лактоферрина достоверно повышены у женщин с CIN I и II степени. Причем, более высокий уровень изученных белков острой фазы наблюдался у женщин с CIN на фоне ПВИ.

**Ключевые слова:** цервикальная интраэпителиальная неоплазия, иммунитет, белки острой фазы

DOI: 10.31857/S102872210006604-9

**Адрес:** 100060 Ташкент, ул. Я. Гулямова, д.74, Институт иммунологии и геномики человека АН РУз. Каландарова Амина Нуруллаевна.

Тел./факс: +(99871) 2330855, +998913812821 (моб.).

**E-mail:** amina\_kan@mail.ru

**Авторы:**

**Каландарова А. Н.**, к.м.н., зав. филиалом Института иммунологии и геномики человека АН РУз в Нукусе, Нукус, Узбекистан;

**Арипова Т. У.**, д.м.н., академик, директор Института иммунологии и геномики человека АН РУз, Ташкент, Узбекистан;

**Ешимбетова Г. З.**, д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Ташкентского института усовершенствования врачей, Ташкент, Узбекистан.

Несмотря на то, что история изучения цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) насчитывает уже вековую историю, в последние десятилетия эта проблема привлекает все большее внимание. Вызывает озабоченность широкое распространение этой патологии, которая встречается у 10–15% молодых женщин и девушек-подростков, и ее негативное влияние на репродуктивное здоровье [1]. Прогрессирование цервикальных интраэпителиальных неоплазий зависят от ряда факторов, решающим из которых является состояние местного иммунитета [2]. Как известно, шейка матки и влагалище относятся к органам, находящимся на границе внутренней среды организма женщины

с агрессивной внешней средой. Кроме анатомических особенностей, обеспечивающих защиту внутренней среды организма женщины, шейка матки обладает автономной иммунной системой, представленной местным и гуморальным иммунитетом [3, 4]. Патологическое состояние шейки матки сопровождается дисбалансом иммунологических параметров.

**Целью** исследования явилось изучение локального уровня С3 компонента комплемента и лактоферрина у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией I и II степени.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были комплексно обследованы 48 женщин с ЦИН I и II степени в возрасте от 18 лет до 38 лет. Контрольную группу составили 30 здоровых женщин того же возраста. Было проведено обследование женщин с учетом анамнеза, лабораторных исследований, клинических проявлений заболевания, гинекологического осмотра, кольпоскопических исследований.

Иммунологические исследования проводили изучением уровня С3 и лактоферрина в цервикальном секрете методом ИФА.

Статистическую обработку материала проводили на компьютере с помощью лицензированных программных систем. Вычисляли основные

статистические показатели ( $M \pm m$ ). Для анализа различий применяли t-критерий Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные нами исследования показали, что наиболее частыми жалобами пациенток с CIN были бели – 64,0% преимущественно слизисто-молочного характера, дискомфорт в области наружных половых органов – 55,2%, периодические боли внизу живота и зуд наружных половых органов у 48,6% и 36,8%. У 20,0% больных регистрировалось бессимптомное течение. Наиболее частыми топическими диагнозами при цервикальной эктопии, явились кондиломатоз вульвы и/или влагалища, хронический сальпингоофорит и хронический цервицит. Инфицированность генитального тракта ВПЧ по результатам ПЦР составил 75,0%, ВПГ и ЦМВ по результатам обнаружения специфических в цервикальном секрете – 66,7% и 54,4%, хламидийной инфекцией по результатам ПЦР – 16,1%, микоплазменной инфекцией (*M. genitalium*) – 26,5%. Частота обнаружения условно-патогенной микрофлоры у больных с CIN, составила 61,1%.

Лактоферрин представляет собой железосвязывающий гликопротеин, выступающий протектором тканей от повреждающего действия гидроксильных радикалов. Он опосредует реакции поверхностного натяжения на клеточных мембранах и силы отталкивания между ними [3]. Биологическая роль этого эффекта заключается в удержании нейтрофилов в воспалительном очаге. Проведенные нами исследования показали, что в цервикальном секрете у женщин, составивших контрольную группу, уровень лактоферрина составил в среднем  $187,6 \pm 15,6$  Нг/мл. У женщин с CIN уровень данного белка острой фазы был в пределах от 210 до 500 Нг/мл, составляя в среднем  $430,1 \pm 25,8$  Нг/мл, что более чем в 2 раза выше значений контрольной группы ( $P < 0,01$ ). Уровень лактоферрина у пациенток на фоне вирусной нагрузки был выше в 3,2 раза –  $593,7 \pm 32,4$  Нг/мл, чем у женщин контрольной группы ( $P < 0,001$ ) и в 1,4 раза выше, чем у женщин без инфекции ( $P < 0,05$ ).

Высокая концентрация ЛФ, возможно, влияет на смену клеточных фаз в очаге острого воспаления, замедляя смену полиморфноядерных лейкоцитов популяцией моноцитов – макрофагов. По мнению ряда исследователей, ЛФ является высокочувствительным маркером любого воспалительного процесса [3].

Изучение уровня компонента комплемента С3 показало, что у женщин с CIN на фоне инфекций наблюдается его повышение в 1,8 раза по сравнению с данными контрольной группы ( $13,1 \pm 0,8$  мг/мл против  $7,3 \pm 0,3$  мг/мл в контроле) ( $P < 0,01$ ). В то время, как у женщин с CIN без инфекции уровень С3 был повышенным в 1,2 раза по сравнению с данными контрольной группы ( $8,76 \pm 0,5$  мг/мл) ( $P < 0,05$ ).

Комплемент – как известно, это сложный комплекс белков, которые формируют каскадные системы усиленного ответа на антиген [4]. В наибольшей концентрации в сыворотке крови присутствует компонент комплемента С3. Повышение уровня С3 свидетельствует о том, что в данном случае ответные и компенсаторные реакции на хроническую вирусную интоксикацию имеют широкий спектр и амплитуду. Это позволяет классифицировать общее состояние иммунной адаптации как иммунопатологическое. Возможно, что эта длительная и стойкая активация, в особенности систем неспецифической защиты, приводящая к включению не только основных, но и резервных приспособительных реакций в механизмах саморегуляции иммунного гомеостаза, и составляет главную сущность вторичных иммунодефицитов.

Проведенное исследование показало, что при CIN, осложненной инфекцией в органах содержание С3 повышалось. Поскольку компонент комплемента С3 является важным фактором защиты эпителиальной ткани, некоторое повышение его уровня, вероятно, и обеспечивает надежную защиту тканей от деструктивного воздействия воспалительных агентов [4]. Однако резкое повышение уровня С3 при инфекционной нагрузке свидетельствует о снижении резистентности организма. Полученные результаты исследования содержания лактоферрина при CIN I и II степени не противоречат данным отечественной и зарубежной литературы о повышении его концентрации при других воспалительных процессах.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Костава М. Н. Роль воспалительных процессов половых органов в патологии шейки матки. // Поликлиническая гинекология. М. 2004. С. 48–53. [Kostava M. N. The role of inflammatory processes of the genital organs in the pathology of the cervix. // Polyclinic gynecology. M. 2004. p. 48–53.]
2. Мусаходжаева Д. А., Нуралиев Н. А., Файзуллаева Н. Я., Мамадалиева Я. С. Некоторые параметры иммунной системы у женщин с цервикальной

- интраэпителиальной неоплазией // Журнал клинической и Теоретической медицины.— Ташкент, 2012.— № 8., С. 64–66. [Musakhodjaeva D. A., Nuraliev N. A., Fayzullaeva N. Ya., Mamadalieva Ya. S. Some parameters of the immune system in women with cervical intraepithelial neoplasia // Journal of Clinical and Theoretical Medicine.— Tashkent, 2012.— № 8., P. 64–66.]
3. Роговская С. И. Папилломавирусная инфекция у женщин и патология шейки матки. М.: ГЭОТАР-медиа, 2011, 22 с. [Rogovskaya S. I. Human papillomavirus infection and cervical pathology. М.: GEO-TAR-Media, 2011, 22 p.]
  4. Юркина Э. А., Жвачевский Н. Г., Гребенчиков Л. В., Фролова С. Б., Калашников В. В., Сабиров А. Н., Рус В. И. Мониторинг уровня сывороточного лактоферрина при соматической и инфекционной патологии. Научная конференция «Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера»: Тезисы. Новосибирск 1998; 210–211. [Yurkina E. A., Zhevachevsky N. G., Grebenshchikov L. V. Frolova S. B., Kalashnikov V. V., Sabirov A. N., Rice V. I. Monitoring of serum lactoferrin in somatic and infectious diseases. Scientific conference “Problems of infectious pathology in the regions of Siberia, the Far East and the Far North”: Theses. Novosibirsk 1998; 210–211.]
  5. Кудрявцев И. В., Полевщиков А. В. Эволюция каскада комплемента: ранние этапы/ Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4, № 1. С. 11–21. [Kudryavtsev I. V., Polevshchikov A. V. Complement evolution: early stages // Cytokines and inflammation. 2005. Т. 4, № 1. С. 11–21.]

## LOCAL PROTEIN LEVEL OF ACUTE PHASES IN WOMEN WITH CERVICAL INTRAEPITELIAL NEOPLASIA

© 2019 A. N. Kalandarova<sup>1\*</sup>, T. U. Aripova<sup>1</sup>, G. Z. Eshimbetova<sup>2</sup>

\*E-mail: amina\_kan@mail.ru

<sup>1</sup>Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

<sup>2</sup>Tashkent Institute of Advanced Medical Studies, Tashkent, Uzbekistan

Received: 15.03.2019. Accepted: 29.03.2019

The study of the level of proteins of the acute phase in cervical mucus in 48 women with cervical intraepithelial neoplasia (CIN). It was revealed that the level of C3 component of complement and lactoferrin was significantly increased in women with CIN I and II degree. Moreover, a higher level of the studied proteins of the acute phase was observed in women with CIN against the background of PVI.

*Key words:* cervical intraepithelial neoplasia, immunity, acute phase proteins

### Authors:

**Kalandarova A. N.**, ✉ cms, head. Branch of the Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of Uzbekistan in Nukus, Nukus, Uzbekistan. **E-mail:** amina\_kan@mail.ru;

**Aripova T. U.**, MD, academician, director of the Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan;

**Eshimbetova G. Z.**, MD, Professor of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine of the Tashkent Institute of Advanced Medical Studies, Tashkent, Uzbekistan.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОКАЛЬЦИТОНИНА И CD64<sup>+</sup> С БАКТЕРИЕМИЕЙ И ВЫРАЖЕННОСТЬЮ ОРГАННОЙ ДИСФУНКЦИИ

© 2019 г. А. А. Калашникова\*, Т. М. Ворошилова, О. М. Слащева

\*E-mail: petkova\_nas@mail.ru

ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины  
имени А. М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 03.04.2019

Для оценки риска развития инфекционных осложнений и сепсиса у тяжелобольных пациентов используется ряд лабораторных маркеров, основным из которых является прокальцитонин. Менее известным методом является оценка экспрессии CD64 на нейтрофилах. Между этими показателями существует тесная корреляция, однако, в некоторых случаях результаты тестов на прокальцитонин и CD64 противоречат друг другу. В работе проведена оценка взаимосвязи уровня прокальцитонина, экспрессии CD64 с бактериемией и тяжестью органной дисфункции. Определено, что с наличием бактерий в крови тесно связана экспрессия CD64 на нейтрофилах, тогда как уровень прокальцитонина не зависит от наличия бактерий в крови. Выявлена прямая корреляционная зависимость между тяжестью органной дисфункции и обоими показателями. Эта взаимосвязь более значима для прокальцитонина. Использование тестов на прокальцитонин и CD64 в комплексе позволит улучшить качество обследования тяжелобольных пациентов.

**Ключевые слова:** сепсис, CD64, прокальцитонин, бактериемия, полиорганная дисфункция

DOI: 10.31857/S102872210006605-0

**Адрес:** 194044 Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2, ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, лаборатория клинической иммунологии. Калашникова Анастасия Андреевна. Тел.: 8 921 864 23 86 (моб.).

**E-mail:** petkova\_nas@mail.ru

**Авторы:**

**Калашникова А. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;

**Ворошилова Т. М.**, к.м.н., заведующая лабораторией бактериологических исследований ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;

**Слащева О. М.**, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории клинической химии ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия.

В настоящее время прокальцитонин (ПК) является основным маркером для ранней диагностики бактериальной и грибковой инфекции. Прокальцитониновый тест обладает рядом достоинств, среди которых высокая чувствительность, быстрота постановки и наличие стандарт-

ных тест-систем. В то же время отсроченность повышения концентрации ПК, недостаточная специфичность, отсутствие выраженного повышения при микотическом и грамположительном сепсисе [1, 2] существенно ограничивают его информативность. Остается актуальным поиск биологических маркеров тяжелого инфекционного процесса. В последние годы для ранней диагностики сепсиса и оценки эффективности терапии используется оценка экспрессии CD64 на нейтрофилах (nCD64) [3, 4].

**Цель работы:** оценка взаимосвязи прокальцитонина и nCD64 с бактериемией и выраженностью органной дисфункции.

Обследованы пациенты (n=80) отделения реанимации и интенсивной терапии ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова МЧС России с тяжелыми бактериальными инфекциями (n=24), бактериальным и микотическим сепсисом (n=56).

Исследовали концентрацию ПК (VIDAS BRAHMS PCT, Biomerieux), относительное количество CD64<sup>+</sup> нейтрофилов (антитела IgG1 FITC, CD64FITC, CD16PC5, CD45APC-AF750)

(Navios, Beckman Coulter), проводили бактериологический посев крови (Vact/Alert 3D) (VITEK2, Biomerieux).

Выявлена высокая корреляция между значениями ПК и относительным количеством nCD64 ( $p < 0,01$ ), что совпадает с результатами исследования Р. Cardelli и соавторов (2008) [5]. У тяжелобольных пациентов нормальным концентрациям ПК ( $0,32 \pm 0,24$  нг/мл) соответствует умеренное увеличение экспрессии nCD64 ( $58,9 \pm 18,7\%$ ); промежуточному уровню ПК ( $1,08 \pm 0,31$  нг/мл) соответствует nCD64  $68,6 \pm 21,3\%$ . При высоком уровне ПК ( $4,3 \pm 1,3$  нг/мл) экспрессия нейтрофилами CD64 возрастает до  $78,9 \pm 18,2\%$ . У пациентов с очень высокими сывороточными концентрациями ПК ( $31,4 \pm 19,2$  нг/мл) практически все нейтрофилы экспрессируют CD64<sup>+</sup> ( $91,5 \pm 10,2\%$ ). По нашему мнению, высокая корреляция между этими показателями допускает их взаимозаменяемость.

Результаты посевов образцов крови тяжелобольных пациентов были положительны в 36% случаев ( $n=29$ ). У пациентов с нормальным уровнем ПК частота положительных результатов бактериологического посева составляла 25%, при промежуточном уровне ПК — 38%, при высоком — 18%, при очень высоком — 58%. При сопоставлении результатов посева крови, значений ПК и nCD64 определена сильная взаимосвязь между бактериемией и значениями nCD64. Так, при нормальных и промежуточных концентрациях ПК у пациентов с отрицательными результатами посева крови относительное количество CD64<sup>+</sup> нейтрофилов составляло в среднем  $55,8 \pm 18,3\%$ , при наличии бактерий в крови —  $87,8 \pm 11,4\%$ . При использовании cut-off 89% чувствительность метода по определению nCD64 для диагностики бактериемии составляет 0,92, специфичность 0,73. Взаимосвязь между бактериемией и значениями ПК не определена (в 4-х образцах крови из 16 при

нормальном значении ПК  $< 0,5$  нг/мл выявлены возбудители родов *Candida*, *Staphylococcus*, в 6-ти образцах крови из 16 при ПК  $> 0,5 < 2$  нг/мл — *Candida*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*). Определена прямая корреляционная зависимость между выраженностью органной дисфункции (баллы по шкале SOFA) и значениями ПК ( $p < 0,01$ ), nCD64 ( $p < 0,05$ ).

nCD64 является показателем, тесно связанным с наличием бактерий в крови, и может использоваться для предварительной диагностики бактериемии, особенно при низких значениях прокальцитонина, а также для оценки эффективности антибиотикотерапии. Уровень прокальцитонина не отражает наличие бактерий в крови и более связан с выраженностью полиорганной дисфункции. Использование тестов на прокальцитонин и nCD64 в комплексе позволит улучшить качество обследования тяжелобольных пациентов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Leli C., Ferranti M., Moretti A., Al Dhahab Z. S., Cenci E., Mencacci A. Procalcitonin levels in gram-positive, gram-negative, and fungal bloodstream infections. *Dis Markers*. 2015, 2015:701480.
2. Guo S. Y., Zhou Y., Hu Q. F., Yao J., Wang H. Procalcitonin is a marker of gram-negative bacteremia in patients with sepsis. *Am J Med Sci*. 2015, 349(6), 499–504.
3. Li S., Huang X., Chen Z., Zhong H., Peng Q., Deng Y., Qin X., Zhao J. Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2013, 17(1), 12–23.
4. Umlauf V. N., Dreschers S., Orlikowsky T. W. Flow cytometry in the detection of neonatal sepsis. *Int J Pediatr*. 2013, 2013: 763191.
5. Cardelli P., Ferraironi M., Amodeo R., Tabacco F., De Blasi R. A., Nicoletti M., Sessa R., Petrucca A., Costante A., Cipriani P. Evaluation of neutrophil CD64 expression and procalcitonin as useful markers in early diagnosis of sepsis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2008, 21(1), 43–49.

## INTERRELATION OF PROCALCITONIN AND CD64<sup>+</sup> WITH BACTEREMIA AND SEVERITY OF ORGAN DYSFUNCTION

© 2019 A. A. Kalashnikova\*, T. M. Voroshilova, O. M. Slashcheva

\*E-mail: petkova\_nas@mail.ru

A. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine,  
St. Petersburg, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 03.04.2019

To assess the risk of developing infectious complications and sepsis in critically ill patients, a number of laboratory markers are used, the main of which is procalcitonin, the less well known is the expression of CD64 on neutrophils. There is a close correlation between these indicators, however, in some cases, the results of tests for procalcitonin and CD64 contradict each other. The paper assesses the interrelation of procalcitonin and CD64 with bacteremia and severity of organ dysfunction. It was determined that the level of expression of CD64 is closely related to the presence of bacteria in the blood, whereas procalcitonin is not specific for bacteremia. A direct correlation was found between the severity of organ dysfunction and both indicators. This interrelation is more significant for procalcitonin. The use of tests for procalcitonin and CD64 in the complex will improve the quality of examination of seriously ill patients.

*Key words:* sepsis, CD64, procalcitonin, bacteremia, organ dysfunction

### Authors:

**Kalashnikova A. A.**, ✉ PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunology, A. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia. **E-mail:** petkova\_nas@mail.ru;

**Voroshilova T. M.**, PhD (Medicine), Head, Laboratory of Bacteriological Studies, A. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia;

**Slashcheva O. M.**, Physician, Laboratory of Clinical Immunology, A. Nikiforov Russian Centre of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russia.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ПРОГРЕССИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

© 2019 г. Т. А. Кармакова

*E-mail: kalmar123@yandex.ru*

*Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена –  
филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии»  
Минздрава РФ, Москва, Россия*

**Поступила:** 11.03.2019. **Принята:** 25.03.2019

Местные и системные иммунные реакции участвуют в развитии злокачественной опухоли на всех этапах этого процесса, от возникновения трансформированных клеток до клинической прогрессии заболевания. Обзор включает основные положения современных концепций онкогенеза и противоопухолевого иммунного надзора, иммуноредактирования опухоли и роли опухолепромотирующего хронического воспаления.

**Ключевые слова:** злокачественная опухоль, противоопухолевый иммунный надзор, иммуноредактирование

**DOI:** 10.31857/S102872210006606-1

**Адрес:** 125284 Москва, 2-й Боткинский проезд, д.3, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава РФ, Кармакова Татьяна Анатольевна.  
Тел./факс: +7(495) 945 87 16, 8 906 771 89 81 (моб.).

**E-mail:** kalmar123@yandex.ru

**Автор:**

**Кармакова Т. А.**, д.б.н., ведущий научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии МНИОИ имени П. А. Герцена – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава РФ, Москва, Россия.

Современная концепция онкогенеза рассматривает развитие злокачественной опухоли как многостадийный процесс, включающий накопление в клетках генетических и эпигенетических нарушений, критические изменения клеточной физиологии и разлад в работе систем поддержания клеточного гомеостаза. Биологически агрессивный фенотип злокачественной клетки складывается из ее самодостаточности в пролиферативных стимулах, снижения чувствительности к сигналам, ингибирующим деление, подавления внутриклеточных механизмов апоптоза, утраты репликативного старения, приобретения способности индуцировать новообразование сосудов и проникать за пределы ткани

путем инвазии и метастазирования. Одной из ключевых характеристик злокачественной клетки считается ее способность ускользать от системы иммунного надзора [1].

Понятие о противоопухолевом иммунном надзоре включает кооперативное взаимодействие существующих в организме клеточных и гуморальных иммунных реакций, которые распознают и уничтожают трансформированные клетки [2]. Главными эффекторами первой линии противоопухолевой защиты считаются клетки, относящиеся к системе врожденного иммунитета – естественные киллеры (НК-клетки). Сигналом для их активации служит отсутствие на поверхности потенциальной мишени специфических для организма белков класса МНС-I и/или аномальная экспрессия стрессорных молекул. Остатки погибших в результате цитотоксической атаки трансформированных клеток поглощаются антиген-презентирующими клетками (АПК). Это дает начало классической цепочки специфических иммунных реакций с участием Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов, которые элиминируют клетки-мишени, несущие неоантигены. Взаимосвязанные события реакций клеток врожденного и приобретенного иммунитета инициируются и регулируются посредством

специализированных распознающих, активирующих и ингибирующих рецепторных комплексов, а также обширной кооперативной сетью цитокинов, хемокинов, факторов роста и других медиаторов, выделяемых иммунными и вспомогательными клетками.

В рамках современной парадигмы, которая объясняет роль иммунной системы в процессах возникновения неоплазии и прогрессии злокачественных новообразований, наибольшее признание получила гипотеза иммуноредактирования. Данная концепция выделяет во взаимоотношениях иммунной системы и опухоли последовательные фазы: элиминацию, равновесие и ускользание [3]. *Фаза элиминации* предполагает эффективную реализацию комплекса клеточных и гуморальных цитотоксических иммунных реакций, уничтожение измененных клеток и полное восстановление генетического гомеостаза ткани. В условиях хронического давления повреждающих факторов, мутагенных воздействий и пролиферативных стимулов, при усугублении эпигенетических нарушений и генетической нестабильности возрастает вероятность возникновения трансформированных клеток, увеличивается их фенотипическое разнообразие. Селективное давление иммунного окружения приводит к постепенному накоплению неиммуногенных клонов клеток, утративших нео-антигены, антигены гистосовместимости и костимуляторные молекулы, необходимые для индукции полноценного иммунного ответа; клеток, экспрессирующих лиганды-индукторы апоптоза лимфоцитов; клеток, способных выделять факторы, которые ингибируют активность АПК и Т-лимфоцитов, привлекают Т-регуляторные клетки и супрессоры миелодного ряда. Считается, что *фаза равновесия*, то есть динамического противостояния между вариативным фенотипом образующихся трансформированных клеток и программой иммунной защиты, может годами сдерживать рост опухоли. Наступает время, когда иммунная система становится неспособной контролировать ускользающие от ее надзора измененные клетки. *Фаза ускользания*, как правило, служит началом клинического этапа развития новообразования.

Воспалительные и иммунные реакции, предназначенные природой для устранения патогенов и стимуляции восстановления тканей, могут играть неоднозначную роль в процессе онкогенеза. Система иммунных и воспалительных реакций характеризуется высокой пластичностью, а их функциональная направленность

в значительной степени зависит от микроокружения. Так, при отсутствии адекватного разрешения воспалительных процессов и переходе воспаления в хроническую форму, клетки воспалительного инфильтрата могут служить источником факторов, которые повышают мутагенный потенциал, стимулируют деление, подавляют апоптоз, ремоделируют строму и индуцируют неоангиогенез. Вялотекущие воспалительные сигналы привлекают супрессорные клетки, которые стремятся подавить воспалительные реакции и активность цитотоксических лимфоцитов. На ранних этапах онкогенеза местные и системные эффекты «опухоль-прототирующего» воспаления могут создавать благоприятную среду для появления и выживания трансформированных клеток, на этапе роста новообразования — способствовать клинической прогрессии заболевания [2, 4, 5].

В настоящее время сфера иммуноонкологии и иммунотерапии злокачественных опухолей переживает настоящий ренессанс. Толчком к этому стали объективные клинические эффекты препаратов — ингибиторов контрольных точек иммунитета и применения для лечения онкологических больных генетически модифицированных цитотоксических Т-лимфоцитов [5, 6]. Успехи дальнейшего развития иммуноонкологии связывают с глубоким изучением механизмов функциональной организации иммунной системы, ее взаимоотношений в сложной экосистеме клеток опухолевой ткани, поиском способов целенаправленного влияния на баланс про- и противоопухолевых эффектов иммунных клеток, разработкой рационального дизайна сочетания современной иммунотерапии и традиционных методов лечения, а также созданием релевантных экспериментальных моделей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011, 144(5), 646–674.
2. Gonzalez H., Hagerling C., Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes Dev*. 2018, 32, 1267–1284.
3. Mittal D., Gubin M. M., Schreiber R. D., Smyth M. J. New insights into cancer immunoediting and its three component phases — elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol*. 2014, 27, 16–25.
4. Bottazzi B., Riboli E., Mantovani A. Aging, inflammation and cancer. *Semin Immunol*. 2018, 40, 74–82.
5. D'Errico G., Machado H. L., Sainz B. Jr. A current perspective on cancer immune therapy: step-by-step approach to constructing the magic bullet. *Clin Trans Med*. 2017, 6, 3

6. Li Z., Song W., Rubinstein M., Liu D. Recent updates in cancer immunotherapy: a comprehensive review and perspective of the 2018 China Cancer Immunotherapy Workshop in Beijing. *J Hematol Oncol.* 2018, 11, 142.

## IMMUNE ASPECTS OF CANCER DEVELOPMENT

© 2019 T. A. Karmakova

*E-mail: kalmar123@yandex.ru*

*P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – the branch of National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia*

**Received:** 11.03.2019. **Accepted:** 25.03.2019

Local and systemic immune responses are involved in the development of the malignant tumor at all stages of the process, from the appearance of transformed cells to the clinical progression of the disease. The review includes the main provision of the modern concepts of oncogenesis, antitumor immune surveillance, immunoediting and the role of tumor-promoting chronic inflammation.

*Key words:* cancer, antitumor immune surveillance, immunoediting

### **Author:**

**Karmakova T.A.**, PhD, Leading Researcher, Department of Modifiers and Protective Agents for Anticancer therapy, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – the branch of National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia.

## АНАЛИЗ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

© 2019 г. О. Ю. Килина<sup>1\*</sup>, С. В. Дутова<sup>1</sup>, Ю. В. Саранчина<sup>1</sup>,  
Т. А. Матросова<sup>1</sup>, Н. Г. Польша<sup>1</sup>, Т. С. Кулакова<sup>1</sup>,  
Н. В. Ханарин<sup>1</sup>, П. И. Шандаков<sup>2</sup>

\*E-mail: kilina\_oy@khsu.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ РХ «Республиканская клиническая больница им. Г. Я. Ремишевской», Абакан, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 27.03.2019

В статье представлены результаты сравнительного анализа фагоцитарной активности нейтрофилов, выделенных из эксплантов атеросклеротических бляшек, полученных в ходе эндартерэктомии у пациентов с атеросклерозом брахиоцефальных и бедренных артерий и нейтрофилов периферической крови этих же пациентов. Выявлено, что фагоцитарная активность нейтрофилов в составе атеросклеротических бляшек статистически значимо снижена. Это, возможно, свидетельствует, об истощении функциональной способности нейтрофилов в составе атеросклеротических бляшек в результате хронического воспалительного процесса, происходящего в интима сосудов при атеросклерозе.

**Ключевые слова:** атеросклероз, атеросклеротическая бляшка, нейтрофилы, фагоцитоз, фагоцитарная активность

DOI: 10.31857/S102872210006607-2

**Адрес:** 655017 Абакан, проспект Ленина 90, ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Медико-психолого-социальный институт. Килина Оксана Юрьевна. Тел./факс: +7 (3902) 237997, 8 960 775 23 65 (моб.)  
**E-mail:** july.saran4ina.2010@yandex.ru

### Авторы:

**Килина О. Ю.**, д.м.н., директор Медико-психолого-социального института, профессор кафедры внутренних болезней ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Дутова С. В.**, д.фарм.н., доцент, и.о. заведующего кафедрой фундаментальной медицины и гигиены Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Саранчина Ю. В.**, к.б.н., доцент кафедры фундаментальной медицины и гигиены, ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Матросова Т. А.**, студент 4 курса Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Польша Н. Г.**, к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Кулакова Т. С.**, аспирант кафедры общепрофессиональных дисциплин Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Ханарин Н. В.**, к.м.н., доцент кафедры общепрофессиональных дисциплин Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Шандаков П. И.**, к.м.н., заведующий отделением сосудистой хирургии ГБУЗ РХ «Республиканская клиническая больница им. Г. Я. Ремишевской», Абакан, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Роль клеток иммунной системы, прежде всего, макрофагов и лимфоцитов в патогенезе атеросклероза (АС) доказана. Однако в этом процессе также участвуют Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы (НФ), дендритные клетки, натуральные киллеры и Т-регуляторные лимфоциты [1, 2]. В зарубежной и отечественной литературе исследованию роли НФ в атерогенезе уделяется достаточное внимание [3, 4]. Но информация о функциональной активности НФ, входящих в состав атеросклеротических бляшек (АСБ), отсутствует. Поэтому для детализации описания процесса атерогенеза, а также для выявления возможных маркеров начала заболевания и прогнозирования его прогрессирования необходимо проведение дополнительных исследований. В свя-

зи с чем, **целью** данной работы явилась оценка особенности фагоцитарной активности НФ, входящих в состав АСБ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для анализа фагоцитарной активности НФ послужили образцы АСБ, полученные в ходе эндартерэктомии у 35 пациентов с АС брахиоцефальных и бедренных артерий (17 женщин и 18 мужчин, средний возраст – 66,9 лет), а также образцы крови этих же пациентов. Образцы АСБ подвергались гомогенизации с последующим ферментативным гидролизом в течение 1 часа при температуре 37 °С коллагеназой IV Gibco (Thermo Scientific) в присутствии ингибиторов протеиназ III Gibco (Thermo Scientific). Способность к фагоцитозу определяли у НФ, выделенных центрифугированием в градиенте плотности фиколл-урографин (Sigma-Aldrich) из образцов крови и гомогената АСБ (доля жизнеспособных клеток в суспензии составляла не менее 90%). Стандартизированную суспензию клеток в объеме 90 мкл помещали в микропробирки, добавляли 90 мкл суспензии латекса (концентрация суспензии – 60 тыс. частиц/мл), инкубировали в течение 30 минут при температуре 37 °С. Далее центрифугировали, супернатант в объеме 140 мкл отбрасывали, взвесь клеток ресуспендировали и готовили два микропрепарата (по 20 мкл каждый), фиксировали 96%-ным этиловым спиртом, окрашивали по Романовскому-Гимзе. Фагоцитарную активность НФ оценивали по их способности поглощать частицы латекса. Учет результатов осуществляли микроскопически, рассчитывали фагоцитарный индекс и фагоцитарное число. Результаты статистически обработаны и представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей. Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия с 95% достоверностью.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С целью изучения особенностей функциональной активности НФ, входящих в состав АСБ, было проведено сравнительный анализ фагоцитарной активности этих клеток, вы-

деленных из образцов венозной крови и из гомогената АСБ. Оказалось, что у пациентов с АС НФ периферической крови способны к активному фагоцитозу: фагоцитарный индекс составлял 65,5 (47,0÷80,0)%, фагоцитарное число – 2,8 (1,9÷3,3) абс. ед., что находится в пределах нормы. Фагоцитарная активность НФ, входящих в составе АСБ, в нашем эксперименте была статистически значимо ( $p_1=0,000$ ;  $p_2=0,000$ ) снижена: фагоцитарный индекс составил 33,0 (22,0÷48,0)%, фагоцитарное число – 1,3 (1,1÷1,8) абс. ед. Это, скорее всего, свидетельствует, об истощении функциональной способности НФ в составе АСБ в результате хронического воспалительного процесса, происходящего в интима сосудов при АС. Наличие в составе АСБ НФ со сниженной функциональной активностью, возможно, свидетельствует о повышении нестабильности и риска разрыва АСБ, что может привести к тромбоэмболическим осложнениям АС. Факты, указывающие на ключевую роль НФ в формировании осложнений развития АС, а именно в дестабилизации АСБ и формировании тромбов в настоящее время описаны [5].

Результаты получены в рамках выполнения гос. задания Минобрнауки России (задание № 17.9545.2017/БЧ).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Weber C, Zerneck A, Libby P.* The multifaceted contributions of leukocyte subsets to atherosclerosis: lessons from mouse models. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8, 802–815.
2. *Xue-Mei L, Jie Ch, Dai Xuan, Xiao-Xing L, Chun-Lin H, Yu-Jie L.* Changes in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Tregs in the pathogenesis of atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242(9), 918–925.
3. *Sivalingam Z., Larsen S. B., Grove E. L., Hvas A. M., Kristensen S. D., Magnusson N. E.* Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a risk marker in cardiovascular disease (Review). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2017, 56(1), 5–18.
4. *Pertiwi K.R., van der Wal A.C., Pabittei D.R., Mackaaij C., van Leeuwen M.B., Li X, de Boer O. J.* Neutrophil extracellular traps participate in all different types of thrombotic and haemorrhagic complications of coronary atherosclerosis. *Thrombosis and Haemostasis*, 2018, 118(6), 1078–87.
5. *Hoyer F.F., Nahrendorf M.* Neutrophil contributions to ischaemic heart disease. *Eur Heart J*, 2017, 3, 465–472.

## ANALYSIS OF PHAGOCYTOTIC ACTIVITY OF NEUTROPHILS DURING ATHEROSCLEROSIS

© 2019 O. Yu. Kilina<sup>1\*</sup>, S. V. Dutova<sup>1</sup>, Yu. V. Saranchina<sup>1</sup>,  
T. A. Matrosova<sup>1</sup>, N. G. Pol'shcha<sup>1</sup>, T. S. Kulakova<sup>1</sup>,  
N. V. Chanarin<sup>1</sup>, P. I. Shandakov<sup>2</sup>

\*E-mail: kilina\_oy@khsu.ru

<sup>1</sup>Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

<sup>2</sup>Republican clinical hospital named after G. YA. Remishevskaya, Abakan, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 27.03.2019

The article presents the results of a comparative analysis of phagocytic activity of neutrophils, isolated from explants of atherosclerotic plaques obtained during endarterectomy in patients with atherosclerosis of the brachiocephalic and femoral arteries and peripheral blood neutrophils of the same patients. Phagocytic activity of neutrophils in atherosclerotic plaques was found to be statistically significantly reduced. We assume that the depletion of the functional ability of neutrophils in the composition of atherosclerotic plaques is associated with chronic inflammation in the intima of vessels in atherosclerosis.

*Key words:* atherosclerosis, atherosclerotic plaque, neutrophils, phagocytosis, phagocytic activity

### Authors:

**Kilina O. Yu.**, ✉ doctor of medical Sciences, Director of Medical-psychological-social Institute, Professor of the Department of internal diseases of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia. **E-mail:** kilina\_oy@khsu.ru;

**Dutova S. V.**, doctor of science, associate Professor, acting head of the Department of fundamental medicine and hygiene of Medical, psychological and social Institute of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Saranchina Yu. V.**, PhD, associate Professor of the Department of fundamental medicine and hygiene, Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Matrosova T. A.**, student of Medical-psychological-social Institute, of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Pol'shcha N. G.**, PhD, associate Professor in the Department of internal diseases of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Kulakova T. S.**, post-graduate student of the Department of General professional disciplines of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Chanarin N. V.**, PhD, associate Professor of the Department of General professional disciplines of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Shandakov P. I.**, PhD, head of the Department of vascular surgery of Republican clinical hospital named after G. Y. Remishevskaya, Abakan, Russia.

## РЕЦЕПТОРЫ К ФАКТОРУ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ АКТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЁГКИХ

© 2019 г. Ф. Д. Киреев<sup>1</sup>, А. А. Альшевская<sup>1</sup>, Ж. А. Лаушкина<sup>2</sup>,  
С. В. Сенников<sup>1,3\*</sup>

\*E-mail: sennikov\_sv@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава России, Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 29.03.2019

Фактор некроза опухоли (TNF) является важнейшим цитокином, участвующим в иммунном ответе против *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). TNF может реализовывать свои биологические эффекты при условии экспрессии на поверхности клеток достаточного количества специфических рецепторов – мембранных рецепторов первого и второго типов (TNFR1 и TNFR2). Целью данного исследования стало изучение изменений в экспрессии TNFR1 и TNFR2 при активном туберкулёзе лёгких (АТБЛ) в сравнении с показателями здоровых доноров. Уровни экспрессии TNFR1/2 на мононуклеарных клетках периферической крови (МНК ПК) были оценены методом проточной цитометрии. Уровни TNF и его растворимых рецепторов 1 и 2 типов (sTNFR1 и sTNFR2) оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА). Экспрессия TNFR1 на МНК ПК у больных АТБЛ повышена в сравнении с показателями здоровых доноров. Уровень sTNFR1 у больных АТБЛ ниже в сравнении со здоровыми индивидами. Полученные данные свидетельствуют о важной роли рецепторов TNF в иммунопатогенезе активного туберкулёза лёгких.

**Ключевые слова:** фактор некроза опухоли, рецепторы, туберкулёз лёгких

DOI: 10.31857/S102872210006608-3

Адрес: 630099 Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория молекулярной иммунологии, Сенников Сергей Витальевич.  
Тел./факс: +7(383)2221910, 89612179821 (моб.).

E-mail: sennikov\_sv@mail.ru

### Авторы:

**Киреев Ф. Д.**, м. н. с. лаборатории молекулярной иммунологии НИИФКИ, Новосибирск, Россия;

**Альшевская А. А.**, научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии НИИФКИ, Новосибирск, Россия;

**Лаушкина Ж. А.**, врач-фтизиатр 1-го туберкулёзного лёгочного отделения ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт туберкулеза», Новосибирск, Россия;

**Сенников С. В.**, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии НИИФКИ, Новосибирск, Россия; старший преподаватель кафедры клинической биохимии Института медицины и психологии им. В. Зельмана НГУ, Новосибирск, Россия.

Туберкулёз – одно из самых распространённых инфекционных заболеваний. Провоспали-

тельный цитокин фактор некроза опухоли играет ключевую роль в иммунном ответе против *M. tuberculosis*, во время которого он выполняет ряд важных функций: стимулирует хемотаксис Т-лимфоцитов и моноцитов, активацию фагоцитов, макрофагальный апоптоз, созревание дендритных клеток с последующей активацией Т-клеток и секрецией интерферона гамма и образование гранулёмы. Основная роль TNF при данной нозологии – обеспечить ее латентное течение. Однако фактор некроза опухоли может участвовать во многих негативных проявлениях туберкулёза, а также напрямую опосредовать размножение *M. tuberculosis* в моноцитах человека [1]. Свои биологические эффекты TNF может реализовывать при условии экспрессии на поверхности клеток достаточного количества специфических рецепторов: TNFR1 и TNFR2. Рецепторы TNF имеют как сходства,

так и различия по опосредуемым биологическим функциям. TNFR1 участвует в защите от микобактериальной инфекции путём индукции провоспалительных и проапоптотических механизмов [1], в то время как TNFR2 в основном выполняет функцию нейтрализации TNF [2]. Эффективность передачи сигнала TNF через данные рецепторы зависит как от процента экспрессирующих их клеток, так и от числа TNFR1 и TNFR2 на клетках [3].

**Целью** данного исследования стало изучение изменений в распределении и экспрессии TNFR1 и TNFR2 при активном туберкулёзе лёгких в сравнении с показателями здоровых доноров.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись МНК и сыворотка периферической крови 45 больных АТБЛ и 105 здоровых индивидов.

МНК ПК выделяли путём центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографи-на ( $\rho=1,077$  г/л). Оценка экспрессии TNFR1 и TNFR2 на моноклеарных клетках проводилась методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентно меченных моноклональных антител: анти-CD3 APC, анти-CD14 FITC и анти-CD19 PE-Cy7, а также anti-hTNFR1-PE и anti-hTNFR2-PE. Для определения абсолютного количества рецепторов на клетках использовался набор BD QuantiBRITE PE.

Уровень TNF и sTNFR1 и 2 определяли в сыворотке крови методом ИФА с использованием соответствующих наборов: Альфа-ФНО-ИФА-Бест, Human sTNF RI ELISA Kit и Human sTNF RII ELISA Kit.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Было показано, что и у больных АТБЛ, и у здоровых доноров есть популяция с наибольшим процентом TNFR1-позитивных клеток – моноциты, и популяция с наименьшим процентом TNFR2-позитивных клеток (В-лимфоциты). Кроме того, для больных АТБЛ были характерны значимо более высокие проценты TNFR1<sup>+</sup> В-лимфоцитов и Т-лимфоцитов при более низком проценте TNFR2<sup>+</sup> В-лимфоцитов.

Установлено, что Т-лимфоциты как пациентов с АТБЛ, так и здоровых индивидов экспрес-

сируют наименьшее число рецепторов обоих типов среди исследуемых субпопуляций. Показано, что моноциты больных АТБЛ экспрессируют значимо большее количество рецепторов как 1, так и 2 типа в сравнении со здоровыми индивидами.

Уровень растворимых рецепторов TNF обоих типов у пациентов с АТБЛ оказался ниже в сравнении со здоровыми донорами. Так же у пациентов с распространённым инфекционным поражением лёгких были обнаружены наиболее высокие уровни sTNFR1 среди больных.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют, что при АТБЛ происходят изменения в системе регуляции мембранных и растворимых рецепторов TNF. При этом наблюдаются изменения не только по проценту клеток, экспрессирующих рецепторы, но и по количеству рецепторов на клетках. Повышение экспрессии TNFR1 характерно для всех исследуемых в нашей работе популяций МНК – по проценту позитивных клеток (В-лимфоциты), по количеству рецепторов на клетках (моноциты) или по обоим характеристикам (Т-лимфоциты). По экспрессии TNFR2 значимые отличия были получены только по проценту TNFR2<sup>+</sup> В-клеток, который был ниже у больных АТБЛ, и по количеству рецепторов на моноцитах, которое у больных оказалось ниже в сравнении со здоровыми индивидами.

Полученные данные свидетельствуют о важной роли рецепторов TNF в иммунопатогенезе активного туберкулёза лёгких.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mootoo A., Stylianou E., Arias M. A., Reljic R. TNF-alpha in tuberculosis: A cytokine with a split personality? *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2009, 8(1), 53–62.
2. Keeton R., Allie N., Dambuza I., Abel B., Hsu N. J., Sebesho B., Randall P., Burger P., Fick E., Quesniaux V. F., Ryffel B., Jacobs M. Soluble TNFRp75 regulates host protective immunity against Mycobacterium tuberculosis. *J Clin Invest*. 2014, 124(4), 1537–1551.
3. Sennikov S. V., Alshevskaya A. A., Zhukova J., Belomestnova I., Karaulov A. V., Lopatnikova J. A. Expression density of receptors as a potent regulator of cell function and property in health and pathology. *Int Arch Allergy Immunol*. 2019, 178(2), 182–191.

## TUMOR NECROSIS FACTOR RECEPTORS IN PATIENTS WITH ACTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

© 2019 F. D. Kireev<sup>1</sup>, A. A. Alshevskaya<sup>1</sup>, Z. A. Laushkina<sup>2</sup>,  
S. V. Sennikov<sup>1,3\*</sup>

\*E-mail: sennikov\_sv@mail.ru

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Institution «Novosibirsk Research Institute of Tuberculosis, Ministry of Health of Russian Federation», Novosibirsk, Russia;

<sup>3</sup>Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 29.03.2019

Tumor necrosis factor (TNF) is a key cytokine in the immune response against *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). TNF can exhibit its biological effects in the presence of a sufficient number of specific receptors on cells—types 1 and 2 membrane receptors (TNFR1 and TNFR2). The objective of this research was to study the differences in TNFR expression in patients with active pulmonary tuberculosis (aPTB) in comparison with the parameters of healthy individuals. Expression levels of TNFR1/2 on peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were analysed by flow cytometry. TNF and its types 1 and 2 soluble receptors (sTNFR1 and sTNFR2) levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). TNFR1 expression on PBMCs in aPTB patients was increased compared to healthy donors. sTNFR levels were lower in pulmonary tuberculosis patients. Data received suggest that TNF receptors play an important role in the immunopathogenesis of active pulmonary tuberculosis.

*Key words:* tumor necrosis factor, receptors, pulmonary tuberculosis

### Authors:

**Kireev F. D.**, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

**Alshevskaya A. A.**, MD, Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

**Laushkina Z. A.**, MD, Doctor, 1st Tuberculosis Pulmonary Department, Federal State Budgetary Institution «Novosibirsk Research Institute of Tuberculosis, Ministry of Health of Russian Federation», Novosibirsk, Russia;

**Sennikov S. V.**, ✉ MD, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia; Senior Lecturer, Department of Clinical Biochemistry of the V. Zelman Institute of Medicine and Psychology, NSU, Novosibirsk, Russia.

**E-mail:** sennikov\_sv@mail.ru

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

© 2019 г. С. В. Кныш<sup>1</sup>, В. А. Малков<sup>1</sup>, А. В. Ширяева<sup>1</sup>,  
Е. В. Байбарина<sup>2</sup>

*E-mail: immunolog.vl@gmail.com*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>ООО «Центр врачебной косметологии», Воронеж, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 12.03.2019

Хроническая герпетическая инфекция – один из наиболее распространенных факторов иммуносупрессии среди всей популяции. Отсутствие вакцины, а также единого мнения на проблему реактивации инфекции, подчеркивает важность изучения состояния иммунной системы в различные стадии заболевания. Т-клеточное звено в настоящее время является одним из наиболее перспективных участников иммунного ответа против герпесвирусной инфекции. Нами была проведена оценка состояния Т-лимфоцитов и их субпопуляций Т-лимфоцитов у пациентов с обострением хронической герпетической инфекции. Было установлено достоверное превышение референсных значений процентного содержания Treg и более чем двукратное повышение индекса Th1/Th2.

**Ключевые слова:** герпес, цитокины, лимфоциты, цитометрия

DOI: 10.31857/S102872210006609-4

**Адрес:** 690002, Российская Федерация, Дальневосточный федеральный округ, Приморский край, г. Владивосток, проспект Острякова, дом 2. Телефон: 8 (423) 245-07-00

**E-mail:** immunolog.vl@gmail.com, patphis-vl@mail.ru

**Авторы:**

**Кныш С.В.**, ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Малков В.А.**, ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Ширяева А.В.**, студентка лечебного факультета ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Байбарина Е.В.**, врач дерматовенеролог, директор ООО «Центр врачебной косметологии», Воронеж, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Актуальность проблемы хронической герпетической инфекции не поддается сомнению. Отсутствие, не смотря на более чем семидесятилетние опыты по созданию, эффективной профилактической или терапевтической вакцины, привело к практически повсеместному распространению альфагерпесвирусов среди попу-

ляции. Способность вирусов простого герпеса (HSV) и ветряной оспы (VZV) к латенции в организме человека с последующей реактивацией и развитием клинических проявлений является серьезной проблемой для современной иммунологии, по решению которой, в настоящее время не пришли к единому мнению. Достаточно много исследований позволяют судить о снижении эффективности иммунного ответа при реактивации вируса. С повышением доступности точной цитофлюориметрии для рутинной врачебной практики стало возможно проведение более точных и специфичных исследований для оценки иммунного статуса пациентов, вплоть до оценки содержания отдельных субпопуляций лимфоцитарного звена, – одного из перспективных направлений в процессе создания Т-клеточной вакцины против HSV. Учитывая частичную кросс-реактивность эпитопов Т-клеток между альфагерпесвирусами, можно предполагать и определенную корреляцию между клиническими проявлениями герпетической инфекции разной этиологии у одного индивида [1].

**Целью** данного исследования явилось определение и оценка содержания Т-лимфоцитов

и их субпопуляций у пациентов с герпетической инфекцией.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 30 пациентов поликлинического отделения Краевой клинической больницы № 2 г. Владивостока, находящихся на лечении с обострением хронической герпетической инфекции, частыми обострениями (более 6 раз в год) и слабым ответом на этиотропную терапию в анамнезе. Возраст больных составил от 40 до 70 лет ( $47 \pm 5,0$ ). У всех пациентов диагноз был установлен на основании жалоб, данных анамнеза, характерной клинической картины. Забор крови осуществлялся в первые 72 часа после появления характерных жалоб и обращения в медицинское учреждение. Пациенты получали симптоматическую и противовирусную терапию, согласно степени тяжести заболевания. Группу контроля составили 30 здоровых добровольцев.

Определение субпопуляций Т-лимфоцитов Th1 и Th2 в цельной венозной крови выполняли на проточном цитофлюориметре Beckman Coulter FC500, с использованием реактивов фирм: Beckman Coulter, Invitrogen. Дифференцировка клеток происходила путем оценки продукции внутриклеточных цитокинов (IFN- $\gamma$ , IL-4), при использовании предварительной инкубации с коктейлем для стимуляции (Форбол-12-мири-стат-13-ацетат совместно с иономицином), с последующим ингибированием внутриклеточного транспорта и пермеабиллизацией клеток. Статистическая обработка проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics v.16. Внутри и межгрупповые различия оценивали с помощью критерия Манна-Уитни в рамках прикладной программы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Абсолютные и относительные значения большинства исследованных клеточных элементов находятся в рамках референсных значений, как в группе пациентов с герпетической инфекцией, так и в группе контроля. Установлено достоверное повышение относительных значений Treg, а также индекса Th1/Th2 у пациентов основной группы в сравнении как с референсными значениями, так и с группой контроля.

Достоверно известно о широком спектре иммуносупрессорной активности Treg клеток. Она физиологически обусловлена в ситуации, когда целесообразно подавление провоспалительной активности Th и CTL с целью ограничения ли-

тической активности последних и уменьшения очага поражения. Однако, в случае хронической вирусной инфекции, повышенное содержание Treg позволяет судить о предполагаемой недостаточности иммуновоспалительного ответа, который способствует дальнейшей хронизации процесса и возвратному течению инфекции. Исходя из данных полученных R. Takashi et al. (2014), подавление повышенной активности Treg позволяет увеличить уровень CTL и Th1 клеток, продуцирующих интерферон-гамма (IFN- $\gamma$ ) у пациентов с острой герпетической экземой, что в свою очередь положительно влияет на прогноз заболевания. Иммуносупрессивная активность Treg может происходить так же и на локальном уровне, что в ряде случаев способствует реактивации HSV или VZV инфекции [4].

Учитывая отсутствие достоверных различий между уровнями IFN- $\gamma$  в группе пациентов и у здоровых добровольцев и ярко выраженный дисбаланс между субпопуляциями Th в сторону преобладания Th1 лимфоцитов, ответственных за продукцию IFN- $\gamma$ , можно предполагать комплексное влияние как самого вируса, обладающего широким спектром возможностей к ускользанию от иммунной системы человека [1], так и реакции иммунной системы на длительный инфекционный процесс, приводящий к функциональному истощению Т-клеток – основных продуцентов IFN- $\gamma$ . Однако, существуют различные мнения на вопрос о том, какие клетки более подвержены истощению при хронической вирусной инфекции. Повышенная экспрессия белка PD-L1 и его рецептора PD-1 наблюдается во многих клетках, в т.ч. и в основных популяциях Т-лимфоцитов, что обуславливает снижение эффекторной активности CTL и CD8<sup>+</sup> Т-клеток памяти. В то же время одним из основных факторов промоции экспрессии PD-L1 является IFN- $\gamma$ , что приводит к снижению его синтеза по принципу обратной петли. Данный процесс истощения затрагивает и Th субпопуляции, однако, по мнению ряда авторов, данный процесс более выражен в CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитах [3, 5].

Безусловная сложность межвидового взаимодействия вирусов герпеса и человеческого организма обуславливает многогранность изменений в состоянии элементов иммунной системы. Хронический иммуновоспалительный процесс обуславливает истощение функциональной активности Т-лимфоцитов, что влияет как на врожденный, так и на адаптивный иммунный ответ. Механизмы, призванные снижать литическую активность и способствовать защите орга-

низма в острый период заболевания, показываю-  
ют противоречивые результаты при хронизации  
процесса. Смещение баланса между Th1 и Th2  
лимфоцитами в сторону первых позволяет судить  
о большем участии клеточного звена иммуните-  
та в патогенезе HSV инфекции, однако требует  
более глубокого анализа. Исходя из полученных  
данных, мы можем утверждать, что оценка со-  
стояния Т-клеточного звена является обосно-  
ванной при ведении пациентов с хронической  
герпетической инфекцией и ее последствиями  
и позволяет продуктивно проводить лечение за-  
болевания. С позиции фундаментальной науки  
это может способствовать в определении фак-  
торов, предрасполагающих к развитию серьез-  
ных осложнений герпетической инфекции, что  
особенно важно для VZV инфекции, ответствен-  
ной за развитие опоясывающего герпеса и широ-  
кого спектра неврологических осложнений.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Маркелова Е. В., Кныш С. В., Невежкина Т. А., Бай-  
барина Е. В. Альфа-герпесвирусы: современный  
взгляд на структуру. Тихоокеанский медицинский  
журнал, 2018; № 4, 5–9. [Markelova E. V., Knysh S. V.,  
Nevezhkina T. A., Baibarina E. V. Alphaherpesviruses:  
The modern look at the viral structure. Pacific Medical  
Journal. 2018, 4, 5–9.]
2. Jing L., Laing K. J., Dong L., Russell R. M., Barlow R. S.,  
Haas J. G., Ramchandani M. S., Johnston C., Buus S.,  
Redwood A. J., White K. D., Mallal S. A., Phillips E. J.,  
Posavad C. M., Wald A., Koelle D. M. Extensive CD4 and  
CD8 T Cell Cross-Reactivity between Alphaherpesvi-  
ruses. Journal of immunology. 2016, 196(5), 2205–2218.
3. Penaloza-MacMaster P., Kamphorst A. O., Wieland A.,  
Araki K., Iyer S. S., West E. E., O'Mara L., Yang S.,  
Konieczny B. T., Sharpe A. H., Freeman G. J., Ruden-  
sky A. Y., Ahmed R. Interplay between regulatory T cells  
and PD-1 in modulating T cell exhaustion and viral  
control during chronic LCMV infection. The Journal  
of experimental medicine. 2014, 211(9), 1905–18.
4. Takahashi R., Sato Y., Kurata M., Yamazaki Y., Ki-  
mishima M., Shiohara T. Pathological Role of Regula-  
tory T Cells in the Initiation and Maintenance of Ecze-  
ma Herpeticum Lesions. The Journal of Immunology.  
2014, 192 (3), 969–978.
5. Vukmanovic-Stejic M., Sandhu D., Seidel J. A., Patel N.,  
Sobande T. O., Agius E., Jackson S. E., Fuentes-Ducul-  
lan J., Suárez-Fariñas M., Mabbott N. A., Lacy K. E.,  
Ogg G., Nestle F. O., Krueger J. G., Rustin M., Akbar A. N.  
The Characterization of Varicella Zoster Virus-Specific  
T Cells in Skin and Blood during Aging. The Journal of  
investigative dermatology. 2015, 135(7), 1752–1762.

### FEATURES OF T-LYMPHOCYTES SUBPOPULATIONS IN CHRONIC HERPETIC INFECTION

© 2019 S. V. Knysh<sup>1</sup>, V. A. Malkov<sup>1</sup>, A. V. Shiraeva<sup>1</sup>,  
E. V. Baibarina<sup>2</sup>

E-mail: immunolog.vl@gmail.com

<sup>1</sup>Federal State Budget Educational Institution of Higher Education  
«Pacific state medical university» Ministry of Health Russia, Vladivostok, Russia;

<sup>2</sup>«Center Vrachebnoi Cosmetologii», Voronezh, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 12.03.2019

The one of the most significant factor of immunosuppression is chronic herpetic infection. The absence of vaccine and unclear knowledge about reactivation's pathogenesis also emphasize the importance of additional immune response study. We research the level of T-cell subpopulations during chronic herpetic infection. Treg percentage in main group was exceed one's level in healthy control group. Also the significant increasing of Th1\Th2 index was examined.

*Key words:* herpes, cytokines, lymphocytes, cytometry

#### Authors:

**Knysh S. V.**, assistant professor of normal and pathological physiology department, FSBEI HE PSMU MOH Russia, Vladivostok, Russia;

**Malkov V. A.**, assistant professor of normal and pathological physiology department, FSBEI HE PSMU MOH Russia, Vladivostok, Russia;

**Shiraeva A. V.**, student of medical faculty, FSBEI HE PSMU MOH Russia, Vladivostok, Russia;

**Baibarina E. V.**, dermatologist, company director «Center Vrachebnoi Cosmetologii», Voronezh, Russia

## МОНО- И КОМБИНИРОВАННАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ ИММУНОКОМПРОМЕТИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ С ВОЗВРАТНЫМИ КО-ИНФЕКЦИЯМИ

© 2019 г. С. В. Ковалева<sup>1\*</sup>, Г. А. Чудилова<sup>1</sup>, Л. В. Ломтатидзе<sup>1</sup>,  
И. В. Нестерова<sup>1,2</sup>

\*E-mail: 3483335@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения РФ, Краснодар, Россия;

<sup>2</sup>ФГАБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства  
образования и науки России, Москва, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 27.03.2019

В последние годы отмечается рост ко-инфекций с разнообразными вариантами микробных ассоциаций, что не позволяет достигать позитивной эффективности стандартных лечебно-профилактических мероприятий, способствует увеличению длительности и тяжести острых инфекционных процессов, хронизации болезней, в первую очередь респираторного тракта. Предложенные программы моно- и комбинированной иммунотерапии для иммунокомпрометированных детей с возвратными ко-инфекциями демонстрируют высокую клинико-иммунологическую эффективность.

**Ключевые слова:** иммунокомпрометированные дети, иммунотерапия, интерферонотерапия, ко-инфекция

DOI: 10.31857/S102872210006610-6

Адрес: 350911 Краснодар, ул. Ярославского, д. 99–12, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», ЦНИЛ, Ковалева Светлана Валентиновна.

Тел.: 8 (918) 989 11 76 (моб.).

E-mail: 3483335@mail.ru

Авторы:

**Ковалева С. В.**, к. м. н., доцент, с. н. с. ЦНИЛ, ФГБОУ ВО «КубГМУ» Минздрава России, Краснодар, Россия;

**Чудилова Г. А.**, к. б. н., доцент, зав. отделом ЦНИЛ, ФГБОУ ВО «КубГМУ» Минздрава России, Краснодар, Россия;

**Ломтатидзе Л. В.**, к. б. н., с. н. с. ЦНИЛ, ФГБОУ ВО «КубГМУ» Минздрава России, Краснодар, Россия;

**Нестерова И. В.**, д. м. н., профессор, профессор кафедры аллергологии и иммунологии, Российский университет дружбы народов, Москва, Россия; г. н. с. ЦНИЛ, ФГБОУ ВО «КубГМУ», Краснодар, Россия.

Проблема коинфицирования признается одной из наиболее актуальных [1–2]. Большинство людей с повторными острыми и рецидивирующими хроническими респираторными инфекциями являются носителями ко-инфекций, что в значительной мере изменяет клиническую картину свойственную каждой инфекции в отдельности и приводит к их более тяжелому течению, дополнительной нагрузке на иммунную

систему (ИС) с формированием или прогрессирующим иммунодефицитом [3]. При этом разнообразие вариантов существующих ко-инфекционных заболеваний не позволяет достигать позитивной эффективности стандартных методов лечения [2].

**Цель исследования:** разработать эффективные программы моно- и комбинированной иммунотерапии для иммунокомпрометированных детей с возвратными ко-инфекциями.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 55 детей с возвратными вирусно-бактериальными респираторными инфекциями: 1 гр.: 1–5 лет (n=18); 2 гр.: 6–12 лет (n=17); 3 гр.: 5–8 лет (n=20) с возвратными ОРИ ассоциированными с хроническими герпесвирусными инфекциями – ГВИ (ВПГ/II, ВЭБ, ЦМВ, ВГЧVI). Контроль 45 условно-здоровых детей. Исследованы до и после лечения и вне острого периода заболеваний: Т-, В-лимфоциты, ЕКК; сывороточные IgA, IgM, IgG, ИФН $\alpha$ , ИФН $\gamma$ ; фагоцитарная, NADPH-

оксидазная активность нейтрофильных гранулоцитов (НГ). Для выявления бактериальной флоры, ГВИ использовались бактериологические посевы из носо- и ротоглотки, ПЦР и серодиагностика.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Необходимость верификации ведущей патологии является важным условием для достижения более высоких результатов терапевтической тактики в реабилитации детей с возвратными ОРИ. При формировании групп исследования из контингента детей с возвратными ОРИ выделены дети с клиническими критериями иммунокомпрометированности [3]. Все дети на протяжении 2 и более лет переносили 8–24 и более в год эпизодов ОРИ продолжительностью 8–15 и более дней. Течение ОРИ сопровождалось ранним присоединением острой бактериальной инфекции нижних отделов респираторного тракта и ЛОР-органов и/или обострением хронической ЛОР-патологии. Микробиологический пейзаж представлен монокультурами (60%) и ассоциациями типичной и атипичной бактериальной флоры (40%) с преобладанием *Str. β-haemolyticus* группы А и *S. aureus*. В 3 гр. выявлены различные варианты моно- и микст-ГВИ с репликацией ВЭБ, ЦМВ, ВГЧVI и у 40% детей имелась рецидивирующая ВПГ1/II – инфекция. Также подтверждены в большинстве случаев комбинированного характера повреждения ИС с преобладающими нарушениями в системе НГ (84,5–96%). В 100% случаев установлены дефекты ИФН: снижение ИФН $\alpha$  и/или ИФН $\gamma$  (1, 2 гр.), отсутствие адекватного ответа ИФН на вирусную нагрузку (3 гр.). Длительный анамнез возвратных ОРИ, снижение клиренса микроорганизмов привели к значительному сокращению периода клинического благополучия до 6–7 месяцев в год, резистентности к традиционной терапии или кратковременным позитивным клиническим эффектам эпизодических коротких курсов интерфероно- и иммунотерапии.

Нами разработаны программы оптимизации терапевтической тактики для иммунокомпрометированных детей с возвратными ко-инфекциями. В 1 и 2 гр. проводилась пролонгированная моноинтерферонотерапия рекомбинантным интерфероном  $\alpha 2b$  (реИФН $\alpha 2b$ ) в сочетании с антиоксидантными добавками (виферон): локальное интраназальное использование виферон-мази (геля) 2–3 раза в день на слизистые носовых ходов и системное ректальное введение

суппозиторий в возрастных дозах, начиная с базисного курса (10 дней) с переходом на подерживающие дозы – снижение дозы в 2 раза каждые 2 недели, то есть постепенный переход от средних до низких доз виферона в течение 2,5 месяцев. В 3 гр. проводилась пролонгированная интерферонотерапия в комбинации с иммунотерапией. Так, базисная интерферонотерапия включала локальное использование виферон-геля – смазывание носовых ходов и ротоглотки 5–7 раз в день и системную терапию вифероном ректально со снижением суточной дозы по схеме 1 млн. МЕ – 500 тыс. ЕД – 300 тыс. МЕ – 150 тыс. МЕ каждые 20 дней. Продолжительность курса 80 дней. С целью коррекции гуморального иммунитета и, учитывая частые обострения хронических заболеваний ЛОР-органов, использовались бактериальные лизаты – ИРС-19 по 2 дозы 2 раза в день 3 курса по 2 недели с интервалом в 2 недели.

Проведение моно- или комбинированной интерфероно- и иммунотерапии привело к сокращению частоты ОРИ в 5 раз в 1 гр. и 3 гр., в 3,7 раз во 2 гр., длительности острого периода в 1,2–1,4 раза с 10–14 и более дней до 5–6 дней. Продолжительность клинически благополучного периода возросла в 1,5–1,9 раз с 6–7 мес. до 11 мес. в год. Сокращение частоты обострений хронических заболеваний ЛОР-органов до 1–2 эпизодов в год через 3–6 мес. после лечения и неосложненное течение ОРИ позволило уменьшить курсы антибактериальной терапии с 8 до 1–2 в год. В 3 гр. наблюдалось снижение в 4 раза рецидивов ВПГ1/II-инфекции и вирусной нагрузки по другим ГВИ. Позитивные клинические эффекты сопряжены с модулирующим влиянием на ЕКК, Т-лимфоциты. ЕКК остались повышены в 3 гр. – ответ на сохраняющуюся репликацию герпесвирусов при снижении частоты ОРИ. Нормализация IgA, IgM, IgG сопровождается уменьшением частоты обострений хронических заболеваний ЛОР-органов, осложненных ОРИ (особенно в 3 гр.). Отмечалась нормализация поглотительной функции НГ во всех группах. Переваривающая активность в 1 гр. восстановилась, во 2 гр. выявлена её активация, в 3 гр. сохраняется некоторое снижение процессов киллинга. При этом выявлено усиление активности NADPH-оксидаз НГ. Установлено восстановление уровней ИФН $\alpha$  и ИФН $\gamma$  в 1 гр. Во 2 гр. с более глубокими дефектами ИФН произошло восстановление ИФН $\alpha$ , а коррекции ИФН $\gamma$  не наблюдалось. В 3 гр. выявлена тенденция к вос-

становлению и поддержанию ИФН $\alpha$  и ИФН $\gamma$  на уровне контроля при уменьшении вирусной нагрузки.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Программы моно- и комбинированной иммунотерапии для иммунокомпрометированных детей с возвратными ко-инфекциями показали высокую клиническую эффективность. Пролонгированная моноинтерферонотерапия привела к реставрации функционирования НГ и ИФН (преимущественно уровня ИФН $\alpha$ ), особенно у детей 1 гр. У детей 2 гр., имеющих большую частоту встречаемости обострений хронических заболеваний ЛОР-органов, полного восстановления ИФН не произошло и сохраняется снижение уровня ИФН $\gamma$ , что диктует необходимость проведения повторных курсов интерферонотерапии и/или дополнительной направленной иммунотерапии. При наличии возвратных ОРИ и ГВИ, хронических заболеваний ЛОР-органов (3 гр.), неадекватной работы НГ, ИФН и гуморального иммунитета использование пролонгированной интерферонотерапии адекватными

дозами и иммунотерапии с включением ИРС-19 демонстрирует весомые преимущества, связанные с эффективной коррекцией выявленных нарушений.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Griffiths E. C., Pedersen A. B., Fenton A., Petchey O. L. The nature and consequences of coinfection in humans. *J Infect.* 2011, 63 (3), 200–206.
2. Балмасова И. П., Малова Е. С., Сепиашвили Р. И. Вирусно-бактериальные коинфекции как глобальная проблема современной медицины. Вестник РУДН. Серия: Медицина. 2018, 22 (1), 29–42. [Balmasova I. P., Malova E. S., Sepiashvili R. I. Virus-bacterial co-infections as a global problem of modern medicine. *Bulletin of RUDN University. Series: Medicine.* 2018, 22 (1), 29–42].
3. Нестерова И. В. Вторичные иммунодефициты и методы их коррекции в практике врача-оториноларинголога. «Иммунотерапия в практике ЛОР-врача и терапевта», под редакцией А. С. Симбирцева, Г. В. Лавриновой. Спб.: Диалог, 2018, 32–97. [Nesterova I. V. Secondary immunodeficiencies and methods for their correction in the practice of the otorhinolaryngologist. "Immunotherapy in the practice of ENT doctor and therapist", edited by A. S. Simbirtsev, G. V. Lavrinova. St. Petersburg.: Dialogue, 2018, 32–97].

## MONO- AND COMBINED IMMUNOTHERAPY IMMUNOCOMPROMISED CHILDREN WITH RETURN CO-INFECTIONS

© 2019 S. V. Kovaleva<sup>1\*</sup>, G. A. Chudilova<sup>1</sup>, L. V. Lomtadze<sup>1</sup>, I. V. Nesterova<sup>1,2</sup>

\*E-mail: 3483335@mail.ru

<sup>1</sup>Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia;

<sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 27.03.2019

In recent years, there has been an increase in co-infections with a variety of microbial associations, which makes it impossible to achieve positive effectiveness of standard therapeutic and preventive measures, increases the duration and severity of acute infectious processes, and chronic diseases, primarily the respiratory tract. The proposed programs of mono- and combination immunotherapy for immunocompromised children with recurrent co-infections demonstrate high clinical and immunological efficacy.

*Key words:* immunocompromised children, immunotherapy, co-infection

#### Authors:

**Kovaleva S. V.**, ✉ Ph.D. (Medical Science), Senior Researcher, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia. E-mail: 3483335@mail.ru;

**Chudilova G. A.**, PhD (Biological Sciences), Head of Department, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia;

**Lomtadze L. V.**, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher, Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia;

**Nesterova I. V.**, MD, Professor, Department of Allergology and Immunology, Peoples' Friendship University, Moscow, Russia; Chief Researcher of Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.

## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО БРОНХОЛЕГОЧНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

© 2019 г. Я. И. Козлова\*, Е. В. Фролова, А. Е. Учеваткина,  
Л. В. Филиппова, Н. В. Васильева, Н. Н. Климко

\*E-mail: kozlova510@mail.ru

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет  
имени И. И. Мечникова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 13.03.2019

Аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА) – тяжелое заболевание легких, обусловленное гиперчувствительностью к *Aspergillus spp.* Поиск новых диагностических маркеров необходим для своевременного выявления заболевания у больных из групп риска и определения эффективной терапевтической тактики. Обследовали 21 больного АБЛА, 37 больных бронхиальной астмой и 16 условно здоровых лиц. Содержание тимического стромального лимфопоэтина (TSLP), тимус-ассоциированного регуляторного хемокина (TARC), IL-8, количество эозинофилов, уровни общего IgE и специфических IgE к *Aspergillus fumigatus* определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом. Положительная корреляционная связь уровня TARC с показателями общего IgE, sIgE к *Aspergillus fumigatus*, числом эозинофилов и отрицательное корреляционное взаимоотношение со значениями ОФВ1 подтверждает важное диагностическое значение данного провоспалительного хемокина у больных АБЛА.

**Ключевые слова:** *Aspergillus spp.*, *Aspergillus fumigatus*, аллергический бронхолегочный аспергиллез, бронхиальная астма, TARC

DOI: 10.31857/S102872210006611-7

**Адрес:** 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба 1/28. Кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии СЗГМУ им. И. И. Мечникова.  
Тел./факс: (812) 303-50-00, доб. 4158., 8921 753 04 79 (моб.)  
**E-mail:** kozlova510@mail.ru

### Авторы:

**Козлова Я. И.**, к.м.н., доцент кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия;

**Фролова Е. В.**, к.м.н., заведующая НИЛ иммунологии и аллергологии НИИ медицинской микологии им. П. Н. Кашкина, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия;

**Учеваткина А. Е.**, к.м.н., старший научный сотрудник НИЛ иммунологии и аллергологии НИИ медицинской микологии им. П. Н. Кашкина, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия;

**Филиппова Л. В.**, к.м.н., старший научный сотрудник НИЛ иммунологии и аллергологии НИИ медицинской микологии им. П. Н. Кашкина, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия;

**Васильева Н. В.**, д.б.н., директор НИИ медицинской микологии им. П. Н. Кашкина, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

**Климко Н. Н.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия.

Поиск новых диагностических биомаркеров необходим для своевременного выявления АБЛА у больных из групп риска и определения эффективной терапевтической тактики [1, 2].

**Цель работы:** изучение роли иммунологических медиаторов в развитии аллергического бронхолегочного аспергиллеза у больных бронхиальной астмой.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Провели проспективное исследование 58 больных (медиана возраста – 45 лет, мужчин – 13, женщин – 45) тяжелой бронхиальной астмой (БА).

Контрольную группу составили 16 условно здоровых людей, без аллергических заболеваний в анамнезе (медиана возраста – 24 года, мужчин – 4, женщин – 12). Аллергологическое обследование включало определение уровня общего IgE («Полигност», Россия) и специфических IgE (sIgE) к грибковым аллергенам («АлкорБио», Россия). Определение концентрации TARC («R&D Systems, США»), TSLP («R&D Systems, США»), IL-8 («Вектор-Бест», Россия) в сыворотке крови осуществляли методом ИФА. Всем больным выполняли функцию внешнего дыхания, использовали опросник АСТ (Asthma Control Test). Диагноз АБЛА устанавливали на основании критериев R. Agarwal et al., 2013 г. [3]. Полученные данные обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA 10.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследования последних лет установили связь грибковой сенсибилизации с тяжелым течением БА [3]. У больных АБЛА выявлен достоверно более низкий балл при заполнении анкеты АСТ и худшие показатели функции внешнего дыхания ФЖЕЛ, ОФВ1 и индекса Тиффно по сравнению с показателями больных БА. Анализ содержания TSLP в сыворотке крови не установил статически значимых различий как между больными АБЛА 13,0 (9,70÷24,70) и БА 19,0 (15,0÷29,0), так и данными контрольной группы 10,5 (9,0÷25,0) пг/мл. Выявлено, что уровень IL-8 у больных АБЛА 35,0 (23,0÷49,0) достоверно выше, чем у пациентов с БА 22,0 (14,4÷28,0;  $p=0,002$ ) и у практически здоровых лиц (12,0 (4,5÷15,5);  $p=0,000$ ) пг/мл. Повышение концентрации TARC обнаружено у больных АБЛА 733,5 (599,0÷909,0) по сравнению с группой БА 336,1 (208,0÷571,3;  $p=0,000$ ) и контролем 224,5 (184,0÷265,0;  $p=0,000$ ) пг/мл. Важное значение TARC в развитии аллергического воспаления у больных с микогенной

сенсибилизацией подтверждено положительной корреляционной связью содержания провоспалительного хемокина с уровнями общего IgE ( $r = 0,35$ ,  $p < 0,05$ ), sIgE к *A.fumigatus* ( $r = 0,39$ ,  $p < 0,05$ ), числом эозинофилов ( $r = 0,34$ ,  $p < 0,05$ ) и отрицательной корреляционной связью с показателями функции внешнего дыхания ОФВ1 ( $r = -0,44$ ;  $p < 0,05$ ). Высокое содержание TARC и ИЛ-8 предполагает смешанный эозинофильно-нейтрофильный вариант воспалительной реакции у больных АБЛА.

## ВЫВОД

Выявленное в ходе исследования повышение содержания TARC у больных АБЛА и его связь со степенью выраженности микогенной сенсибилизации и клиническими проявлениями заболевания позволяет рассматривать этот показатель в качестве биомаркера вероятности развития АБЛА у больных бронхиальной астмой, доказательно выделять ранние стадии заболевания и судить об эффективности проводимой терапии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Carsin A., Romain T., Ranque S., Reynaud-Gaubert M., Dubus J.-C., Mège J.-L., Vitte J. *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis: An update on immune interactions and molecular diagnostics in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Allergy*. 2017; 72(11), 1632–1642.
2. Goh K.J., Yui A.C.A., Lapperre T.S., Chan A.K., Chew F.T., Chotirmall S.H., Koh M.S. Sensitization to *Aspergillus* species is associated with frequent exacerbations in severe asthma. *J. Asthma Allergy*. 2017; 21(10), 131–140.
3. Agarwal R.A., Chakrabarti A., Shah D., Gupta D., Meis J.F., Guleria R., Moss R., Denning D.W. 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; 43, 850–873.

**DIAGNOSTIC VALUE OF IMMUNOLOGICAL MARKERS  
OF ALLERGIC BRONCHOPULMONARY ASPERGILOSIS  
IN PATIENTS WITH ASTHMA**

© 2019 Y. I. Kozlova\*, E. V. Frolova, A. E. Uchevatkina, L. V. Filippova,  
N. V. Vasileva, N. N. Klimko

\*E-mail: kozlova510@mail.ru

North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov,  
Saint-Petersburg, Russia

**Received:** 28.02.2019. **Accepted:** 13.03.2019

Allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) is a severe lung disease caused by hypersensitivity to *Aspergillus spp.* The search for new diagnostic markers is essential for early detection of the disease in patients at risk and identifying effective treatment strategies. 21 patients with ABPA, 37 patients with asthma and 16 healthy subjects were examined. The content of thymic stromal lymphopoietin (TSLP), thymus-associated regulatory chemokine (TARC), IL-8, eosinophil count, total IgE levels and specific IgE to *Aspergillus fumigatus* were determined in serum by ELISA. The positive correlation of the TARC level with the indicators of total IgE, sIgE to *Aspergillus fumigatus*, the number of eosinophils and the negative correlation relationship with the FEV1 value confirms the important diagnostic value of this pro-inflammatory chemokine in patients with ABPA.

*Key words:* *Aspergillus spp.*, *Aspergillus fumigatus*, allergic bronchopulmonary aspergillosis, asthma, TARC

**Authors:**

**Kozlova Y. I.**, ☒ PhD, Assistant - Professor of Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia. E-mail: kozlova510@mail.ru;

**Frolova E. V.**, PhD, Head of the Laboratory of Immunology and Allergology Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia;

**Uchevatkina A. E.**, PhD, Senior Researcher of Immunology and Allergology Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia;

**Filippova L. V.**, PhD, Senior Researcher of Immunology and Allergology Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia;

**Vasileva N. V.**, PhD, director of Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia;

**Klimko N. N.**, PhD, Head of Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia.

## ПОИСК ПРЕДИКТОРОВ ВЫНУЖДЕННОЙ ОТМЕНЫ ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА ВВИДУ РАЗВИТИЯ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ЯВЛЕНИЙ

© 2019 г. **Е. Н. Кольцова**<sup>1,2\*</sup>, **Г. В. Лукина**<sup>2,3</sup>, **Е. И. Шмидт**<sup>4</sup>,  
**Е. В. Жилиев**<sup>5,6</sup>

\*E-mail: [ОМО-rheumatology@mail.ru](mailto:ОМО-rheumatology@mail.ru)

<sup>1</sup>ГБУ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения  
и медицинского менеджмента» ДЗМ, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А. С. Логинова», ДЗМ, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБНУ «НИИ Ревматологии им. В. А. Насоновой» Москва, Россия;

<sup>4</sup>ГБУЗ «Городская клиническая больница 1 им. Н. И. Пирогова» Москва, Россия;

<sup>5</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального  
образования» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>6</sup>ЗАО «Юропиан медикал сентер» Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 02.04.2019

Цель данного исследования: определение предикторов отмены таргетных препаратов ввиду нежелательных явлений у пациентов с ревматоидным артритом. Материалы и методы: в исследование были включены пациенты с ревматоидным артритом, находящиеся в Московском Едином Регистре Артритов (МЕРА), получающих лечение генно-инженерными биологическими препаратами или тофацитинибом. Результаты: в анализ включено 1230 эпизодов лечения у 696 пациентов. Средний возраст составлял  $54,6 \pm 12,9$  лет. Среднее время наблюдения — 5,3 года. Всего 146 случаев прекращения терапии из-за нежелательных явлений. Наличие ревматоидных узелков, более высокие дозы глюкокортикоидов, более низкие дозы метотрексата были независимыми значимыми предикторами повышенного риска отмены таргетной терапии из-за развития нежелательных явлений. Используемый таргетный препарат также показал независимую значимую корреляцию с риском отмены. Выводы: использование существенных доз метотрексата, уменьшение использования ГКС можно считать мерой предотвращения развития нежелательных явлений при приеме таргетных препаратов.

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит, таргетная терапия, нежелательные явления, предикторы отмены

DOI: 10.31857/S102872210006612-8

**Адрес:** 115184 г. Москва, Большая Татарская улица д.30,  
ГБУ «НИИ организации здравоохранения и медицинского менеджмента» ДЗМ, Кольцова Екатерина Николаевна.  
Тел.: 89191074427 (моб.).

**E-mail:** [ОМО-rheumatology@mail.ru](mailto:ОМО-rheumatology@mail.ru)

**Авторы:**

**Кольцова Е. Н.**, зав. ОМО по ревматологии НИИ организации здравоохранения и медицинского менеджмента ДЗМ, Москва, Россия;

**Лукина Г. В.**, д-р. мед. наук, профессор ФГБНУ НИИ Ревматологии им. В. А. Насоновой, руководитель московского городского ревматологического центра ГБУЗ Московский клинический научный центр ДЗМ, Москва, Россия;

**Шмидт Е. И.**, канд. мед. наук, зав. ревматологическим отделением ГКБ 1 им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Жилиев Е. В.**, д-р. мед. наук, профессор кафедры ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», главный врач ЗАО «Юропиан медикал сентер», Москва, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для лечения ревматоидного артрита имеется большой арсенал таргетной терапии, однако, по мере увеличения возможностей лечения становится сложнее выбрать более подходящий вариант. Необходимо оценивать не только эффективность терапии, но и риски возникновения нежелательных явлений.

**Целью исследования** является определение предикторов отмены таргетных препаратов ввиду нежелательных явлений у пациентов с ревматоидным артритом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В анализ включены пациенты с ревматоидным артритом, наблюдающиеся в Московском Едином Регистре Артритов (МЕРА) и получающие лечение генно-инженерными биологическими препаратами или синтетическим таргетным препаратом (тофацитиниб). В 18,5% случаев использовался адалимумаб, в 17% случаев – этанерцепт, 16,5% – абатацепт, 12,5% – ритуксимаб, 12,3% – инфликсимаб, 11,3% – тоцилизумаб, 6,7% – тофацитиниб, 4,6% – цертолизумаба пэгол, 0,6% – голимумаб. Большая часть пациентов были женщины – 84,8%, средний возраст пациентов составил  $54,6 \pm 12,9$  лет, средняя длительность заболевания  $15,2 \pm 9,6$  лет, длительность лечения таргетными препаратами  $1365 \pm 1126$  дней. Серопозитивных по РФ 443 пациента (80%). Серопозитивные по АЦЦП 226 пациентов (47,1%). В анализ было включено 1230 эпизодов лечения у 696 пациентов. Отобрано 146 случаев прекращения приема ГИБП ввиду нежелательных реакций. Большую часть нежелательных явлений – инфекционные – 35 (24%), из них инфекции дыхательных путей – 17 (11,6%), инфекции мягких тканей (флегмоны, бурситы, перипротезные инфекции) – 8 (5,5%), обострение хронических инфекций (herpes simplex, herpes zoster, хронический вирусный гепатит С) – 6 (4,1%), туберкулез – 1 (0,7%), инфекции мочевых путей – 3 (2,1%). На втором месте – аллергические реакции (ангионевротический отек, крапивница, анафилактический шок) – 18 (12,3%). Кожные реакции (дерматит, экзема, сыпь, псориаз) – 24 (6,4%). Инфузионные реакции составили 12 эпизодов (8,2%). Болезни печени (повышение трансаминаз, лекарственный гепатит) – 7 (4,8%), болезни почек – 6 (4,1%), поражение кровеносной системы (анемия, лейкопения, тромбоцитопения) – 8 (5,5%), стоматиты – 3 (2,1%), ревматоидные узлы – 3 (2,1%), аутоиммунные проявления – 5 (3,4%), смерть – 4 (2,7%), другие НЯ – 21 (14,4%). При сравнительном анализе статистической значимости различий во времени удержания на терапии, рассчитанные с учетом поправки Бонферрони, наихудшее удержание на терапии продемонстрировал инфликсимаб. Наилучшее среднее время удержания на терапии

до момента отмены по НЯ продемонстрировали абатацепт, тофацитиниб, тоцилизумаб.

Поиск предикторов осуществлялся в два этапа. Первым этапом методом Каплан-Майера были отобраны показатели, которые демонстрировали наибольшую корреляционную зависимость со временем отмены препарата. К ним относятся: проводимая терапия, пол, семейный статус, образование, социальный статус, события, ассоциированные с дебютом заболевания (инфекции дыхательных путей, симптомы поражения желудочно-кишечного тракта, инфекции мочеполовой системы), температура, слабость, боль в спине в дебюте заболевания и продолжающаяся далее, серопозитивность, положительный титр АЦЦП, статус курения, доза и путь введения метотрексата, прием других базисных болезнь модифицирующих препаратов, рентгенологическая стадия, наличие ревматоидных узелков, полинейропатия, утренняя скованность, вес, возраст.

Вторым этапом полученные факторы были включены в модель пропорционального риска по Коксу. Было отмечено, что уровень образования коррелировал с выживаемостью терапии (чем выше образование, тем лучше удержание на терапии) ( $p=0,022$ ). Пациенты с кишечными симптомами демонстрировали худшее удержание на терапии ( $p=0,002$ ). У пациентов с болями в позвоночнике также отмечалось худшее удержание на терапии ( $p=0,015$ ). Пациенты, получающие метотрексат и гидроксихлорохин лучше удерживались на терапии ( $p=0,003$ ). Пациенты с ревматоидными узелками имели наибольший риск отмены терапии ( $p<0,001$ ). Длительная утренняя скованность ассоциирована с высоким риском отмены препарата ( $p=0,05$ ). Высокие дозы метотрексата ассоциированы с низким риском отмены ( $p=0,009$ ). Высокие дозы глюкокортикоидов ассоциированы с высоким риском отмены ( $p=0,001$ ).

И последним этапом значимые независимые показатели были получены путем прямой пошаговой селекции. Наличие ревматоидных узелков ( $p<0,001$ ), высокие дозы глюкокортикоидов ( $p<0,001$ ), низкие дозы метотрексата ( $p=0,009$ ) являются значимыми независимыми факторами увеличения риска отмены препаратов ввиду развития нежелательных явлений. Используемый таргетный препарат также показал значимую корреляцию с риском отмены по НЯ. Относительный риск (в сравнении с этанерцептом) у Инфликсимаба составил 6,57(ДИ:

3.69–11.73), у Цертолизумабапэггол 2.61 (ДИ: 1.23–5.56), у Абатацепта 1.23 (ДИ: 0.65–2.30), Адалимумаба 1.37 (ДИ: 0.75–2.50), Ритуксимаба 0.56 (ДИ: 0.26–1.20), тофацитиниба 0.46 (ДИ: 0.15–1.40), Тоцилизумаба 0.77 (ДИ: 0.37–1.60). Относительно высокий риск прекращения приема инфликсимаба был связан в большей степени с возникновением инфузионных реакций и инфекционных осложнений, прекращение приема

цертолизумаба пэггол было связано с инфекционными осложнениями.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование существенных доз метотрексата, уменьшение использования ГКС можно считать мерой предотвращения развития нежелательных явлений при приеме таргетных препаратов.

## SEARCH FOR PREDICTORS OF TARGET TREATMENT DISCONTINUATION DUE TO SIDE EFFECTS IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS. DATA FROM MOSCOW ARTHRITIS REGISTRY

© 2019 E. N. Koltsova<sup>1,2\*</sup>, G. V. Lukina<sup>2,3</sup>, E. I. Schmidt<sup>4</sup>, E. V. Zhilyaev<sup>5,6</sup>

\*E-mail: OMO-rheumatology@mail.ru

<sup>1</sup>Research Institute of the Organization of health and healthcare management, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>City Clinical Hospital 1 named after N. I. Pirogov, Moscow, Russia;

<sup>5</sup>Russian Medical Academy of continuing professional education, Moscow, Russia;

<sup>6</sup>CJSC «European Medical Center», Moscow, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 02.04.2019

The aim: to detect predictors of target drug withdrawal due to adverse events among patients with rheumatoid arthritis. Materials and methods: The study includes patients with rheumatoid arthritis from the Moscow Arthritis Registry (MAR), receiving treatment with biologics or tofacitinib. Results: Analysis includes 1230 treatment events in 696 patients. The mean age was 54,6±12,9 years. The mean observation time – 5.3 years. There were 146 cases of therapy discontinuation due to adverse events. Presence of rheumatoid nodules, higher doses of glucocorticoids, lower doses of methotrexate were independent significant predictors of increased risk of target treatment withdrawal due to side effects. Used target drug also showed independent significant correlation with this risk. Conclusion: The use of full doses of methotrexate, reduce the use of glucocorticoids can be considered as a measure to prevent the development of adverse events in patients treated with target therapy.

*Key words:* rheumatoid arthritis, target therapy, biologics, janus kinase inhibitor, immunotherapy, side effects, predictors of discontinuation

#### Authors:

**Koltsova E. N.**, ✉ The head of organizational and methodical department of rheumatology, Research Institute of the Organization of health and healthcare management, Moscow, Russia. **E-mail:** OMO-rheumatology@mail.ru;

**Lukina G. V.**, Ph.D, Professor V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology; The head of Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia;

**Schmidt E. I.**, Ph.D. The head of rheumatology department City Clinical Hospital 1 named after N. I. Pirogov, Moscow, Russia;

**Zhilyaev E. V.**, Ph.D, Professor Russian Medical Academy of continuing professional education, CJSC «European Medical Center», Moscow, Russia.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОГО И ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА ДЕВУШЕК-ПОДРОСТКОВ С НАРУШЕНИЯМИ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИЯХ ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2019 г. М. О. Комлева<sup>1\*</sup>, Н. В. Комлева<sup>2</sup>, А. И. Смолягин<sup>1</sup>

\*E-mail: maria.orenburg@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Оренбург, Россия

<sup>2</sup>ГБУЗ «Областная детская клиническая больница», Оренбург, Россия

Поступила: 05.03.2019. Принята: 18.03.2019

В работе представлены результаты обследования пациенток в возрасте 15–17 лет с нарушениями менструального цикла (НМЦ), проживающих в регионах Оренбургской области с различной антропогенной нагрузкой. Наибольшее количество изменений выявлено среди показателей относительного содержания CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> и CD19<sup>+</sup>-лимфоцитов, фагоцитарного показателя, уровня IgM, эстрадиола, прогестерона, тестостерона, ЛГ, 17-ОН-прогестерона и кортизола. Полученные результаты свидетельствуют о значимости отрицательного влияния антропогенной нагрузки на гинекологическую заболеваемость девушек.

**Ключевые слова:** девочки-подростки, менструальный цикл, иммунный статус, гормональный профиль

DOI: 10.31857/S102872210006613-9

Адрес: 46000, Оренбург, ул. Советская, 6, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, проблемная научно-исследовательская лаборатория.

Комлева Мария Олеговна. Тел.: 8 (905) 890 81 75

E-mail: maria.orenburg@mail.ru

**Авторы:**

**Комлева М. О.**, ординатор по специальности «Акушерство и гинекология» ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Комлева Н. В.**, к.м.н.врач гинеколог, ГБУЗ «Областная детская клиническая больница» Оренбург, Россия;

**Смолягин А. И.**, д.м.н., профессор, заведующий проблемной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Состояние репродуктивной системы можно рассматривать в качестве маркера неблагоприятного экологического воздействия на организм девушек-подростков. В этой связи признается, что характер менструального цикла является тонким индикатором ранних проявлений повреждающего воздействия экологических и производственных факторов на репродуктивную

систему женщин [1]. Ранее было показано, что экологическая ситуация наиболее напряжена в восточном регионе области [2].

**Цель исследования:** дать оценку особенностям первичной гинекологической заболеваемости, иммунного и гормонального статуса у девушек-подростков с НМЦ, проживающих на территориях Оренбургской области с различной антропогенной нагрузкой.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен анализ статистических отчетов по первичной гинекологической заболеваемости девушек-подростков 15–17 лет, проживающих в Оренбургской области в 2010–2016 годы. У 276 девушек, жителей Западного, Центрального и Восточного Оренбуржья оценены результаты исследований уровня тиреоидных и половых гормонов методом ИФА с использованием наборов фирмы «Алкор-Био»; иммунного статуса, включающего определение показателей клеточного иммунитета: CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>-маркеры лимфоцитов, параметров фагоцитоза

и гуморального иммунитета: уровень иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период 2010–2016 гг. среднегодовой показатель первичной гинекологической заболеваемости у девочек-подростков в Оренбургской области составил 90,45‰. Ее максимальный уровень – 101,05‰ зафиксирован в 2014 году, минимальный – 79,45‰ в 2016 году. Установлено, что особое место в структуре первичной гинекологической патологии у девушек на территории Оренбургской области занимают НМЦ, которые включают в себя гипоменструальный синдром (олигоменореи, вторичные аменореи), меноррагии и дисменореи. Частота НМЦ за 2010–2016 годы составила 62,8%, то есть проблема касается практически 2/3 девушек. Наиболее часто НМЦ проявляются в виде гипоменструального синдрома (78,6%). Следует отметить, что наибольшая доля в структуре синдрома принадлежит нарушениям по типу олигоменореи (66,9%). Установлено, что в городах области уровень первичной гинекологической заболеваемости пациенток 15–17 лет выше, чем в сельских районах. С 2011 по 2014 годы наблюдалось равномерное повышение уровня заболеваемости в районах Оренбуржья. С 2015 года в городах и с 2014 года в сельских районах области отмечалось снижение заболеваемости. Таким образом, лидирующей гинекологической патологией у девушек, проживающих в Оренбуржье является нарушение менструального цикла. Во всех трех регионах Оренбургской области среди НМЦ у пациенток преобладают нарушения по типу гипоменструального синдрома (олигоменорея), чаще регистрировавшегося на территориях востока и запада Оренбуржья.

На следующем этапе был проведен анализ показателей иммунного статуса у девочек-подростков с НМЦ, проживающих в различных регионах Оренбургской области в сравнении с региональными нормативами. Чаще всего отмечались однотипные отклонения иммунологических показателей у пациенток с НМЦ, проживающих на различных территориях Оренбуржья, выражающиеся в снижении относительного содержания CD3<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, фагоцитарного показателя, и напротив, в увеличении относительного и абсолютного количества суммарных лимфоцитов, уровня Ig M. Вместе с тем, частот-

ный анализ показал, что наиболее выраженные изменения показателей иммунного статуса наблюдались у девушек, проживающих на востоке области, что проявлялось в снижении уровня фагоцитарного показателя и относительного содержания CD4-клеток и, напротив, повышении IgM у девушек с НМЦ. У жителей запада области отмечалось снижение относительного содержания CD3-лимфоцитов и увеличение абсолютного количества CD19-клеток, относительного содержания CD4, уровня ЦИК. Таким образом, наиболее значимые изменения параметров иммунного статуса у девушек с НМЦ выражались в снижении клеточных показателей и повышении уровня иммуноглобулинов.

При оценке гормональных показателей у пациенток с НМЦ выявлено, что уровни Т3 и пролактина достоверно повышены у пациенток в западном регионе в сравнении с центральным. Содержание кортизола в крови достоверно выше у пациенток на востоке, чем в центре области. Уровень ФСГ, ЛГ, тестостерона и 17-ОН-прогестерона был достоверно повышен у подростков на востоке в сравнении с западом Оренбуржья. Более высокие уровни кортизола могут свидетельствовать о напряженности адаптивных систем и возможности формирования в дальнейшем дисфункции или срыве регуляторных механизмов [1]. Учитывая данные литературы [3], повышенный уровень кортизола, ЛГ, пролактина говорит о влиянии неблагоприятной экологической ситуации на распространенность НМЦ. Выявление изменений иммунологических и гормональных показателей свидетельствует о нарушениях гипоталамо-гипофизарной системы [4], которые, в свою очередь, приводят к НМЦ.

Таким образом, среди гинекологической заболеваемости подростков преобладают НМЦ, и в их числе лидируют олигоменореи, которые регистрировались чаще у девушек, проживающих в восточном и западном регионах Оренбуржья. У данных пациенток преобладало снижение уровня CD-3 и CD-4 лимфоцитов и повышение уровня IgM, кортизола, ФСГ, ЛГ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Гуркин Ю.А. Гинекология подростков: руководство для врачей. СПб.: Фолиант, 2000, 573. [Gurkin Yu. A. Gynecology of adolescents: Guidelines for physicians. SaintPetersburg: Foliant, 2000, 573].
2. Боев В.М. Здоровье населения и среда обитания Оренбургской области, 2-е изд., перераб. и доп. Оренбург: Димур, 2013, 328. [Boev V. M. Health of the

- population and habitat of the Orenburg region. 2nd ed., revised and enlarged. Orenburg: Dimour, 2013, 328].
3. Студеникин М. Я. Экология и здоровье детей / под ред. М. Я. Студеникина, А. А. Ефимовой. М.: Медицина, 1998, 384. [Studenikina M. Ya. Ecology and Children's Health. M. Ya. Studenikina, A. A. Efimova (eds). Moscow: Meditsina, 1998, 384]
4. Weller A., Weller L. Menstrual irregularity and menstrual symptoms // Journal of Behavioral Medicine 2002, 27 (4), 173–178.

## EVALUATION OF THE MENSTRUAL CYCLE VIOLATIONS OF ADOLESCENTS LIVING IN THE ORENBURG REGION

© 2019 М. О. Komleva<sup>1\*</sup>, N. V. Komleva<sup>2</sup>, A. I. Smolyagin<sup>1</sup>

\*E-mail: maria.orenburg@mail.ru

<sup>1</sup>Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia;

<sup>2</sup>Regional Children's Clinical Hospital, Orenburg, Russia

Received: 05.03.2019. Accepted: 18.03.2019

The paper presents the results of a survey of patients aged 15–17 years with menstrual irregularities (NMCs) living in the Orenburg regions with different anthropogenic load. The greatest number of changes was found among the indicators of the relative content of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD19<sup>+</sup> lymphocytes, phagocytic index, IgM, estradiol, progesterone, testosterone levels, LH, 17-OH-progesterone and cortisol. The results indicate the significance of the negative impact of anthropogenous loading on the gynecological morbidity of girls.

*Key words:* adolescent girls, menstrual cycle, immune status, hormonal panel

### Authors:

**Komleva M. O.**, ✉ ordinator of specialty “Obstetrics and Gynecology” Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia.

**E-mail:** maria.orenburg@mail.ru;

**Komleva N. V.**, Candidate of Medical Sciences, gynecologist of children and adolescents. Regional Children's Clinical Hospital, Orenburg, Russia;

**Smolyagin A. I.**, MD, Professor, Head of Problem Research Laboratory, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia.

## ВИРУСЫ СЕМЕЙСТВА *HERPESVIRIDAE* И АУТОРЕАКТИВНОСТЬ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

© 2019 г. А. Ю. Конищева\*, В. Б. Гервазиева

\*E-mail: ankon81@list.ru

ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 27.03.2019

У больных бронхиальной астмой (БА) оценивали иммунный ответ к вирусам семейства *Herpesviridae*, определяя уровни вирус-специфических IgG-АТ и IgE-АТ к ВПГ 1, ВЭБ, ЦМВ с помощью адаптированного метода ИФА, а также содержание IgE- и IgG4-аутоА к ряду тканевых АГ. Установлено, что у больных БА в большем проценте случаев (88%) выявляются IgG-АТ к ЦМВ, ВПГ и ВЭБ в высоких титрах (1:800–1:2000) в сравнении со здоровыми лицами (1:200–1:400) и уровень их выше у больных с тяжелыми формами БА. Выявлены прямые ассоциации между IgG – АТ к герпесвирусам и IgE-аутоАТ к коллагену III и VI типов, миозину, эластину и уровнями IL-4 и общего IgE, что непосредственно подтверждает вклад хронических форм герпесвирусной инфекции в поддержание как IgE-опосредованного иммунного воспаления, так и аутореактивности у больных БА.

**Ключевые слова:** Бронхиальная астма, вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ 1), цитомегаловирус (ЦМВ), вирус Эпштейна-Барр (ЭБВ), IgE-, IgG4-аутоАТ

DOI: 10.31857/S102872210006614-0

Адрес: 105064, Москва, Мал. Казенный пер 5а, ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, лаб. аллергодиагностики. Конищева Анна Юрьевна. Тел: +7 (495) 917 20 26.

E-mail: ankon81@list.ru

Авторы:

Конищева А. Ю., к.м.н, ведущий научный сотрудник лаб. аллергодиагностики ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

Гервазиева В. Б., д.м.н, проф., зав. лаб. аллергодиагностики ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Важнейшей проблемой является рост числа неблагоприятных исходов и формирование прогрессирующего течения бронхиальной астмы (БА), отмечающиеся даже на фоне стандартной терапии. Показана прямая связь РНК-содержащих респираторных вирусов с развитием тяжелых обострений БА и усилением бронхиальной гиперреактивности [1]. Значительно менее изученными остаются патогенетические механизмы влияния инфицирования вирусами семейства *Herpesviridae* на формирование атопического фенотипа и связи хронических форм данной инфекции с процессами иммуноопосредован-

ного воспаления в бронхолегочной системе. На сегодняшний день обсуждается феномен аутореактивности, как один из значимых факторов усиления воспалительной инфильтрации слизистой оболочки бронхиального дерева и прогрессирования патологического процесса при БА. Так, у больных БА были обнаружены IgG-аутоАТ к антигенам бронхолегочных структур ( $\alpha$ -энолаза, цитокератин 18,  $\alpha$ -катенин), и эпителиальным клеткам бронхов, которые рассматриваются в качестве иммуногенных АГ в группах пациентов с тяжелой формой БА. Одним из факторов, нарушающих механизмы регуляции иммунного ответа на системном уровне, являются хронические вирусные инфекции. Особый интерес представляют вирусы семейства *Herpesviridae*, которые, благодаря способности к инфицированию иммунокомпетентных клеток и программируемым механизмам иммунного обхода, могут влиять на течение атопических и аутоиммунных заболеваний [2].

**Цель исследования** — оценить взаимосвязь особенностей гуморального иммунного ответа (IgG-, IgE-АТ) к вирусам семейства *Herpesviri-*

дае (ВПГ 1, ЦМВ, ЭБВ) с уровнем сывороточных IgE- и IgG4-аутоАТ к некоторым тканевым АГ, представленным в тканях бронхолегочной системы, у больных БА с различным течением заболевания.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 83 пациента с БА (средний возраст  $49 \pm 17$  лет), консультированных в клиничко-диагностическом отделении ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова. Легкое интермиттирующее течение заболевания отмечалось у 8 человек, легкое персистирующее – у 16, среднетяжелое – у 33, в 31 случае течение БА оценивалось как тяжелое. Критерии включения в исследование: наличие БА, подтвержденной клиничко-функциональными методами обследования в соответствии с критериями GINA (2018). В сыворотках крови пациентов методом ИФА определяли содержание общего IgE (ООО «Иммунотекс», г. Ставрополь, Россия), цитокинов IL-4, IL-10 и IgG-АТ к вирусам ВПГ1, ЦМВ, ВЭБ (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, Россия). Выраженность иммунного ответа к герпесвирусам оценивали в титрах IgG-АТ, которые учитывались нами как высокие (разведение  $\geq 1:800$ ), средние ( $1:200$ – $1:800$ ) и низкие ( $1:100$ – $1:200$ ). Определение количественного содержания IgE-АТ к вирусам семейства *Herpesviridae* проводили в адаптированном методе ИФА с использованием конъюгата моноклональных анти-IgE-АТ и сорбированной антигенами вирусов твердой фазы. Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8,0» (StatSoft, USA).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании анализа анамнестических данных было установлено, что у 84 (60%) больных отмечались рецидивы герпетических высыпаний с типичной локализацией и соответствующие критериям часто рецидивирующей ВПГ инфекции в 21,4% случаев (18 человек), в то время как у 33 пациентов (39,2%) частота проявлений герпетической инфекции расценивалась как редкая. Особенность клинического течения БА среди пациентов с частыми рецидивами ВПГ инфекции выражалась в преобладании неконтролируемого течения заболевания (73%), в сравнении с лицами, страдающими редкими проявлениями герпетической инфекции (46%), в группе которых чаще отмечался частичный

уровень контроля над симптомами БА ( $p < 0,05$ ). Сравнительный анализ средних значений титров IgG-АТ выявил более низкие значения IgG-АТ к ВПГ и ЦМВ в группе контроля (1:835 и 1:388, соответственно) в сравнении с БА среднетяжелого и тяжелого течения (1:1270, 1:1350 и 1:1560, соответственно). При этом у пациентов с тяжелой формой БА также отмечен наиболее высокий уровень IgG-АТ к ВЭБ ( $p < 0,001$ ). Корреляционный анализ содержания противовирусных IgG-АТ и показателей аутореактивности у больных БА выявил наличие прямой связи между IgG-АТ к ВПГ и IgE-аутоАТ к коллагену III и VI типов ( $r = +0,8$ ), а также между IgG-АТ к ВЭБ и IgE-АТ к коллагену VI типа ( $r = +0,39$ ). В то же время содержание IgG4-аутоАТ, наиболее увеличенное при БА легкого течения, находилось в обратной зависимости от выраженности противовирусного IgG-ответа. Так, у больных БА отмечалась отрицательная корреляция между уровнями IgG4-АТ к эластину и IgG-АТ к ВПГ и ЦМВ ( $r = -0,9$ ), IgG4-АТ к коллагену III типа и IgG-АТ к ЦМВ ( $r = -0,9$ ), а также между содержанием IgG-АТ к ВЭБ и IgG4-АТ к кератину ( $r = -0,61$ ) и миозину ( $r = -0,31$ ). Также была отмечена обратная ассоциация ( $r = -0,81$ ) между уровнем IgG-АТ к ЦМВ и содержанием IL-10 у больных БА. Особый интерес представляло оценить способность герпесвирусов индуцировать и поддерживать вирус-специфический IgE-ответ. Для этого в адаптированном методе ИФА мы определяли IgE-АТ к герпесвирусам и определяли их значения у здоровых лиц. В сравнении с ними у больных БА выявлено повышенное содержание противовирусных IgE-АТ, среди которых наибольшие показатели к ВПГ1 ( $13 \pm 2$  МЕ/мл) отмечались у больных с тяжелой формой БА по сравнению с больными среднетяжелым и легким течением заболевания. Подобным образом, частота встречаемости повышенного уровня IgE-АТ к герпесвирусам увеличивалась пропорционально утяжелению БА. Так, у всех пациентов с тяжелой формой БА содержание IgE-АТ к исследуемым герпесвирусам и частота их выявления в 1,5–2 раза превышала таковые у пациентов с легким и среднетяжелым течением заболевания ( $p < 0,001$ ). При исследовании взаимосвязи противотканевого и противовирусного IgE иммунного ответа были выявлены прямые корреляции между IgE-аутоАТ к кератину и IgE-АТ к ВПГ1 ( $r = +0,37$ ), ЦМВ ( $r = +0,42$ ) и ВЭБ ( $r = +0,49$ ), прямые корреляции между IgE-АТ к ЦМВ и IgE-аутоАТ к коллагену

VI типа ( $r=+0,45$ ), эластину ( $r=+0,44$ ), коллагену III типа ( $r=+0,42$ ) и миозину ( $r=+0,35$ ), а также между IgE-АТ к ВЭБ и IgE-аутоАТ к коллагену VI типа ( $r=+0,63$ ), эластину ( $r=+0,69$ ) и коллагену III типа ( $r=+0,61$ ). Полученные данные подтверждают взаимосвязь данных вирусов с гиперпродукцией IgE и свидетельствуют об их участии в поддержании патологического процесса и аутореактивности у больных БА.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, хроническая герпесвирусная инфекция может участвовать в поддержании не только характерного для атопии Th1/Th2 дисбаланса, но и в формировании аутореактивности в результате прямого цитопатического действия

на инфицированные клетки и высвобождения внутриклеточных антигенов с одновременным нарушением функции регуляторного звена иммунитета на системном уровне, являясь одним из факторов, способствующих развитию неконтролируемого и более тяжелого течения БА.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mukherjee M., Nair P. Autoimmune Responses in Severe Asthma. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2018 Sep; 10(5):428–447.
2. Ritchie A. I., Farne H. A., Singanayagam A., Jackson D. J., Mallia P., Johnston S. L. Pathogenesis of Viral Infection in Exacerbations of Airway Disease. *Ann Am Thorac Soc.* 2015 Nov; 12 Suppl 2: S115–32. doi: 10.1513/AnnalsATS.201503–151AW. Review. PMID: 26595727

## VIRAL INFECTIONS FROM *HERPESVIRIDAE* FAMILY AND AUTOREACTIVITY IN BRONCHIAL ASTHMA

© 2019 A. Yu. Konishcheva\*, V. B. Gervazieva

\*E-mail: ankon81@list.ru

*Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia*

Received: 15.03.2019. Accepted: 27.03.2019

The immune response to the viruses from *Herpesviridae* family was evaluated by determining the levels of virus-specific IgG-AT and IgE-AT to HSV 1, EBV, CMV using an adapted ELISA method in patients with bronchial asthma (BA), along with IgE- and IgG4-autoAbs a number of tissue Ags. We revealed that in patients with BA in a prevailed percentage of cases (88%) IgG-Abs for CMV, HSV and EBV were detected in high titers (1:800–1:2000) as compared with healthy individuals (1:200–1:400) with greater elevation in patients with severe BA. Direct associations between IgG-Abs for herpes viruses and IgE-autoAbs for collagen III and VI types, myosin, elastin and levels of IL-4 and total IgE directly confirms the contribution of chronic forms of herpes infection to the maintenance of both IgE-mediated immune inflammation and autoreactivity in patients with asthma.

*Key words:* bronchial asthma, Herpesvirus type 1 (HSV 1), Cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (EBV), IgE- IgG4-autoAbs, keratin, collagens type III and VI, myosin, elastin

#### Authors:

**Konishcheva A. Yu.**, ✉ Ph.D., Leading Researcher at the lab. allergodiagnostic Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: ankon81@list.ru;

**Gervazieva V. B.**, Prof., MD, Head of the Department of Allergology Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

## ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ НА МЕСТНОМ УРОВНЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ; ИММУНОРЕАБИЛИТАЦИЯ

© 2019 г. А. А. Конопля\*, С. А. Гавриш, Ж. П. Омашарифа

\*E-mail: kanabis03101980@yandex.ru

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»

Минздрава РФ, Курск, Россия

Поступила: 24.02.2019. Принята: 11.03.2019

42 пациентки репродуктивного возраста с верифицированным диагнозом хронический эндометрит в стадии неполной ремиссии разделены на 3 группы: контрольную, получавшую комплексное стандартное лечение и основные, где фармакотерапию дополняли введением Гепона и Цитофлавина или курсом магнитоинфракрасной лазерной терапии. Изначально на местном уровне установлено повышение уровня провоспалительных и регуляторных цитокинов, активация системы комплемента, дисбаланс в содержании противовоспалительных цитокинов, регуляторов системы комплемента, снижение уровня sIgA. Определена недостаточная эффективность применения комплексного стандартного лечения в коррекции иммунных нарушений. Использование Гепона и Цитофлавина или магнитоинфракрасной лазерной терапии эффективно корректирует нарушенные параметры иммунного статуса.

**Ключевые слова:** хронический эндометрит, иммунные нарушения, гепон, цитофлавин, магнитоинфракрасная лазерная терапия

DOI: 10.31857/S102872210006615-1

**Адрес:** 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра акушерства и гинекологии ФПО, Конопля Алексей Александрович. Тел.: 8 910 730 99 28.

**E-mail:** kanabis03101980@yandex.ru

**Авторы:**

**Конопля А. А.**, д.м.н., доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФПО ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

**Гавриш С. А.**, врач акушер-гинеколог ООО «Центр Здоровья», соискатель кафедры акушерства и гинекологии ФПО ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

**Омашарифа Ж. П.**, ассистент кафедры акушерства и гинекологии ФПО ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия.

Среди патологических процессов эндометрия, снижающих его репродуктивный потенциал, значительную долю занимает хронический эндометрит (ХЭ) — клинико-морфологический синдром, при котором длительность, глубина и степень повреждения слизистой оболочки матки определяют клиническую симптоматику болезни, основанную на нарушении циклической

биотрансформации и рецептивности эндометрия [1, 2]. Несмотря на отсутствие выраженных клинических проявлений воспаления и нормативные значения общелабораторных исследований, у женщин детородного возраста с бесплодием на фоне хронического воспалительного процесса репродуктивной сферы в стадии полной или неполной клинической ремиссии, определяются выраженные иммунные и метаболические нарушения, как на системном, так и на местном уровне [3, 4], что требует поиска и внедрения различных способов и методов реабилитации.

В связи с этим **целью исследования** стало проведение коррекции иммунных нарушений на местном уровне при хроническом эндометрите применением в стандартном лечении Гепона и Цитофлавина или магнитоинфракрасного лазерного (квантового) облучения.

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Под постоянным наблюдением находились 42 пациентки репродуктивного возраста (18–35 лет) с верифицированным диагнозом:

хронический эндометрит в стадии неполной ремиссии. Женщины были разделены на три равные группы, рандомизированные по возрасту, минимальным сопутствующим заболеваниям в стадии ремиссии, прогнозируемой тяжести заболевания, всем было проведено эндоскопическое оперативное вмешательство по поводу эндометрит-ассоциированного бесплодия. В послеоперационном периоде пациентки первой группы получали традиционное лечение (антибактериальные, антимикотические, противовирусные, нестероидные противовоспалительные препараты, пробиотики, средства направленные на восстановление микрофлоры влагалища). Вторая часть больных дополнительно получали Гепон и Цитофлавин, третья – физиотерапевтическое лечение аппаратом магнитоинфракрасной лазерной (квантовой) терапии (МИЛ-терапия) Рикта 4/04. Ежедневное воздействие по проекционным зонам состояло из 10 процедур и проводилось согласно методическим рекомендациям по применению аппарата квантовой терапии РИКТА. С третьего дня лечения применяется интравагинальная насадка из комплекта «КОН-Г». Лабораторное обследование осуществляли сразу при поступлении в стационар и при выписке на 15-е сутки. Цитокины (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IFN $\gamma$ , IL-2, IL-17, IL-18, G-CSF, IL-4, IL-10, IL-1RA) в вагинально-цервикальном смыве выявляли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), компоненты системы комплемента (C<sub>3</sub>, C<sub>3a</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>5a</sub>), фактор Н, sIgA – диагностическим набором ООО «Цитокин» (Россия). Активность C<sub>1</sub>-ингибитора определяли хромогенным методом по способности ингибировать C<sub>1</sub>-эстеразу. Регистрация всех результатов иммуноферментного анализа осуществлялась при помощи микропланшетного фотометра «Sunrise», Тесан (Австрия). В качестве контроля исследовали 18 здоровых женщин.

Статистическую обработку результатов исследования проводили вычислением средних величин (M), ошибки средней арифметической (m) с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel, 2010. Для оценки статистической значимости различий средних величин использовался критерий Вилкоксона-Манна и Уитни. Статистически значимыми считали различия с  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

До начала лечения в вагинально-цервикальном смыве установлено повышение уровня про-

воспалительных, IL-1RA, IFN $\gamma$ , IL-2, G-CSF цитокинов, повышение исследованных компонентов комплемента (исключение – снижение C<sub>3a</sub>) и ингибитора – фактора Н, снижение противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), C<sub>1</sub>-ингибитора системы комплемента, sIgA. Стандартное лечение корректирует содержание, но не до уровня контроля, TNF $\alpha$ , IL-8, IL-18, IL-10, IFN $\gamma$  цитокинов, C<sub>3</sub>, C<sub>3a</sub>, C<sub>4</sub>-компонентов комплемента, sIgA, не влияя на уровень остальных исследованных параметров иммунного статуса. Включение Гепона и Цитофлавина в состав стандартного лечения, по сравнению с ним, корректирует содержание в вагинально-цервикальном смыве содержание провоспалительных (IL-17 и IL-18 нормализует), G-CSF, IL-2, нормализует концентрацию противовоспалительных цитокинов (IL-1RA повышает выше значений контроля), sIgA, компонентов и ингибиторов системы комплемента (C<sub>5</sub> и C<sub>5a</sub> корректирует). Применение МИЛ-терапии по сравнению с Гепоном и Цитофлавином дополнительно нормализует содержание IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$  и в еще большей степени, по сравнению с нормальными параметрами, повышает концентрацию ингибиторов системы комплемента. Лабораторные данные иммунного статуса на местном уровне у пациенток с ХЭ по изучению эффективности Гепона и Цитофлавина, МИЛ-терапии совпали с результатами субъективных, клинико-лабораторных и инструментальных показателей, выраженных в сумме баллов по оценочной шкале. Полученные результаты, свидетельствуют о том, что проводимая фармакотерапия у пациенток с хроническим эндометритом не оказывает адекватного корректирующего влияния на нарушенные параметры иммунного статуса. Использование в стандартном лечении ХЭ сочетания Гепон и Цитофлавин или МИЛ-терапии позволяет повысить эффективность лечения и способствует улучшению качества жизни, повышению фертильности таких пациенток.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Лукач А. А. Инфекционно-воспалительная концепция развития гиперпластических процессов гениталий // Уральский медицинский журнал. – 2010. – Т. 5, № 70. – С. 156–159. [Lukach A. A. Infektsionno-vospalitel'naya kontseptsiya razvitiya gi-perplasticheskikh protsessov genitaliy // Ural'skiy meditsinskiy zhurnal. – 2010. – Т. 5, № 70. – С. 156–159.]
2. Кулаков В. И., Шурилина А. В. Хронический эндометрит как причина нарушения репродуктивной функции // Гинекология. – 2012. – Т. 14, № 4. –

- С. 16–18. [Kulakov V.I., Shurshalina A.V. Khronicheskiy endometrit kak prichina narusheniya reproductivnoy funktsii // Ginekologiya. – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 16–18.]
3. Сухих Г. Т., Шуршалина А. В. Хронический эндометрит: руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 64 с. [Sukhikh G. T., Shurshalina A. V. Khronicheskiy endometrit: rukovodstvo. – М.: GEOTAR-Media, 2013. – 64 s.]
4. Конопля А. А., Гавриш С. А., Омашарифа Ж. П., Гаврилюк В. П., Конопля А. И. Иммунология бесплодия трубного генеза // Ученые записки Орловского государственного университета. Научный журнал. – 2014. – Т. 7, № 63. – С. 55–56. [Konoplya A. A., Gavrish S. A., Omasharifa Zh. P., Gavrilyuk V. P., Konoplya A. I. Immunologiya besplodiya trubnogo geneza // Uchenyye zapiski Orlovskogo gosudarstvennogo universiteta. Nauchnyy zhurnal. – 2014. – Т. 7, № 63. – С. 55–56.]

## IMMUNE DISTURBANCES AT THE LOCAL LEVEL IN CHRONIC ENDOMETRITIS; IMMUNE REHABILITATION

© 2019 A. A. Konoplya\*, S. A. Gavrish, Zh. P. Omasharifa

\*E-mail: kanabis03101980@yandex.ru  
Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Received: 24.02.2019. Accepted: 11.03.2019

42 patients of reproductive age with a verified diagnosis of chronic endometritis in the stage of incomplete remission were divided into 3 groups: the control group, receiving complex standard treatment and the main ones, where pharmacotherapy was supplemented with the administration of Gepon and Cytoflavin or a course of magneto-infrared laser therapy. Initially, an increase in the level of pro-inflammatory and regulatory cytokines, activation of the complement system, an imbalance in the content of anti-inflammatory cytokines, regulators of the complement system, a decrease in the sIgA level was established at the local level. The lack of effectiveness of the use of complex standard treatment in the correction of immune disorders was determined. The use of Gepon and Cytoflavin or magneto-infrared laser therapy effectively corrects disturbed parameters of the immune status.

*Key words:* chronic endometritis, immune disorders, gepon, cytoflavin, magneto-infrared laser therapy

### Authors:

**Konoplya A. A.**, ✉ MD, PhD, associate professor of obstetrics and gynecology department of Education Faculty of Federal State Budgetary Institution of Higher Education «Kursk State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia. E-mail: kanabis03101980@yandex.ru;

**Gavrish S. A.**, obstetrician-gynecologist of the «Health Center», PhD student of obstetrics and gynecology department of Education Faculty of Federal State Budgetary Institution of Higher Education «Kursk State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia;

**Omasharifa Zh. P.**, assistant lecture of obstetrics and gynecology department of Education Faculty of Federal State Budgetary Institution of Higher Education «Kursk State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia.

## СОВРЕМЕННЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К ЭКСПЕРТНОЙ ОЦЕНКЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ЧЕЛОВЕКА

© 2019 г. О. Г. Корнилова\*, Е. А. Хуснатдинова, М. А. Кривых,  
Ю. В. Олефир

\*E-mail: Kornilova@expmed.ru

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Регулирование процессов обеспечения специфической безопасности лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека призвано гарантировать наличие на российском фармацевтическом рынке эффективных и безопасных препаратов. Экспертиза в рамках регистрации обеспечивает формирование условий для выпуска в обращение соответствующих по уровню безопасности препаратов. Соблюдение требований к экспертной оценке этапов фармацевтической разработки, технологического процесса с учетом контроля критических стадий производства, готовой формы препарата по показателям специфической безопасности, позволяет прогнозировать степень их негативного влияния на системы гемостаза, комплемента и калликреин-кининовую.

**Ключевые слова:** лекарственные препараты иммуноглобулинов человека, специфическая безопасность, экспертиза качества

DOI: 10.31857/S102872210006616-2

**Адрес:** 127051, Москва, Петровский бульвар, д.8, стр. 2, ФГБУ «Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория иммуноглобулинов и препаратов крови Испытательного центра экспертизы качества МИБП. Корнилова Ольга Геннадьевна. Тел.: 8 (495) 625-43-48, 8 925 352 61 03 (моб.).

**E-mail:** Kornilova@expmed.ru

**Авторы:**

**Корнилова О. Г.**, к.м.н., эксперт лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови ИЦЭК МИБП, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия;

**Хуснатдинова Е. А.**, к.б.н., эксперт лаборатории иммуноглобулинов и препаратов крови ИЦЭК МИБП, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия;

**Кривых М. А.**, к.ф.н., эксперт управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов ЦЭК МИБП. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия;

**Олефир Ю. В.**, д.м.н., генеральный директор ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия.

Безопасность лекарственных препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного

введения (ИГЧВВ) является одним из ключевых критериев их выбора в терапии многих неотложных и иммунодефицитных состояний. Особые свойства исходного сырья (субстанции) — плазмы для фракционирования с максимально сохраненным качественным и количественным составом позволяет получать высокоэффективные препараты для заместительной терапии, практически не обладающие аллергизирующими свойствами. Однако при выделении целевых белков — иммуноглобулинов различной специфичности невозможно полностью исключить риск контаминации готового препарата белками плазмы крови, действие которых может оказаться нежелательным, например, вследствие активации калликреин-кининовой, плазминовой систем или системы свертывания крови, изменения реологических свойств крови. Расширение списка показаний к применению ИГЧВВ и диапазона их терапевтических доз в немалой степени способствуют увеличению вероятности возникновения нежелательных явлений инфу-

зионной иммуноглобулинотерапии, в том числе интраваскулярного гемолиза, гипотензии, тромбоэмболических осложнений. Экспертиза в рамках регистрации ИГЧВВ должна обеспечивать формирование условий для выпуска в обращение соответствующих по уровню безопасности препаратов.

**Целью работы** являлось обоснование требований к экспертной оценке специфической безопасности лекарственных препаратов ИГЧВВ.

Для оптимизации процесса экспертизы и получения адекватной оценки специфической безопасности лекарственных препаратов ИГЧВВ разработаны основные принципы, основанные на понятиях презумпции их потенциальной опасности, связанной с негативным влиянием на системы гемостаза, комплемента и калликреин-кининовую; комплексности, научной обоснованности и адекватности оценки свойств; на соблюдении баланса между уровнем специфической безопасности и терапевтической эффективности. Установлены критерии экспертной оценки материалов регистрационного досье в части описания фармацевтической разработки, технологического процесса, результатов доклинического и клинического изучения, выбора показателей качества и методов их контроля.

Документальная экспертиза материалов регистрационного досье призвана выявить технологические аспекты обеспечения соответствия качества препарата ИГЧВВ критериям безопасности, например, такие как скрининг доноров по групповой и резус-принадлежности и формирование котловой загрузки с учетом максимального содержания гемагглютининов и/или анти-D антител, отделение криопреципитата и коагулирующих факторов, обработка ферментами, хроматографическая очистка, обработка октановой кислотой, наличие стабилизатора, обеспечивающего стабильность мономерной формы молекулы иммуноглобулина. Анализ программы доклинического изучения должен быть направлен на оценку адекватности выбора биохимических и иммунобиологических методов *in vitro*, испытаний на животных моделях для подтверждения профиля безопасности ИГЧВВ.

Обязательным является наличие исследований, позволяющих оценить влияние препарата на реологические свойства крови с учетом предполагаемых схем применения в клинической практике. Критериями экспертной оценки тромбогенного потенциала являются: активность прокоагулянтных факторов свертывания

крови; изменение неактивированного частичного тромбопластинового времени стандартной (нормальной) плазмы крови человека; изменение кинетики образования тромбина стандартной (нормальной) плазмы крови человека в тесте генерации тромбина, отсутствие тромбообразования при введении модельным животным (например, кроликам используя метод S. Wessler). Отсутствие гипотензивных свойств препарата может быть подтверждено в экспериментах на животных (крысах), но в обязательном порядке должно гарантироваться посерийным контролем содержания димеров и активатора прекалликреина. Результаты клинического исследования должны отражать оценку влияния ИГЧВВ на системы гемостаза, комплемента и калликреин-кининовую на популяции добровольцев. Особое внимание должно быть уделено лабораторной фармацевтической экспертизе лекарственных препаратов ИГЧВВ с учетом соответствия методик контроля фармакопейным методам. Контроль готовой формы препаратов ИГЧВВ обязательно включает оценку уровня антикомплементарной активности, содержания гемагглютининов и анти-D антител, активатора прекалликреина, полимеров и агрегатов.

Экспертная оценка должна учитывать стандартизованность методики определения, которая может быть достигнута применением стандартных образцов (СО) различной квалификации. При использовании соответствующих отечественных СО возможно сопоставление качества препаратов ИГЧВВ как зарубежных, так и российских производителей по антикомплементарной активности, содержанию гемагглютининов и анти-D антител. Пострегистрационный мониторинг обеспечивает постоянную актуализацию информации о профиле безопасности препаратов ИГЧВВ, что позволяет производителям своевременно вносить соответствующие изменения в технологический процесс и нормативную документацию с учетом рекомендаций экспертов.

Таким образом, комплексная оценка в рамках экспертизы лекарственных препаратов ИГЧВВ этапов фармацевтической разработки, технологического процесса производства, готовой формы препарата по соответствующим показателям качества, результатов доклинического и клинического исследований позволяет прогнозировать уровень их специфической безопасности и обеспечивает возможность адекватного выбора препаратов для применения в клинической практике.

**MODERN REQUIREMENTS TO THE EXPERT EVALUATION  
THE SPECIFIC SAFETY OF MEDICINAL PRODUCTS  
OF HUMAN IMMUNOGLOBULIN**

© 2019 O. G. Kornilova\*, E. S. Husnatdinova, M. A. Krivykh,  
Y. V. Olefir

\*E-mail: Kornilova@expmed.ru

*Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia*

**Received:** 14.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

Regulation of processes to ensure specific safety of human immunoglobulin drugs is designed to ensure the availability of effective and safe drugs on the Russian pharmaceutical market. Expertise within the framework of registration ensures the formation of conditions for the issuance of drugs corresponding to the level of safety. Compliance with the requirements for expert evaluation of the stages of pharmaceutical development, technological process, taking into account the control of critical stages of production, the finished form of the drug in terms of specific safety, allows to predict the degree of their negative impact on the hemostatic system, complement and kallikrein-kinin.

*Key words:* human immunoglobulin drugs, specific safety, quality examination

**Authors:**

**Kornilova O. G.**, ✉ Ph D. Expert of the Laboratory of Immunoglobulins and Blood Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. **E-mail:** Kornilova@expmed.ru;

**Husnatdinova E. S.**, Ph D. Expert of the Laboratory of Immunoglobulins and Blood Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Krivykh M. A.**, Ph D. Expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Olefir Y. V.**, MD. General Director of Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia.

## НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИИ CD4<sup>+</sup> Т-ЛИМФОЦИТОВ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ДИСКОРДАНТНЫМ ОТВЕТОМ НА АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

© 2019 г. Л. Б. Королевская\*, Е. В. Сайдакова

\*E-mail: bioqueen@mail.ru

«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения  
Российской академии наук» – филиал ПФИЦ, Пермь, Россия

Поступила: 15.02.2019. Принята: 28.02.2019

Оценивали способность к пролиферации, синтезу ИЛ-2 и склонности к апоптозу CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов ВИЧ-инфицированных больных с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию. Установлено снижение митотической активности и продукции ИЛ-2, усиление темпов гибели CD4<sup>+</sup> Т-клеток периферической крови. Выявленные нарушения могут быть причиной неэффективного восстановления численности CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у больных с дискордантным ответом на лечение.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты, антиретровирусная терапия, дискордантный ответ, пролиферация, ИЛ-2, апоптоз

DOI: 10.31857/S102872210006617-3

**Адрес:** 614081, г. Пермь, ул. Голева, д. 13, «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал ПФИЦ, лаборатория экологической иммунологии, Королевская Лариса Борисовна. Тел.: 8 (342) 280 83 34

**E-mail:** bioqueen@mail.ru

**Авторы:**

**Королевская Л. Б.**, к.м.н., научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал ПФИЦ, Пермь, Россия;

**Сайдакова Е. В.**, к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал ПФИЦ, Пермь, Россия.

Назначение антиретровирусной терапии (АРТ) ВИЧ-инфицированным пациентам приводит к подавлению репликации вируса и увеличению численности периферических CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов (стандартная реакция на лечение) [1]. Однако у 20–30% больных, получающих терапию, развивается дискордантный ответ, определяемый как отсутствие прироста CD4<sup>+</sup> Т-клеток крови при эффективном подавлении вирусной нагрузки [2]. Причины его развития остаются малоизвестными.

**Целью** данной работы было исследование функциональной способности CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и их склонности к апоптозу у ВИЧ-инфицированных пациентов с дискордантным ответом на АРТ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основную исследуемую группу составили 19 ВИЧ-инфицированных пациентов с числом CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в крови <350/мкл (иммунологические неответчики, ИН). В группы сравнения вошли 19 ВИЧ-позитивных больных с числом CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в крови >350/мкл (иммунологические ответчики, ИО) и 19 неинфицированных добровольцев (К). Каждый субъект подписал информированное согласие на участие в исследовании. Венозную кровь забирали в пробирки, содержащие гепарин или ЭДТА. Концентрацию ВИЧ в плазме крови определяли набором «Versant 3 HIV-1 RNA 3,0 assay b» на анализаторе Versant 440 (Siemens). Численность CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов оценивали методом проточной цитометрии (FACSCalibur, Becton Dickinson, набор «Immunocytometry Systems Simultest™»).

Часть выделенных из венозной крови в градиенте плотности диаколла (1,077, Диа-М) мононуклеарных клеток использовали для оценки апоптоза (набор «Annexin V-FITC/7-AAD», Beckman Coulter) методом проточной цитометрии. Из оставшейся части клеток выделяли Т-лимфоциты (набор «Dynabeads™ Untouched™ Human T cells», Invitrogen). Пролиферацию CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, индуцированную магнитными частицами Dynabeads™ Human T-Activator CD3/CD28 (Gibco), оценивали методом проточной цитометрии по разбавлению CFSE (BioLegend) после культивирования (5% CO<sub>2</sub>, 37 °С, 5 суток). Контролем служили нестимулированные клетки. В супернатантах культур определяли концентрацию ИЛ-2 (набор «Интерлейкин-2-ИФА-БЕСТ»). Полученные данные представлены в виде медиан и интерквартильных размахов, либо средних величин и 95% доверительных интервалов. При отсутствии нормального распределения расчеты выполняли с логарифмированными величинами. Достоверность различий определяли с помощью критерия Манна-Уитни или t-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вирусная нагрузка ВИЧ у всех обследованных пациентов была подавлена (<50 копий/мл), что доказывает вирусологическую эффективность АРТ. Относительное и абсолютное количество CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у ВИЧ-позитивных больных обеих групп было снижено по сравнению с неинфицированными людьми (P<0,001). В соответствии с критериями отбора дефицит CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов был более выраженным у ИН. Абсолютное число клеток у ИО и ИН, соответственно, составило и 534 мкл<sup>-1</sup> (438–656 мкл<sup>-1</sup>) и 270 мкл<sup>-1</sup> (208–303 мкл<sup>-1</sup>; P<0,001).

Оценка митотической активности показала, что после стимуляции Т-лимфоциты всех обследованных субъектов были способны к генерации дочерних популяций. Относительное количество CD4<sup>+</sup>CFSE<sup>dim</sup> Т-клеток в группах К и ИО, соответственно, составило 77,9% (73,0–87,7%) и 73,5% (58,1–82,8%). Процент делящихся клеток у ИН был ниже и оказался равным 65,4% (52,3–76,0%; P<0,05 по сравнению с К). При этом у ИН доля лимфоцитов, не вступивших в деление, почти в 2 раза превышала соответствующие значения, установленные в группах сравнения. Таким образом, стимулированные в условиях *in vitro* CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты ВИЧ-за-

раженных больных с дискордантным ответом на АРТ показывают нарушение митотической активности по сравнению с пролиферативной способностью клеток неинфицированных людей и ВИЧ-позитивных пациентов со стандартной реакцией на лечение. Важным ростовым фактором делящихся Т-лимфоцитов является продуцируемый ими ИЛ-2. Концентрация данного цитокина в супернатантах нестимулированных клеточных культур здоровых людей составила 15,3 пг/мл (ln=2,7308±0,4710). В аналогичных пробах ИН и ИО, уровень ИЛ-2 был ниже: 5,5 пг/мл (ln=1,6999±0,2776) и 3,0 пг/мл (ln=1,1039±0,2161; P<0,01 по сравнению с К) соответственно. Во всех стимулированных пробах было выявлено существенное увеличение содержания цитокина. Наиболее высокая концентрация была установлена в супернатантах здоровых лиц: 2982,4 пг/мл (ln=8,0005±0,2212). В пробах ИО и ИН, уровень ИЛ-2 был ниже и составил, соответственно, 1895,4 пг/мл (ln=7,5472±0,2335) и 1534,8 пг/мл (ln=7,3362±0,1805; P<0,01 по сравнению с К). Таким образом, установлено, что синтез ИЛ-2 стимулированными Т-лимфоцитами был наиболее низким у ВИЧ-зараженных больных с дискордантным ответом на АРТ. Ранее нами было показано, что CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты ИН после стимуляции *in vitro* делятся несимметрично [3]. Асимметрия при делении может приводить к смерти части потомков [4]. Исследование программной гибели клеток выявило, что доля спонтанно умирающих *ex vivo* CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у ИО и К, соответственно, оказалась равной 12,5% (10,9–20,7%) и 16,1% (11,8–21,0%). Уровень апоптотирующих элементов у ИН был существенно выше и составил 31,1% (19,5–35,2%; P<0,001). Это свидетельствует о том, что у ВИЧ-инфицированных пациентов с иммунологическим неответом на лечение по сравнению с больными со стандартной реакцией на АРТ и здоровыми людьми существенно увеличена доля умирающих клеток среди CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов. Таким образом, установлено, что CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты ВИЧ-позитивных пациентов с дискордантным ответом на АРТ характеризуются функциональными изменениями. Показано, что в условиях *in vitro* CD4<sup>+</sup> Т-клетки, полученные от ИН, демонстрируют нарушение митотической активности по сравнению с таковой у здоровых лиц и пациентов со стандартной реакцией на лечение. Кроме того, стимуляция *in vitro* Т-лимфоцитов, полученных от больных с дискордантным ответом, сопровож-

ждается сниженной по сравнению с клетками неинфицированных людей продукцией ИЛ-2. Хорошо известно, что этот цитокин вырабатывается Т-лимфоцитами в ответ на антигенную или митогенную стимуляцию и является необходимым ростовым фактором для их пролиферации и дифференцировки. По-видимому, при иммунологическом ответе, клетки сохраняют способность вырабатывать ИЛ-2, но количества продуцируемого цитокина, скорее всего, оказывается недостаточным для поддержания их продуктивного деления. Кроме того, обнаруженная нами ранее асимметрия деления CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов у ИН [3] также может негативно влиять на продуктивность пролиферации, приводя к гибели части потомства [4]. Дополнительным подтверждением вышеизложенному могут быть представленные в настоящей работе и другими исследователями [5] данные об усилении уровня спонтанного апоптоза CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов периферической крови у ВИЧ-инфицированных больных с дискордантным ответом на АРТ.

Работа выполнена в рамках проекта № 18-7-3-4-6-59, поддержанного Комплексной программой Уральского отделения Российской академии наук, номер госрегистрации темы: АААА-А18-118030790046-9».

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Autran B, Carcelain G., Li T.S., Blanc C., Renaud M., Durali M., Mathez D., Calvez V., Leibowitch J., Kattalma C., Debre P.* Restoration of immune system with anti-retroviral therapy. *Immunol. Lett.* 1999, 66, 207–211.
2. *Massanella M., Negredo E., Clotet B., Blanco J.* Immunodiscordant responses to HAART – mechanisms and consequences/ *Expert Rev/ Clin. Immunol.* 2013, 9, 1135–1149.
3. *Сайдакова Е. В., Шмагель К. В., Королевская Л. Б., Шмагель Н. Г., Гуляева Н. И., Фрейд Г. Г., Южанинова С. В., Черешнев В. А.* Пролиферация CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов при развитии дискордантного ответа иммунной системы на антиретровирусную терапию у ВИЧ-инфицированных больных. *Цитология*, 2018, 60(12), 1029–1036. [*E. V. Saidakova, K. V. Shmagel, L. B. Korolevskaya, N. G. Shmagel, N. I. Gulyaeva, G. G. Friend, S. V. Yuzhaninova, V. A. Chereshevnev.* CD4<sup>+</sup> T-cell cycling in HIV-infected patients with discordant immunologic response to the antiretroviral therapy. *Cytology*, 2018, 60(12), 1029–1036.]
4. *Bocharov G., Luzyanina T., Cupovic J., Ludewig B.* Asymmetry of cell division in CFSE-based lymphocyte proliferation analysis. *Front. Immunol.* 2013, 4, 264.
5. *Hansjee N., Kaufmann G. R., Strub C., Weber R., Battegay M., Erb P., and the Swiss HIV Cohort Study.* Persistent apoptosis in HIV-1-infected individuals receiving potent antiretroviral therapy is associated with poor recovery of CD4 T lymphocytes. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 2004, 36, 671–677.

## CD4<sup>+</sup> T-LYMPHOCYTE FUNCTION IS VIOLATED IN HIV-INFECTED PATIENTS WITH DISCORDANT RESPONSE TO ANTIRETROVIRAL THERAPY

© 2019 L. B. Korolevskaya\*, E. V. Saidakova

\*E-mail: bioqueen@mail.ru

*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia*

**Received:** 15.02.2019. **Accepted:** 28.02.2019

In HIV-infected patients with a discordant response to antiretroviral therapy, CD4<sup>+</sup> T-cell proliferative capacity, ability to synthesize IL-2, and resistance to apoptosis were assessed. It was shown that in those subjects, CD4<sup>+</sup> T-cells are characterized by a decreased mitotic activity and IL-2 production; and an increased rate of programmed death. Disorders found could be the basis for the ineffective CD4<sup>+</sup> T-cell counts restoration in patients with a discordant response to the treatment.

*Key words:* HIV infection, CD4<sup>+</sup> T lymphocytes, antiretroviral therapy, discordant response, proliferation, interleukin-2, apoptosis

### Authors:

**Korolevskaya L. B.**, ✉ PhD, research scientist of the Laboratory of Ecological Immunology at the Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia. **E-mail:** bioqueen@mail.ru;

**Saidakova E. V.**, PhD, junior research scientist of the Laboratory of Ecological Immunology at the Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia.

## ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ НА CD4 T-ЛИМФОЦИТАХ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

© 2019 г. Е. Г. Костоломова<sup>1,2\*</sup>, Ю. Г. Суховой<sup>1</sup>, И. Г. Унгер<sup>1</sup>, Т. В. Акунеева<sup>1</sup>,  
О. А. Кривоносова<sup>2</sup>, Т. В. Зенкова<sup>2</sup>, О. В. Макеева<sup>2</sup>, О. Ю. Швеца<sup>2</sup>

\*E-mail: lenakost@mail.ru

<sup>1</sup>ООО «Тюменский филиал института клинической иммунологии», Тюмень, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет»

Минздрава РФ, Тюмень, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

В исследовании изучена коэкспрессия CD69 и HLA-DR на синовиальных T-лимфоцитах при ревматоидном артрите. Полученные результаты позволяют предполагать, что в синовиальной жидкости происходит постоянная активация T-клеток, приводящая к экспрессии маркера CD69 на поверхности хронически стимулированных лимфоцитов только в месте воспаления.

**Ключевые слова:** проточная цитометрия, активационные маркеры, T-лимфоциты, ревматоидный артрит

DOI: 10.31857/S102872210006618-4

Адрес: 625027, Тюмень, ул. Котовского, 5. ООО «Тюменский филиал института клинической иммунологии», Костоломова Елена Геннадьевна, Тел. +79044930674 (моб.)  
E-mail: lenakost@mail.ru

### Авторы:

**Костоломова Е. Г.**, к.б.н., ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия;  
**Суховой Ю. Г.**, д.м.н., профессор, директор ООО «Тюменский филиал института клинической иммунологии», Тюмень, Россия;

**Унгер И. Г.**, к.м.н., в.н.с. ООО «Тюменский филиал института клинической иммунологии», Тюмень, Россия;

**Акунеева Т. В.**, с.н.с. ООО «Тюменский филиал института клинической иммунологии», Тюмень, Россия;

**Кривоносова О. А.**, студент ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия;

**Зенкова Т. В.**, студент ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия;

**Макеева О. В.**, студент ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия;

**Швец О. Ю.**, студент ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Тюмень, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Предполагают, что сценарий формирования ревматоидного артрита (РА) начинается с развития аутоиммунных реакций и продолжается

местным воспалением. CD4<sup>+</sup> T-клетки участвуют в распространении воспаления и повреждении тканей при РА. При РА регистрируется усиленная инфильтрация синовиальной полости T-лимфоцитами, преимущественно, аутореактивными CD4<sup>+</sup> T-клетками [1]. В научной литературе факт активации T-лимфоцитов активно обсуждается с позиций физиологической и иммунопатологической модуляции активности иммунного ответа. На основании исследований *in vitro* маркеры активации T-лимфоцитов были классифицированы как очень ранние (CD69), ранние (CD25) и поздние (HLA-DR) в зависимости от их экспрессии во времени после активации [2]. В связи с этим, логичным является выяснение роли активированных CD4<sup>+</sup> T-лимфоцитов в патогенезе РА.

**Цель исследования.** Оценить экспрессию мембранных молекул очень ранней (CD69), ранней (CD25) и поздней (HLA-DR) активации на CD4<sup>+</sup> T-лимфоцитах периферической крови и синовиальной жидкости у пациентов с впервые выявленным РА.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы крови и синовиальной жидкости были получены от 10 пациентов с диагнозом

ревматоидный артрит (впервые выявлен) (5 женщин, средний возраст  $35,2 \pm 7,4$  лет и 5 мужчин в средний возраст  $37,4 \pm 8,1$  лет). Верификация диагноза и набор пациентов в группы исследования осуществлялся в отделении ревматологии ГБУЗ ТО «ОКБ № 1». Постановка диагноза ревматоидного артрита была выполнена согласно приказу № 21 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным ревматоидным артритом» от 13 января от 2006 г. Группу контроля составили 10 здоровых доноров (5 женщин, средний возраст  $34,5 \pm 6,1$  лет и 5 мужчин, средний возраст  $36,3 \pm 8,3$  лет). Образцы синовиальной жидкости (СЖ) и периферической (ПК) крови отбирали в вакуумные пробирки с добавлением КЗЭДТА. СЖ обрабатывали гиалуронидазой (Sigma Chemical Co, США) в течение 20 мин при  $37^\circ\text{C}$  для снижения вязкости, затем смешивали с равным объемом среды RPMI 1640. Выделение мононуклеарных клеток (МНК) лейкоцитов из ПК и СЖ проводили стандартным методом центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографин («Pharmacia», Швеция) ( $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ ). МНК ПК и СЖ окрашивали моноклональными антителами против CD69, CD25, HLA-DR, CD3, CD4 (Beckman Coulter, США). После окрашивания образцы однократно отмывали избытком физиологического раствора при 1500 об/мин в течение 7 мин. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ «Excel» и «Statistica 7.0» для WinXP. Статистическую достоверность различий между двумя группами данных оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни при выбранном уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

CD69 – интегральный трансмембранный гликопротеин II типа, относится к лектинам С-типа. CD69 не экспрессируется на покоящихся лимфоцитах периферической крови, но появляется после активации лимфоцитов в течение 3 часов после антигенной стимуляции и достигает максимальной экспрессии между 18 и 24 часами. Как правило, в крови здоровых лиц обнаруживается не более чем 1–4%  $\text{CD4}^+\text{CD69}^+$  Т-клеток [3]. В рамках проведенного исследования CD69 был обнаружен на  $0,9 \pm 0,1\%$  Т-хелперов, находящихся в кровотоке здоровых доноров. В периферической крови и синовиальной жидкости экспрессия CD69 составила ( $2,9 \pm 0,3\%$ ,  $p < 0,001$  и  $54,5 \pm 3,2\%$  соответственно). Молекула CD25

является  $\alpha$ -цепью рецептора IL-2, экспрессируется на ранних этапах активации лимфоцитов [4]. В ПК здоровых доноров количество  $\text{CD4}^+$  Т-лимфоцитов, экспрессирующих на своей мембране активационную молекулу CD25, составило  $3,19 \pm 0,5\%$ . В группе интереса наблюдалось незначительное снижение количества Т-хелперов  $1,6 \pm 0,3\%$  ( $p < 0,05$ ). В СЖ данная субпопуляция составила  $6,8 \pm 0,6\%$ . HLA-DR – поверхностный маркер лимфоцитов, принадлежащий к молекулам гистосовместимости МНС II. HLA-DR является маркером не только поздней, начинает экспрессироваться на мембране клеток примерно с третьих суток после активации, но и длительной активации клеток, т.е. HLA-DR-позитивные лимфоциты продолжительно циркулируют в крови, а экспрессия этого маркера наиболее полно отражает активационное состояние клеток [4]. Число  $\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{HLA-DR}^+$  в ПК здоровых доноров составляло  $4,91 \pm 0,79\%$ . У пациентов с РА этот показатель возрастал до  $15,0 \pm 1,8\%$  при  $p < 0,001$ , в СЖ  $74,2 \pm 2,9\%$ . Нами были изучены все возможные коэкспрессии трех маркеров активации на Т-хелперах  $\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD69}^+\text{HLA-DR}^+$ ;  $\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{HLA-DR}^+$ ;  $\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD69}^+\text{CD25}^+$ . Число данных субпопуляций у больных с РА в ПК не отличалось от контрольных значений. В СЖ количество  $\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD69}^+\text{HLA-DR}^+$  клеток в группе интереса составило  $71,74 \pm 1,9\%$ ;  $\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{HLA-DR}^+$  ( $5,51 \pm 0,4\%$ );  $\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD69}^+\text{CD25}^+$  ( $4,70 \pm 0,8\%$ ) соответственно. Согласно представленным нами данным коэкспрессия маркеров CD69 и HLA-DR активации на синовиальных  $\text{CD4}^+$  Т-лимфоцитах от пациентов с РА, достигает высокой степени позитивности. В то же время не было обнаружено параллельного увеличения маркера ранней CD25 на Т-хелперах в СЖ. Это может свидетельствовать о ранней стадии истощения резервов данной популяции клеток при хроническом воспалении и постоянной активации иммунной системы [5]. Фактически, среди подгрупп, оцененных в настоящем исследовании,  $\text{CD4}^+\text{CD69}^+\text{HLA-DR}^+$  Т-клетки были наиболее представлены в СЖ. Наши данные согласуются с данными, полученными другими авторами [6]. Возможно, что при РА активация синовиальных Т-лимфоцитов следует альтернативным путем. Помимо посредничества притока  $\text{Ca}^{++}$ , CD69 избирательно активирует цитозольную фосфолипазу A2 (PLA2) с последующим образованием окисленных метаболитов арахидоновой кислоты [7].

Полученные нами результаты позволяют предполагать, что в СЖ при РА происходит постоян-

ная активация Т-клеток, что приводит к экспрессии очень раннего активационного маркера на поверхности хронически стимулированных лимфоцитов только в месте воспаления.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Veale D. J.* Cellular and molecular perspectives in rheumatoid arthritis / D. J. Veale, C. Orr, U. Fearon // *Semin Immunopathol.*— 2017. doi: 10.1007/s00281-017-0633-1.
2. *Moore T. L.* Immune Complexes in Juvenile Idiopathic Arthritis / T. L. Moore // *Front Immunol.*— 2016.— Vol. 7.— P. 177. doi: 10.3389/fimmu.2016.00177.
3. *Shipkova M., Wieland E.* Surface markers of lymphocyte activation and markers of cell proliferation. *Clin. Chim. Acta.*, 2012, vol. 413, no. 17–18, pp. 1338–1349.
4. *Wieland E., Shipkova M.* Lymphocyte surface molecules as immune activation biomarkers // *Clin Biochem.*— 2016.— Vol. 49(4–5).— P. 347–354.
5. *Череев Н. А., Горлина Н. К., Козлов И. Г.* CD-маркеры в практике клинико-диагностических лабораторий // *Клиническая лабораторная диагностика.*— 1999, № 6. С. 24–31. [*Cheredeev A. N., Gorlina N. K., Kozlov I. G.* CD-markers in the practice of clinical diagnostic laboratories]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*— *Clinical Laboratory Diagnostics*, 1999, no. 6, pp. 25–31.]
6. *Yamada H., Nakashima Y., Okazaki K., Mawatari T., Fukushi J., Oyamada A., Fujimura K., Iwamoto Y., Yoshikai Y.* Preferential Accumulation of Activated Th1 Cells Not Only in Rheumatoid Arthritis But Also in Osteoarthritis Joints // *The Journal of Rheumatology.*— 2011.— Vol. 38, № 8.— P. 1569–1575.
7. *Testi R., Pulcinelli F. M., Cifone M. G., Trotta R., Torelli G., Demaria R., Frati L., Santoni A.* Signaling in T lymphocytes: a possible accessory pathway initiated at the CD69 receptor. *J. Immunol. Res.* 1992, 4, 111–117.

### FLOW CYTOMETRIC ANALYSIS EXPRESSION MARKERS OF ACTIVATION ON CD4 T-LYMPHOCYTES AT RHEUMATOID ARTHRITIS

© 2019 E. G. Kostolomova<sup>1,2\*</sup>, U. G. Suhovej<sup>1</sup>, I. G. Unger<sup>1</sup>, T. V. Akuneeva<sup>1</sup>, O. A. Krivonosova<sup>2</sup>, T. V. Zenkova<sup>2</sup>, O. V. Makeeva<sup>2</sup>, O. J. Shvets<sup>2</sup>

\*E-mail: lenakost@mail.ru

<sup>1</sup>«Tyumen filial of the Institute Clinical Immunology», Tyumen, Russia;

<sup>2</sup>FSBEI of Higher Education «Tyumen state medical university» of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Tyumen, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 26.03.2019

In research, it is studied coexpression CD69 and HLA-DR on sinovial T-lymphocytes at rheumatoid arthritis. The received results allow to assume, that in sinovial fluid there is a constant activation of T-cell that leads expression a marker CD69 on a surface chronically it stimulates lymphocytes only at the location the inflammation.

*Key words:* the activation markers, flow cytometry, T-lymphocytes, rheumatoid arthritis

#### Authors:

**Kostolomova E. G.**, ☒ PhD (Biology), the assistant to faculty of pathological physiology FSBEI of Higher Education «Tyumen state medical university» of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Tyumen, Russia. **E-mail:** lenakost@mail.ru;

**Suhovej J. G.**, MD (Medicine), Professor, Director «Tyumen filial of the Institute Clinical Immunology», Tyumen, Russia;

**Unger I. G.**, PhD (Medicine), leading research associate «Tyumen filial of the Institute Clinical Immunology», Tyumen, Russia;

**Akuneeva T. V.**, senior research associate «Tyumen filial of the Institute Clinical Immunology», Tyumen, Russia;

**Krivonosova O. A.** student FSBEI of Higher Education «Tyumen state medical university» of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Tyumen, Russia;

**Zenkova T. V.**, student FSBEI of Higher Education «Tyumen state medical university» of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Tyumen, Russia;

**Makeeva O. V.**, student FSBEI of Higher Education «Tyumen state medical university» of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Tyumen, Russia;

**Shvets O. J.**, student FSBEI of Higher Education «Tyumen state medical university» of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Tyumen, Russia.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

© 2019 г. А. В. Костюшко<sup>1\*</sup>, А. А. Яковлев<sup>2</sup>, А. И. Абакумов<sup>3</sup>,  
Е. А. Чагина<sup>1</sup>, А. С. Харина<sup>1</sup>, Д. Д. Сотникова<sup>1</sup>

\*E-mail: patphis-vl@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия;

<sup>3</sup>Институт автоматики и процессов управления Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 29.03.2019

Иммунотропные препараты Лейкинферон и Ронколейкин влияют на показатели цитокинового статуса при пневмонии, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, в эксперименте.

**Ключевые слова:** госпитальная пневмония, *Pseudomonas aeruginosa*, цитокины, Лейкинферон, Ронколейкин

DOI: 10.31857/S102872210006619-5

Адрес: 690002 Владивосток, проспект Острякова, д. 4, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», кафедра нормальной и патологической физиологии. Костюшко Анна Валерьевна. Тел.: +7(423) 245 07 00

E-mail: patphis-vl@mail.ru

Авторы:

**Костюшко А. В.**, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Россия;

**Яковлев А. А.**, аспирант Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Россия

**Абакумов А. И.**, д.ф.-м.н., главный научный сотрудник Института автоматики и процессов управления Дальневосточного отделения РАН, Владивосток, Россия;

**Чагина Е. А.**, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Россия;

**Харина А. С.**, студент ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Россия;

**Сотникова Д. Д.**, студент ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Россия.

Одной из актуальных проблем медицины является внутрибольничная пневмония, которая чаще всего встречается среди госпитальных инфекций, что в значительной степени ухудшает течение основного заболевания, а также может привести к летальному исходу [1, 2]. Кроме того, несмотря на разнообразие патогенных

микроорганизмов, чаще всего возбудителем является *P. aeruginosa* [3, 4]. Наличие иммунопатогенетических механизмов в развитии заболевания обуславливает необходимость исследования и применения в практике эффективных иммуномодуляторов для лечения внутрибольничной пневмонии [4, 5].

**Цель исследования.** Проанализировать динамику оппозитных цитокинов (ИФН- $\gamma$  и ИЛ-10) в сыворотке крови для оценки эффектов применения препаратов Лейкинферон и Ронколейкин при экспериментальной пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 6 групп мышей. Первую группу составлял здоровый контроль, вторую – мыши, заражённые патогенным штаммом *P. aeruginosa*, выделенным из бронхоальвеолярной жидкости больных внутрибольничной пневмонией, третью – здоровые животные, получавшие внутримышечно в течение 5 дней Лейкинферон в дозе 1300 МЕ 1 раз в день, четвертой группой были незараженные животные, которым подкожно вводили Ронколейкин в дозе 1300 МЕ 1 раз в трое суток, курс 2 инъекции, начиная с первого дня эксперимента. Пятой группой составили мыши, заражённые *P. aeruginosa*, полу-

чавшие внутримышечно Лейкинферон с первого дня заражения в той же дозе, как и животные третьей группы. Шестую группу составили мыши, заражённые *P. aeruginosa*, которым вводили подкожно Ронколейкин с первого дня заражения, аналогично четвертой группе. ИФН- $\gamma$  и ИЛ-10 исследовали в сыворотке крови на 1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки эксперимента. Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью программы SPSS (v.17.0) с использованием W-критерия Вилкоксона и U-критерия Манна-Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами зафиксировано достоверное снижение ИФН- $\gamma$  с  $7,19 \pm 1,15$  пг/мл до  $3,14 \pm 0,59$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) к концу первых суток с момента заражения мышей *P. aeruginosa*. К 3 суткам происходило дальнейшее снижение ИФН- $\gamma$  ( $2,8 \pm 0,72$  пг/мл,  $p > 0,05$ ), достигая отметки  $1,22 \pm 0,2$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) на 5 сутки. На 7 сутки регистрировался минимальный уровень ИФН- $\gamma$  —  $0,45 \pm 0,08$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). *P. aeruginosa* приводит к выраженному снижению и ИЛ-10, которое определено на протяжении всего эксперимента. Содержание ИЛ-10 к концу первых суток составило  $2,29 \pm 0,85$  пг/мл (в группе здорового контроля  $15,55 \pm 0,83$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). К 7 суткам показатель достиг отметки  $1,14 \pm 0,19$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Начиная с 10 суток зафиксировано достоверное увеличение ИЛ-10 —  $9,65 \pm 1,05$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), 14 сутки —  $10,05 \pm 1,56$  пг/мл, но уровень ИЛ-10 оставался ниже ( $p < 0,05$ ), чем в контроле. Было зафиксировано, что к концу первых суток ИФН- $\gamma$  имеет тенденцию к увеличению под влиянием Лейкинферона ( $5,63 \pm 0,51$  пг/мл,  $p > 0,05$ ) и практически не изменяется на протяжении 10 суток эксперимента. Однако, на 14 сутки эксперимента уровень ИФН- $\gamma$  составил  $2,64 \pm 0,69$  пг/мл. В то же время уровень ИЛ-10 под влиянием Лейкинферона к концу первых суток значительно увеличился ( $19,9 \pm 2,49$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), еще больше нарастая к 5 суткам эксперимента —  $34,44 \pm 3,14$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Далее происходило стремительное снижение уровня ИЛ-10, составив к 14 суткам эксперимента  $3,81 \pm 0,8$  пг/мл ( $p < 0,001$ ). Лейкинферон приводит к раннему значительному снижению уровня ИФН- $\gamma$  у мышей, зараженных *P. aeruginosa* ( $0,31 \pm 0,04$  пг/мл). Применение Лейкинферона на фоне заражения приводит к увеличению концентрации ИФН- $\gamma$  к 7 суткам эксперимента ( $4,74 \pm 0,14$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). Наибольший уровень ИФН- $\gamma$  в группе зараженных мышей, получавших Лейкинферон, зафиксиро-

ван на 10 сутки эксперимента ( $3,02 \pm 0,41$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). Назначение Лейкинферона в тот же день, когда производилось заражение мышей *P. aeruginosa*, не позволяло ИЛ-10 значительно снижаться ( $2,29 \pm 0,85$  пг/мл у зараженных мышей и  $15,40 \pm 0,8$  пг/мл у зараженных мышей, получавших Лейкинферон, соответственно,  $p < 0,001$ ). Зафиксировано достоверное увеличение уровня ИЛ-10 на 7 сутки эксперимента при применении Лейкинферона у зараженных мышей ( $24,72 \pm 2,73$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). Повышенный уровень ИЛ-10 сохранялся до конца эксперимента. Ронколейкин приводит к значительному снижению уровня провоспалительного ИФН- $\gamma$  при сравнении с группой здорового контроля. Однако, уже к 3 суткам ИФН- $\gamma$  становится достоверно выше ( $6,49 \pm 0,13$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). Далее на протяжении всего эксперимента ИФН- $\gamma$  был выше, чем в группе здорового контроля, достигая уровня  $11,12 \pm 1,46$  пг/мл к 14 суткам. Ронколейкин также приводил к снижению уровня ИЛ-10 к концу 1 суток эксперимента ( $10,6 \pm 0,62$  пг/мл против  $15,55 \pm 0,83$  пг/мл у здорового контроля,  $p < 0,05$ ). К 5 суткам было зарегистрировано значительное увеличение уровня ИЛ-10 под его влиянием ( $23,64 \pm 3,06$  пг/мл), однако на 7 сутки фиксировалось такое же выраженное снижение ИЛ-10 (до  $8,71 \pm 1,16$  пг/мл,  $p < 0,05$ ), с достоверным увеличением его значений к 10 суткам эксперимента ( $19,01 \pm 2,86$  пг/мл,  $p < 0,05$ ). Было зафиксировано, что Ронколейкин не приводит к увеличению уровня ИФН- $\gamma$  на фоне заражения, напротив, происходит его снижение до  $1,98 \pm 0,1$  пг/мл,  $p < 0,05$ . К 3 суткам эксперимента зафиксировано дальнейшее снижение уровня ИФН- $\gamma$  ( $1,21 \pm 0,72$  пг/мл,  $p > 0,05$ ). Наиболее выраженное угнетение ИФН- $\gamma$  под влиянием *P. aeruginosa* наблюдалось на 7 сутки эксперимента ( $0,45 \pm 0,08$  пг/мл). Рекомбинантный ИЛ-2 приводил к увеличению ИФН- $\gamma$  на фоне заражения до  $2,33 \pm 0,19$  пг/мл,  $p < 0,05$ . На 10 и 14 сутки эксперимента показатели ИФН- $\gamma$  обеих групп практически не отличались между собой. Ронколейкин, на фоне заражения *P. aeruginosa*, оказывает стимулирующий эффект на ранний противовоспалительный цитокиновый ответ.

## ВЫВОДЫ

Раннее назначение Лейкинферона при пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, не рационально, так как приводит к значительному угнетению провоспалительного цитокинового ответа, начиная с конца 1 суток эксперимента. Ронколейкин не позволяет выраженно угнетать про-

воспалительный ответ организма при развитии пневмонии, вызванной *P. aeruginosa*, и приводит к активации противовоспалительных механизмов уже к 5 суткам после заражения. Таким образом, данный иммуномодулятор эффективен в плане инициации адекватного иммунного ответа при пневмонии, вызванной *P.aeruginosa*.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Борисов И. М., Серговецев А. А. Терапия госпитальной пневмонии // Главный врач Юга России. 2013. N5 (36). С. 51–54. [Borisov I. M., Sergovencev A. A. Therapy of hospital pneumonia // Chief physician of the South of Russia. 2013. N5 (36). С. 51–54.]
2. Царев В. П., Крыжановский В. Л. Госпитальные пневмонии // Лечебное дело. 2012. N6 (28). С. 27–38. [Tsarev V. P., Kryzhanovsky V. L. Hospital pneumonia // Medical care. 2012. N6 (28). С. 27–38.]
3. Иванов Д. В., Бунятян Н. Д., Утешев Д. Б., Корсун Л. В. Особенности антибиотикочувствительности важнейших грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2009. N2. С. 26–29. [Ivanov D. V., Bunyatyan N. D., Uteshev D. B., Korsun L. V. Features of antibiotic sensitivity of the most important gram-negative pathogens of nosocomial infections // Bulletin of the Russian State Medical University. 2009. N2. С. 26–29.]
4. Martin-Loeches I., Deja M., Koulenti D., Dimopoulos G., Marsh B., Torres A., Niederman M. S., Rello J. Potentially resistant microorganisms in intubated patients with hospital-acquired pneumonia: the interaction of ecology, shock and risk factors // Intensive Care Med. 2013. Vol. 39. N4. P. 672–681.
5. Байгозина Е. А., Совалкин В. И., Долгих В. Т. Диагностическое и прогностическое значение интерферонового статуса при нозокомиальной пневмонии // Омский научный вестник. 2013. N1 (118). С. 113–115. [Baygozina EA, Sovalkin V. I., Dolgikh V. T. Diagnostic and prognostic value of interferon status in nosocomial pneumonia // Omsk Scientific Herald. 2013. N1 (118). С. 113–115.]

### ASSESSMENT OF THE EFFICACY OF IMMUNOMODULATORS IN EXPERIMENTAL PNEUMONIA

© 2019 A. V. Kostyushko<sup>1\*</sup>, A. A. Yakovlev<sup>2</sup>, A. I. Abakumov<sup>3</sup>,  
E. A. Chagina<sup>1</sup>, A. S. Kharina<sup>1</sup>, D. D. Sotnikova<sup>1</sup>

\*E-mail: patphis-vl@mail.ru

<sup>1</sup>Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia;

<sup>2</sup>Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia;

<sup>3</sup>Institute of Automation and Control Processes of Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 29.03.2019

Leukinferon and Roncoleukin affects cytokine status in pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa* in the experiment.

*Key words:* nosocomial pneumonia, Leukinferon, Roncoleukin, *Pseudomonas aeruginosa*, cytokines

#### Authors:

**Kostyushko A. V.**, ✉ associate professor department of normal and pathological physiology, Pacific State Medicine University, Vladivostok, Russia. E-mail: patphis-vl@mail.ru;

**Yakovlev A. A.**, PhD student of Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia;

**Abakumov A. I.**, main researcher of Institute of Automation and Control Processes of Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Physics and Mathematics, Vladivostok, Russia;

**Chagina E. A.**, associate professor department of normal and pathological physiology, Pacific State Medicine University, Vladivostok, Russia;

**Kharina A. S.**, student of Pacific State Medicine University, Vladivostok, Russia;

**Sotnikova D. D.**, student of Pacific State Medicine University, Vladivostok, Russia.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ЛОКАЛЬНОГО ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭТИОЛОГИИ

© 2019 г. А. С. Красницкая, О. С. Бочарова\*, Ю. Ю. Первов, Т. Н. Климкина

\*E-mail: osbocharova@mail.ru

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Владивосток, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 03.04.2019

Хронический тонзиллит на сегодняшний день является одной из самых распространенных патологий ЛОР-органов. В нашем исследовании произведен анализ содержания цитокинового статуса в смывных водах с небных миндалин у 164 пациентов в возрасте от 18 до 61 года с этим диагнозом. Пациенты были разделены на группы в зависимости от этиологии заболевания. На основании полученных данных можно более точно сделать вывод о вирусном течении процесса и оценки эффективности проводимой терапии.

**Ключевые слова:** хронический тонзиллит, цитокины, ВЭБ-инфекция

DOI: 10.31857/S102872210006620-7

**Адрес:** 690002, Российская Федерация, Дальневосточный федеральный округ, Приморский край, г. Владивосток, проспект Острякова, дом 2. Бочарова Ольга Сергеевна.

Телефон: 8 908 446 95 14 (моб.).

**E-mail:** osbocharova@mail.ru

**Авторы:**

**Красницкая А. С.**, к.м.н., врач отоларинголог клиники «Аквалор», Владивосток, Россия;

**Бочарова О. С.**, ассистент института стоматологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Первов Ю. Ю.**, д.м.н., доцент, директор института стоматологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Климкина Т. Н.**, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Известно, что хронический тонзиллит – инфекционно-воспалительное заболевание с локализацией хронического очага инфекции в небных миндалинах с периодическими обострениями в виде ангин. Актуальность исследования продиктована тем, что воспалительные заболевания лимфоидного кольца глотки продолжают занимать одно из ведущих мест в общей структуре патологии ЛОР-органов и встречаются в 4–15% случаев [1, 2]. Учитывая, что небные миндали-

ны находятся непосредственно в ротовой полости, важно исследовать уровень цитокинов в смывных водах с небных миндалин – данная биологическая жидкость является комплексным секретом, состоящим из секрета слюнных желез и ряда компонентов не слюнного происхождения (жидкость зубодесневого желобка, сывороточных компонентов и клеток крови, бактерий и продуктов их жизнедеятельности, слущенного эпителия и клеточных компонентов, вирусов и грибов, остатков пищи, бронхиальных секретов и медиаторов воспаления). Известна роль системы цитокинов в реализации противоинфекционного иммунитета [3].

В нашем исследовании произведен анализ содержания ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-17, ИФН $\gamma$ , ИЛ-2 и его растворимого рецептора, а также ИЛ-10, ИЛ-4 и ТФР- $\beta$ 1 в смывных водах с небных миндалин у пациентов с хроническим тонзиллитом.

**Целью** данного исследования явилась оценка локального цитокинового профиля у пациентов с хроническим тонзиллитом в зависимости от этиологии.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На клинических базах Владивостокского государственного медицинского университета

КГБУЗ ВКББ № 1 и «Профессорская клиника Юцковских» методом случайной выборки углубленно было обследовано 164 человека в возрасте от 18 до 61 года, с диагнозом хронический тонзиллит, верифицированном на основании жалоб, анамнестических данных, клинической картины инструментальных, лабораторных и бактериологических исследований, исследования материала из зева. Группы распределялись в зависимости от этиологического фактора. У 30 человек диагностирована ВЭБ-инфекция (I группа), у 64 человек – ВЭБ-инфекция и *Streptococcus pyogenes* (II группа), у 70 человек – *S. Pyogenes* (III группа). Контрольную группу составили 50 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту без клинических признаков хронического тонзиллита. Забор смывных вод с небных миндалин осуществляли после полоскания пациентами ротоглотки физиологическим раствором (Sol. NaCl 0,9%) с помощью специального шприца с длинной загнутой канюлей, конец которой вводили в устье лакун, после чего нагнетали его в количестве 10 мл. Он смывал содержимое лакун и изливался в полость рта и глотки, а затем отплевывался больным в стерильный контейнер. Смывные воды с небных миндалин центрифугировали в течение 15 минут (3000 об/мин), после чего собирали надосадочные воды для исследования содержания цитокинов. Цитокины определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, используя реактивы «R&D Diagnostic» Inc., США. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора (Multiscan, Финляндия). Содержание цитокинов в смывных водах с небных миндалин исследовано у больных с хроническим тонзиллитом в период разгара заболевания (1-й день болезни), угасания клинических симптомов (7-й день болезни), и в период реконвалесценции (28-й день). Статистическая обработка материалов проведена непараметрическими методами.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наименьший уровень ИЛ-10 и ИФН $\gamma$  зафиксирован у пациентов с бактериальной флорой, однако значение данных цитокинов выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Однако именно у пациентов этой группы выявлено максимальное содержание ИЛ-6 ( $p < 0,05$ ). Сравнительный анализ результатов цитокинового профиля смывных вод с небных миндалин характеризует более значимое увеличение значений ИЛ-1 $\beta$ , ИФН $\gamma$ , ИЛ-10, ИЛ-4 и ТФР- $\beta$ 1

у пациентов в ВЭБ-инфекцией. Причем значения ИЛ-1 $\beta$ , ИФН $\gamma$  и ИЛ-10 достоверно выше у женщин, чем у мужчин. Уровень ИЛ-2 и его растворимого рецептора повышен у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией и смешанной микрофлорой. При анализе показателей ИЛ-17 определено его достоверное увеличение во всех исследуемых группах. Однако не установлено статистически значимых различий уровня данного цитокина между сравниваемыми группами. Уровень ИЛ-2 и его растворимого рецептора в группе I и II достоверно выше, чем в группе III и группе контроля ( $p < 0,05$ ). Однако и в III группе содержание этих медиаторов превышало контрольные значения. При оценке уровня противовоспалительных цитокинов выявлено достоверное повышение уровня ИЛ-10, ИЛ-4 и ТФР- $\beta$ 1 у пациентов с хроническим тонзиллитом, ассоциированным с ВЭБ-инфекцией по сравнению с пациентами II, III группы и группы контроля ( $p < 0,05$ ).

На основании полученных данных можно сделать вывод что показатели цитокинового статуса могут быть использованы в клинике для мониторинга хронического тонзиллита и оценки эффективности проводимой терапии. Повышение в смывах с небных миндалин уровней ИЛ-1 $\beta$  более 19 пг/мл и ИЛ-10 более 15 пг/мл в 1 сутки свидетельствует о вирусной этиологии заболевания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Акимкин В. Г., Брико Н. И., Малиновский А. А., Коротченко С. И., Алимов А. В., Кочетков А. В., Волгин А. Р., Шевцов В. А., Мосягин В. Д., Крыжановский В. Г. Клинико-эпидемиологическая характеристика стрептококковой (группы а) инфекции в воинских коллективах // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы.— 2011.— № 2.— С. 18–20. [Akimkin V. G., Briko N. I., Malinovsky A. A., Kоротchenko S. I., Akimov A. V., Kochetkov A. V., Volgin A. R., Shevtsov V. A., Mosyagin V. D., Kryzhanovsky V. G. Clinical and epidemiological characteristics of streptococcal (group a) infection in military collectives // Epidem. and infection. diseases. Aktualnie voprosi.— 2011.— № 2.— p. 18–20].
2. Плавинский С. Л. Биостатика: планирование, обработка и представление результатов биомедицинских исследований при помощи системы SAS.— СПб., 2005.— 560 с. [Plavinsky S. L. Biostatistics: planning, processing and presentation of the results of biomedical research using the SAS system.— SPb., 2005.— 560 p.]
3. Сибирцев А. С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека.— СПб., Фолиант, 2018.— 512 с. [Sibircev A. S. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases.— SPB., Foliant, 2018.— 512 p.]

## CHARACTERISTICS OF LOCAL CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH CHRONIC TONSILLITIS DEPENDING ON ETIOLOGY

© 2019 A. S. Krasnitskaya, O. S. Bocharova\*, Y. Y. Pervov, T. N. Klimkina

\*E-mail: osbocharova@mail.ru

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Pacific State Medical University» Ministry of Health Russia, Vladivostok, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 03.04.2019

Chronic tonsillitis today is one of the most common pathologies of ENT organs. In our study, the content of cytokine status in the wash water from the Palatine tonsils was analyzed in 164 patients aged 18 to 61 years with this diagnosis. Patients were divided into groups depending on the etiology of the disease. Based on the data obtained, we can more accurately conclude about the viral course of the process and evaluate the effectiveness of the therapy.

*Key words:* chronic tonsillitis, cytokines, EBV infection

### Authors:

**Krasnitskaya A. S.**, candidate of medical sciences, chief doctor of the clinic «Aqualor», Vladivostok, Russia;

**Bocharova O. S.**, ✉ assistant of the Institute of dentistry Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Pacific state medical university» Ministry of Health Russia, Vladivostok, Russia. **E-mail:** osbocharova@mail.ru;

**Pervov Y. Y.**, doctor of medicine sciences, associate professor, director of the Institute of dentistry Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Pacific state medical university» Ministry of Health Russia, Vladivostok, Russia;

**Klimkina T. N.**, candidate of medical sciences, associate professor of normal and pathological physiology Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Pacific state medical university» Ministry of Health Russia, Vladivostok, Russia.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ НАЗНАЧЕНИЯ АЛЛОИММУНИЗАЦИИ В ЛЕЧЕНИИ ИДИОПАТИЧЕСКОГО ПРИВЫЧНОГО ВЫКИДЫША

© 2019 г. Л. В. Кречетова\*, Н. К. Тетруашвили, В. В. Вторушина,  
М. А. Николаева, Л. В. Ванько

\*E-mail: k\_l\_v@mail.ru

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии  
и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия

Поступила: 25.02.2019. Принята: 12.03.2019

Представлены результаты анализа субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови женщин с идиопатическим привычным выкидышем (ИПВ) в процессе лечения с использованием лимфоцитоиммунотерапии (ЛИТ). Показана зависимость реализации репродуктивной функции женщин с ИПВ от состояния клеточного звена иммунной системы, обоснована правомочность использования термина «аллоиммунный генез привычного выкидыша», выявлены показатели для персонализированного назначения ЛИТ и показатели благоприятного прогноза пролонгирования беременности.

**Ключевые слова:** привычный выкидыш, иммуноцитотерапия, субпопуляции лимфоцитов

DOI: 10.31857/S102872210006621-8

Адрес: 117997 г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4., ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии, Кречетова Любовь Валентиновна.

Тел.: 8 (495) 438 11 83

E-mail: k\_l\_v@mail.ru

**Авторы:**

**Кречетова Л. В.**, к.м.н., заведующий лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Тетруашвили Н. К.**, д.м.н., заведующая 2-м отделением патологии беременности ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Вторушина В. В.**, к.м.н., врач КЛД лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Николаева М. А.**, д.б.н., внс лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Ванько Л. В.**, д.м.н., профессор, внс лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский

исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

В проблеме привычного невынашивания беременности особое место занимает диагностика идиопатического привычного выкидыша (ИПВ). Взгляд на плод как полуаллогенный трансплантат инициировал как поиск маркеров иммунных нарушений при ИПВ среди маркеров отторжения аллотрансплантата, так и использование в лечении ИПВ лимфоцитоиммунотерапии (ЛИТ). Несмотря на 40-летнюю историю исследований, нет единого мнения об иммунологических критериях назначения ЛИТ. Целью данной работы было изучение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови при аллоиммунизации женщин с ИПВ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вне беременности обследованы 116 женщин с ИПВ, которым ранее ЛИТ не проводили. В контрольной группе обследовано 28 фертиль-

ных женщин и 85 женщин с физиологическим течением беременности. В обеих группах возраст женщин — от 20 до 40 лет, у супругов — нормальный кариотип, у партнера — нормозооспермия. Женщинам с ИПВ вводили 50 млн. лимфоцитов супруга внутривенно в прегравидарной подготовке дважды с интервалом в один месяц и в первом триместре на сроке в 5–6 недель и 8–9 недель. Фенотипирование лимфоцитов периферической крови осуществляли методом проточной цитометрии. Оценивали содержание основных субпопуляций Т-, В-, В1-, NK- и CD200<sup>+</sup>-лимфоцитов. FOXP3<sup>+</sup>-Трег клетки определяли как субпопуляцию с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low/-</sup>. Оценивали долю Трег среди CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов. Статистическую обработку данных производили общепринятыми методами вариационной статистики с использованием Microsoft Office Excel 2007 и MedCalc12.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После проведенной прегравидарной подготовки беременность наступила у 90 (77,6%) женщин, роды живым плодом были у 77 (85,6%), преждевременные — у 8 (8,9%), 10 женщин потеряли беременность в I триместре. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови женщин с ИПВ характеризуется высоким содержанием NK- и CD200<sup>+</sup>-лимфоцитов и низким — Трег-клеток [1]. Прегравидарная аллоиммунизация не изменяет обнаруженных закономерностей. В I триместре у женщин с пролонгированной беременностью обнаружена динамика в содержании CD200<sup>+</sup>- и Трег-клеток, и в сроках от 12 недель до родов субпопуляционный состав лимфоцитов сходен с контрольным. Показано, что содержание в 12 недель Трег  $\leq 7,5\%$  с чувствительностью 100% и специфичностью 61,5% (AUC 0,808;  $p < 0,002$ ) прогнозирует развитие осложнений с последующим досрочным родоразрешением; а уровень NK-клеток вне бе-

ременности (CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>  $< 12,2\%$ , специфичность 66,7%, чувствительность 83,3%, AUC 0,743;  $p = 0,017$ ) и уровень NK- и CD200<sup>+</sup>-клеток в 5–6 недель гестации (CD56<sup>+</sup>  $< 10,3\%$ , специфичность 100%, чувствительность 77,3%, AUC 0,932;  $p < 0,0001$ , CD200<sup>+</sup>  $< 8,9\%$  специфичность 95,5%, чувствительность 66,7%, AUC 0,845;  $p < 0,0005$ ) прогнозирует раннюю потерю беременности, что позволяет предложить перечисленные показатели в качестве основы персонализированного подхода к назначению ЛИТ [2]. Полученные результаты указывают на зависимость реализации репродуктивной функции женщин с ИПВ от состояния клеточного звена их иммунной системы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ // REFERENCES

1. Кречетова Л. В., Хачатрян Н. А., Тетруашвили Н. К., Вторушина В. В., Степанова Е. О., Николаева М. А., Сухих Г. Т. Особенности фенотипа лимфоцитов периферической крови женщин с привычным выкидышем // Акушерство и гинекология. — 2014. — № 10. — С. 27–33. [Krechetova L. V., Khachatryan N. A., Tetruashvili N. K., Vtorushina V. V., Stepanova E. O., Nikolaeva M. A., Sukhikh G. T. Phenotypic characterization of peripheral blood lymphocyte of woman with recurrent pregnancy loss. Akusherstvo i ginekologiya, 2014; 10: 27–33.]
2. Л. В. Кречетова, Н. К. Тетруашвили, В. В. Вторушина, М. А. Николаева, Н. А. Хачатрян, А. А. Агаджанова, Л. В. Ванько, Т. Ю. Иванец, Г. Т. Сухих. Особенности фенотипа лимфоцитов периферической крови женщин с идиопатическим привычным выкидышем в зависимости от исхода беременности на фоне иммуноцитотерапии // Акушерство и гинекология. — 2017. — № 7. — С. 52–60. [Krechetova L. V., Tetruashvili N. K., Vtorushina V. V., Nikolaeva M. A., Khachatryan N. A., Agadzhanova A. A., Vanko L. V., Ivanets T. Y., Sukhikh G. T. Phenotypic characterization of peripheral blood lymphocyte of woman with recurrent pregnancy loss and outcome of pregnancy after immunocytotherapy. Akusherstvo i ginekologiya, 2017; № 7: 52–60.]

**THE IMMUNOLOGICAL INDICATORS OF PERSONALIZED  
PRESCRIPTIONS FOR ALLOIMMUNIZATION IN THE THERAPY  
OF IDIOPATHIC RECCURENT MISCARRIAGE**

© 2019 **L. V. Krechetova\***, **N. K. Tetrushvili**, **V. V. Vtorushina**,  
**M. A. Nikolaeva**, **L. V. Vanko**

*\*E-mail: k\_l\_v\_@mail.ru*

*National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology  
named after Academician V. I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation,  
Moscow, Russia*

**Received:** 25.02.2019. **Accepted:** 12.03.2019

This article represents the results of the lymphocyte's subpopulation analysis of women with idiopathic recurrent pregnancy loss (RPL) after lymphocyte immune therapy (LIT). It reveals the dependence of successful childbearing in women with RPL on the cellular immune system, validates the term of alloimmune genesis of recurrent miscarriage is eligible. It identifies the indicators for personalized prescriptions for LIT and indicators of favorable prognosis of successful pregnancy in woman with RPL after LIT.

*Key words:* recurrent pregnancy loss, lymphocyte immunotherapy, lymphocyte's subpopulations

**Authors:**

**Krechetova L. V.**, ✉ Ph.D. in medical sciences, Head of Laboratory of Clinical Immunology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia. **E-mail:** k\_l\_v\_@mail.ru;

**Tetrushvili N. K.**, Doctor of Medicine, Head of the Department of Pregnancy Loss Prevention and Therapy, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia;

**Vtorushina V. V.**, Ph.D. in medical sciences, doctor of laboratory diagnostics in Laboratory of Clinical Immunology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia;

**Nikolaeva M. A.**, Doctor of Science, Leading researcher, Laboratory of Clinical Immunology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia;

**Vanko L. V.**, doctor of medicine, professor, leading research worker of clinical immunology laboratory National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia.

## АНАЛИЗ ЦИТОКИНОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2019 г. Н. В. Крошкина, А. В. Куст\*, Е. В. Козелкова

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 13.03.2019

В 5–12 недель гестации исследовали уровень IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , GM-CSF в периферической крови женщин с привычным невынашиванием и с неосложненным течением беременности. Установлено, что при привычном невынашивании беременности в сыворотке крови повышалось содержание IL-1 $\beta$ , IL-22, IL-23 и IL-27 и имелись тенденции к повышению сывороточной концентрации IL-10 и IL-13.

**Ключевые слова:** привычное невынашивание беременности, цитокины

DOI: 10.31857/S102872210006622-9

**Адрес:** 153045 Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии, Куст Алена Валерьевна.

Тел.: +79109962148 (моб.).

**E-mail:** niimid.immune@mail.ru

**Авторы:**

**Крошкина Н. В.**, к.б.н., н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Куст А. В.**, аспирант лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ив НИИ Мид им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Козелкова Е. В.**, аспирант кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ив НИИ Мид им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

Любая успешная беременность является результатом сложной координации взаимодействия между иммунными клетками, которое опосредовано, продуцируемыми ими цитокинами. Изменения в этой сложной регуляторной сети во многом определяют развитие той или иной акушерской патологии. Иммунологические нарушения при привычном невынашивании беременности сложны и разнообразны, что делает это важной проблемой в репродук-

тивной медицине. Существует мнение, что дисбаланс Th1/Th2, M1/M2 клеток, дисфункция Th17 и Treg могут играть ключевую роль в патогенезе привычного невынашивания беременности [1]. В связи с этим **целью** нашей работы было определить характер изменений цитокиновой сети, определяющих дифференцировку клеток иммунной системы при привычном невынашивании беременности.

Всего было обследовано 17 беременных женщин с угрозой прерывания на момент обследования и привычным невынашиванием беременности в анамнезе (основная группа) и 21 женщина с неосложненным течением беременности (группа контроля) в сроке гестации 5–12 недель. Материалом исследования являлась венозная периферическая кровь. Сывороточный уровень цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , GM-CSF определялся на мультиплексном флуоресцентном анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США). Статистический анализ полученных результатов осуществлялся в пакете прикладных лицензионных программ «Microsoft Office 2010». С учетом нормальности распределения данные

оценивались или в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей ( $Me (Q_{25\%}-Q_{75\%})$ ), или как среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего ( $M \pm m$ ).

При оценке сывороточного уровня цитокинов было выявлено, что содержание IL-5, IL-6, IL-17A и GM-CSF было ниже детектируемых значений во всех случаях у женщин с неосложненным течением беременности и, лишь в единичных случаях, регистрировалось у женщин с привычным невынашиванием беременности. IL-27 и TNF $\alpha$  практически не регистрировались в контрольной группе, но в группе с привычным невынашиванием беременности достаточно высокие значения IL-27 (15–130 пкг/мл) отмечались в 25% случаев ( $p < 0,002$ ), а TNF $\alpha$  в незначительных концентрациях (1–14 пкг/мл) – в 18% случаев ( $p > 0,05$ ). Частота выявления IL-21 в сыворотке крови в группе женщин с привычным невынашиванием в 2,3 раза была выше, чем в контрольной группе (32% и 14%, соответственно), однако достоверные различия по данному показателю в группах отсутствовали ( $p > 0,05$ ). Наиболее значимые различия в сравниваемых группах отмечались в сывороточном содержании IL-1 $\beta$ , IL-22 и IL-23, уровень которых достоверно повышался в основной группе по сравнению с группой здоровых беременных ( $p = 0,044$ ,  $p = 0,018$  и  $p = 0,002$ , соответственно). Кроме того, в группе привычного невынашивания беременности имелись тенденции к повышению сывороточной концентрации IL-10 и IL-13 ( $p > 0,05$ ). Достоверных различий в сывороточном содержании IL-2, IL-4, IL-9, IL-12p70, IL-18 и IFN $\gamma$  в сравниваемых группах не отмечалось ( $p > 0,05$  во всех случаях).

Как известно, разнообразие и соотношение цитокинов, присутствующих в крови, с одной стороны, является характеристикой функциональной активности клеточных популяций, а с другой – определяет дифференцировку клеточных типов. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при привычном невынашивании беременности на системном уровне невозможно четко определить доминирующее влияние Th1, Th2 или Th17 клеток. Возможно это, определяется индивидуальными особенностями иммунореагирования беременной

женщины на избыточное поступление в кровоток матери микрочастиц плацентарного происхождения [2] и/или на действие инфекционных агентов [3]. Одновременное повышение сывороточного уровня про- и противовоспалительных цитокинов можно объяснить как усилением иммунного ответа, так и запуском механизмов фетопротекции. Более определенное заключение можно сделать о характере дифференцировки макрофагов при привычном невынашивании беременности. Высокий сывороточный уровень IL-1 $\beta$ , наряду с тенденцией к повышению содержания TNF $\alpha$  при привычном невынашивании беременности создают условия для дифференцировки клеток макрофагального ряда в сторону M1 подтипа и выработки ими IL-23. Выявленное нами повышение сывороточного уровня IL-21 позволяет предположить участие В-лимфоцитов в данном процессе при привычном невынашивании беременности. Как известно, IL-21, активируя фолликулярные Tfh, поддерживает дифференцировку В клеток в плазмобласты [4] и в долгоживущие В-клетки памяти [5].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Zhao X., Jiang Y., Wang L., Li Z., Li Q., Feng X. Advances in understating the immune imbalance between T-lymphocyte subsets and NK cells in recurrent spontaneous abortion. *Geburtshilfe Fraunheilkd.* 2018, 78(7), 677–683.
2. Southcombe J., Tannetta D., Redman C., Sargent I. The immunomodulatory role of syncytiotrophoblast microvesicles. *PLoS One.* 2011, 6(5): e20245.
3. Батрак Н. В., Малышкина А. И., Сотникова Н. Ю., Крошкина Н. В. Урогенитальная инфекция как фактор риска рецидивирующих потерь беременности. *Российский иммунологический журнал.* 2015, 9(18); 1(1), 19–20. [Batrak N. V., Malyshkina A. V., Sotnikova N. Yu., Kroshkina N. V. Urogenital infection as risk factor of recurrent miscarriage. *Russian Journal of Immunology.* 2015, 9(18); 1(1), 19–20].
4. Caprioli F., Sarra M., Caruso R., Stolfi C., Fina D., Sica G., MacDonald T. T., Pallone F., Monteleone G. Autocrine regulation of IL-21 production in human T lymphocytes. *J Immunol.* 2008, 180(3), 1800–1807.
5. Zotos D., Coquet J. M., Zhang Y., Light A., D'Costa K., Kallies A., Corcoran L. M., Godfrey D. I., Toellner K. M., Smyth M. J., Nutt S. L., Tarlinton D. M. IL-21 regulates germinal center B cell differentiation and proliferation through a B cell-intrinsic mechanism. *J Exp Med.* 2010, 207(2), 365–378.

## THE ANALYSIS OF PERIPHERAL BLOOD CYTOKINES IN WOMEN WITH RECURRENT SPONTANEOUS ABORTION

© 2019 N. V. Kroshkina, A. V. Kust\*, E. V. Kozelkova

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

Federal State Budget Establishment «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkova» of the Ministry of Health of Russia

Received: 01.03.2019. Accepted: 13.03.2019

The level of IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , GM-CSF in the peripheral blood of women with recurrent spontaneous abortion and uncomplicated pregnancy was investigated at 5–12 weeks of gestation. It was established, that the serum level of IL-1 $\beta$ , IL-22, IL-23 and IL-27 in women with habitual abortion increased, and the tendency to the elevation of serum level of IL-10 и IL-13 was seen.

*Key words:* recurrent spontaneous abortion, cytokines

### Authors:

**Kroshkina N. V.**, ✉ PhD, researcher of the laboratory of clinical immunology, Federal State Budget Establishment “Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov “ of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia.

**E-mail:** niimid.immune@mail.ru;

**Kust A. V.**, postgraduate Student of the laboratory of clinical immunology, Federal State Budget Establishment “Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov “ of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Kozelkova E. V.**, postgraduate Student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Reanimatology, Federal State Budget Establishment “Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov “ of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia.

## ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВОЙ ПРОДУКЦИИ СЫВОРОТКИ КРОВИ И ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД ПРИ УГРОЗЕ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2019 г. И. И. Крукиер<sup>1\*</sup>, В. В. Авруцкая<sup>1</sup>, Л. Л. Ерджанян<sup>1</sup>,  
А. В. Рожков<sup>2</sup>, А. А. Никашина<sup>1</sup>, Ю. А. Петров<sup>1</sup>

\*E-mail: biochem@rniiar.ru

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

<sup>2</sup>ФКУЗ «Поликлиника № 1» ФТС России, Ростов-на-Дону, Россия

Поступила: 25.02.2019. Принята: 07.03.2019

Измерение уровня цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ТФР- $\beta$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-10) в сыворотке крови и околоплодной среде отражает состояние интерлейкинового баланса в гестационных тканях, а его определение имеет высокую информативную ценность для суждения о течении беременности и внутриутробного развития плода.

**Ключевые слова:** цитокины, угроза прерывания беременности, преждевременные роды

DOI: 10.31857/S102872210006623-0

Адрес: 344012 г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43, НИИАП ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава РФ, отдел медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии, Крукиер Ирина Ивановна. Тел.: 8 (863) 2-27-50-77.

E-mail: biochem@rniiar.ru

**Авторы:**

**Крукиер И. И.**, д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии НИИАП ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Ерджанян Л. Л.**, младший научный сотрудник акушерско-гинекологического отдела НИИАП ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

**Авруцкая В. В.**, д.м.н., доцент, главный научный сотрудник акушерско-гинекологического отдела НИИАП ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

**Рожков А. В.**, к.м.н., начальник поликлиники ФКУЗ «Поликлиника № 1» ФТС России, Ростов-на-Дону, Россия;

**Никашина А. А.**, к.б.н., научный сотрудник отдела медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии НИИАП ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

**Петров Ю. А.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 2 ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

К числу важных биологически активных полипептидов, осуществляющих эндогенную регуляцию многих межклеточных процессов, относятся

различные представители класса цитокинов, в частности интерлейкины. Изменение уровня интерлейкинов во время гестации является важным звеном адаптационной реакции организма матери, направленной на вынашивание генетически чужеродного плода [1]. Преждевременные роды (ПР), не имеющие тенденции к снижению на протяжении последних 20 лет и составляющие 10–25% от всех беременностей, являются серьезной медико-социальной проблемой [2].

**Целью** наших исследований явилось изучение динамики продукции цитокинов околоплодных вод и сыворотки крови женщин с угрозой прерывания беременности в разные сроки.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное исследование были включены 125 беременных в возрасте 20–36 лет, составивших три группы. В первую (основную) группу вошли 43 женщины с угрозой прерывания беременности в 19–20 недель, вторую (основную) составили 35 женщин, беременность у которых закончилась ПР в сроке 35–37 недель. Контрольную группу составили 47 условно здоровых женщин с неосложненным течением беременности и родов.

Материалом исследования служили околоплодные воды и сыворотка крови беременных женщин, в которых определяли уровень ФНО- $\alpha$ , ТФР- $\beta$ , ИЛ-10, и ИЛ-1 $\beta$  методом иммуноферментного анализа, используя коммерческие наборы фирмы (R&D systems, USA).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований следует отметить, что наибольшие изменения в околоплодных водах у женщин с угрозой прерывания беременности (в 19–20 нед.) отмечались для ФНО- $\alpha$  (уровень повышался в 2 раза) и ТФР- $\beta$  (повышение составило 2,5 раза); продукция интерлейкинов ИЛ-1 $\beta$  была повышена в этой группе женщин на 70%, а ИЛ-10, напротив снижена – как в 19–20 недель, так и при ПР в среднем на 60% по сравнению с физиологическими величинами. В группе женщин с ПР уровень цитокинов в околоплодных водах изменялся аналогично срокам прерывания беременности в 19–20 недель: ФНО- $\alpha$  был повышен в 3 раза, ТФР- $\beta$  – в 2 раза, а ИЛ-1 $\beta$  – на 50%. Продукция сывороточных цитокинов в группе женщин как с угрозой прерывания беременности (в 19–20 нед.), так и при ПР имела однонаправленную динамику, но менее выраженную, чем в околоплодных водах. Так, наибольшее увеличение цитокиновой продукции наблюдалось в группе женщин с ПР: уровни ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  повышались в среднем на 65% по сравнению с контрольными величинами. При угрозе прерывания беременности в 19–20 недель высокий уровень отмечался для ТФР- $\beta$  (увеличение составило 58%). Сниженное содержание ИЛ-10 имело место как при угрозе прерывания беременности, так и при ПР (в среднем на 44%). Усиление продукции таких важных биорегуляторов, как ФНО- $\alpha$ , ТФР- $\beta$ , ИЛ-1 $\beta$  и снижение продукции ИЛ-10 в околоплодных водах и сыворотке крови у женщин основных групп вызывает нарушение баланса в меж- и внутриклеточной цитокиновой сети и, очевидно, сказывается на многих биохимических процессах [3]. Следует отметить, что уменьшение продукции ИЛ-10, очевидно, ещё и угнетает протекторное действие, направленное на сохранение внутриутробного плода. Кроме этого ИЛ-10 также способствует генерации регуляторных Т-клеток с супрессорной активностью (Th-2 клеток), которые определяют состояние иммунологической толерантности плода, а их снижение приводит к срыву последней

и прерыванию беременности, что, очевидно, и происходит в ранние и более поздние её сроки. Дисбаланс цитокинового профиля, наряду с прямым воздействием на материнско-плодовые взаимоотношения и течение беременности, может оказывать и опосредованное влияние на биологические эффекты других клеточных компонентов, в частности, на ряд ферментов синтеза простагландинов, активацию свободнорадикальных реакций и др. Регуляция обменных процессов цитокинами осуществляется при связывании их с большим количеством рецепторов. Экспрессия генов цитокинов варьирует в зависимости от функционального состояния клеток и соотношения различных цитокинов. Так, ИЛ-1 $\beta$  индуцирует синтез ИЛ-2, который, в свою очередь, влияет на цитотоксическую активность, что может способствовать реакции отторжения плода.

Таким образом, измерение уровня цитокинов в сыворотке крови и околоплодной среде отражает состояние интерлейкинового баланса в гестационных тканях, а его определение имеет высокую информативную ценность для суждения о течении беременности и внутриутробного развития плода.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ /REFERENCES

1. Симбирцев А. С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека. Медицинский академический журнал. 2013; 13(3):18–41. [Simbirtsev A. S. Cytokines in the pathogenesis of infectious and noninfectious human diseases. Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal. 2013, 13(3), 18–41. (In Russ).]
2. Акушерство. Национальное руководство. Краткое издание / Под ред. Э. К. Айламазяна, В. Н. Серова, В. Е. Радзинского, Г. М. Савельевой. Москва, 2012. [Obstetrics. National leadership. Short edition. Ed. E. K. Aylamazyan, V. N. Serova, V. E. Radzinsky, G. M. Savel'yeva. Moscow, 2012. (In Russ).]
3. Крукиер И. И., Авруцкая В. В., Левкович М. А., Нарежная Е. В., Смолянинов Г. В., Ерджанян Л. Л., Никашина А. А. Особенности изменения биорегуляторов и органических кислот в сыворотке крови и амниотической жидкости женщин со спонтанными преждевременными родами // Вестник Российской академии медицинских наук. 2018. Т. 73. № 6. С. 361–367. [Krukier I. I., Avrutskaya V. V., Levkovich M. A., Narezhnaya E. V., Smolyaninov G. V., Yerdzhanyan L. L., Nikashina A. A. Peculiarities of changing bioregulators and organic acids in the serum of blood and amniotic fluid of women with spontaneous preterm labor. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk. 2018, 73(6), 361–367. (In Russ).]

**DYNAMICS OF CYTOKINE PRODUCTION OF BLOOD SERUM  
AND AMNIOTIC FLUID AT A THREAT OF PREGNANCY INTERRUPTION**

© 2019 I. I. Krukier<sup>1</sup>, L. L. Erdzhanyan<sup>1</sup>, V. V. Avrutskaya<sup>1</sup>,  
A. V. Rozhkov<sup>2</sup>, A. A. Nikashina<sup>1</sup>, Yu. A. Petrov<sup>1</sup>

\*E-mail: [biochem@rniiap.ru](mailto:biochem@rniiap.ru)

<sup>1</sup>Research Institute of Obstetrics and Pediatrics Rostov State Medical University,  
Rostov-on-Don, Russia

<sup>2</sup>FKUZ "Polyclinic № 1" FCS of Russia, Rostov-on-Don, Russia

Received: 25.02.2019. Accepted: 07.03.2019

The level of cytokines (TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$  and IL-10) in serum and amniotic fluid medium be representative of the state of interleukin balance in gestational tissues, and its definition has a high informative value for judging the course of pregnancy and fetal development fetus.

*Key words:* cytokines, threatened miscarriage, premature birth

**Authors:**

**Krukier I. I.**, ☒ PhD, Leading Researcher of the Department of Biomedical Problems in Obstetrics, Gynecology and Pediatrics Research Institute of Obstetrics and Pediatrics Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia. **E-mail:** [biochem@rniiap.ru](mailto:biochem@rniiap.ru);

**Erdzhanyan Y. L.**, Junior Researcher of the Obstetric-Gynecological Department, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia;

**Avrutskaya V. V.**, MD, Associate Professor, Chief Researcher of the Obstetric-Gynecological Department, Research Institute of Obstetrics and Pediatrics Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia;

**Rozhkov A. V.**, MD, Head of the Polyclinic of the FKUZ Polyclinic No.1, Rostov-on-Don, Russia;

**Nikashina A. A.**, Ph.D., Researcher of the Department of Biomedical Problems in Obstetrics, Gynecology and Pediatrics Research Institute of Obstetrics and Pediatrics Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia;

**Petrov Yu. A.**, MD, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 2 Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

## РОЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕЭКЛАМПСИИ

© 2019 г. А. В. Кудряшова\*, И. А. Панова, Е. А. Рокотянская

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства  
им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 29.03.2019

Целью работы было оценить характер изменений функциональной активности нейтрофилов у женщин с преэклампсией и выявить их значимость в развитии гипертензии и протеинурии. Для нейтрофилов женщин с преэклампсией были характерны: повышение содержания CD11b<sup>+</sup>, CD31<sup>+</sup>, CD49b, TLR4<sup>+</sup>, Annexin V<sup>+</sup>PI<sup>+</sup>, IFN $\gamma$ <sup>+</sup>, Granzyme B<sup>+</sup>, НСТ-активных клеток, сывороточных G-CSF, IL-8, IFN $\gamma$  и Fractalkine; высокий уровень синтеза MMP-9; снижение уровня CD95<sup>+</sup>, CX3CR1<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup> и CD99<sup>+</sup> клеток. Корреляционные связи отмечались между: уровнем CD62L<sup>+</sup>, CD99<sup>+</sup>, CXCR1<sup>+</sup> нейтрофилов, сывороточным IL-8 и нарушениями эластических свойств сосудов; уровнем CX3CR1<sup>+</sup> нейтрофилов, средним артериальным давлением и протеинурией в разовой порции мочи.

**Ключевые слова:** нейтрофилы, преэклампсия

DOI: 10.31857/S102872210006624-1

**Адрес:** 153045 Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии. Кудряшова Анна Владимировна.  
Тел./факс: +79109915146 (моб.).

**E-mail:** niimid.immune@mail.ru

**Авторы:**

**Кудряшова А. В.**, д.б.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Панова И. А.**, д.м.н., зав. отделом акушерства и гинекологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Рокотянская Е. А.**, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия.

Преэклампсия ассоциируется с развитием системной воспалительной реакции, инициирующими стимулами которой является избыточное поступление в кровоток матери микрочастиц плацентарного происхождения [1]. Её отличительная черта — высокая степень инфильтрации сосудов нейтрофилами, что не характерно для других популяций лейкоцитов [2]. В связи с этим целью работы было оценить характер измене-

ний функциональной активности нейтрофилов у женщин с преэклампсией и выявить их значимость в развитии гипертензии и протеинурии.

В 24–36 недель гестации были обследованы 40 женщин без гипертензивных расстройств и неосложненным течением беременности, родов и послеродового периода (контрольная группа) и 72 женщины с преэклампсией (ПЭ) при поступлении в стационар до начала антигипертензивной терапии. Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь. Методом проточной цитофлуориметрии (FACSCantoII, Becton Dickinson, США) в популяции нейтрофилов исследовали экспрессию молекул CD11b, CD31, CD49b, CD62L, CD99, CD95 и CD95L, рецепторов CXCR1, CXCR2, CX3CR1, TLR2, TLR4, внутриклеточную продукцию IFN $\gamma$ , Granzyme B, параметры аннексинового теста. Кислородзависимая метаболическая активность нейтрофилов оценивалась по показателям спонтанного и индуцированного зимозаном НСТ-теста. В сыворотке крови исследовали уровень G-CSF, IL-8, IFN $\gamma$  (Luminex 200, Luminex Corporation, США), Fractalkine (Multiskan EX, LabSystems, Финляндия). Определение экспрессии мРНК MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 и  $\beta$ 2-микроглобулина

(ген домашнего хозяйства) проводили методом количественной RT-PCR (iCycleriQ, BIO-RAD, США). Статистический анализ полученных результатов осуществлялся в пакете прикладных лицензионных программ «Microsoft Office 2010». С учетом нормальности распределения данные оценивались или в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей (Me (Q<sub>25%</sub>–Q<sub>75%</sub>)), или как среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего (M±m). Эластические свойства артерий оценивались методом определения скорости распространения пульсовой волны на сфигмографической приставке аппаратно-программного комплекса «Поли-спектр-8/Е» (ООО «Нейрософт», Россия).

В результате проведенных исследований было установлено, что у женщин с ПЭ в популяции нейтрофилов достоверно возрастало содержание CD11b<sup>+</sup>, CD31<sup>+</sup>, CD49b, TLR4<sup>+</sup>, AnnexinV<sup>+</sup>PI<sup>+</sup>, IFNγ<sup>+</sup>, Granzyme B<sup>+</sup>, снижался уровень CD95<sup>+</sup>, CX3CR1<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup> и CD99<sup>+</sup> клеток, но повышались значения средней интенсивности флуоресценции (MFI) CD62L<sup>+</sup> клеток по сравнению с показателями в контрольной группе. Нейтрофилы женщин с ПЭ экспрессировали достоверно повышенный уровень мРНК MMP-9 и обладали высокой кислородзависимой метаболической активностью по данным спонтанного и стимулированного НСТ-теста. В сыворотке периферической крови женщин с ПЭ достоверно возрастало содержание G-CSF, IL-8 (наиболее выраженное при тяжелой форме преэклампсии), IFNγ и Fractalkine. Корреляционный анализ показал, что нарушения эластических свойств сосудов у женщин с ПЭ находились в прямой зависимости от уровня CD62L<sup>+</sup> (для сосудов мышечного типа) и CD99<sup>+</sup> (для сосудов эластического типа) нейтрофилов, и в обратной зависимости от показателей сывороточного уровня IL-8 и от содержания клеток, экспрессирующих его рецептор CXCR1 (для сосудов эластического типа). Среднее артериальное давление в стационаре и уровень протеинурии в разовой порции мочи при поступлении у женщин с ПЭ прямо коррелировали с показателем содержания CX3CR1<sup>+</sup> нейтрофилов. На 5 сутки от начала лечения антигипертензивными препаратами у женщин с ПЭ достоверно снижалось содержание CXCR1<sup>+</sup> нейтрофилов, а неэффективность проводимого лечения отмечалась у женщин с максимально повышенными исходными значениями содержания CD11b<sup>+</sup> нейтрофилов.

Ранее нами было показано, что при преэклампсии в периферической крови достоверно

повышается относительное содержание нейтрофилов, в основном, за счет увеличения уровня сегментоядерных клеток [3]. Именно эта фракция циркулирующих нейтрофилов является наиболее функционально активной. Вероятно, отмеченные нами, высокая способность нейтрофилов к миграции, усиление их протеолитического и цитотоксического потенциала способствуют развитию воспалительного процесса в сосудистой системе матери. Патологические эффекты нейтрофилов могут проявляться в результате образования нейтрофильных внеклеточных сетей-ловушек, при котором в клетках происходит деконденсация хроматина с последующим его выбросом во внеклеточное пространство и образованием сетей ловушек, насыщенных реактивными формами кислорода, гистонами, миелопероксидазой и другими молекулами, повреждающими окружающие ткани и вызывающими иммунное воспаление. Причем, по нашим данным, при ПЭ запуск нетоза может определяться высокой кислородзависимой метаболической активностью нейтрофилов и при узнавании активирующих стимулов через toll-подобные рецепторы [4]. Все это может способствовать повреждению эндотелиального, базального и мышечного слоев сосудов, потере ими эластических свойств, стимулируя миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток в неointиму, с последующим её разрастанием и сужением просвета сосуда [5]. Патогенетическая значимость этих процессов подтверждается наличием корреляционных связей с основными клиническими проявлениями преэклампсии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Tannetta D., Collett G., Vatish M., Redman C., Sargent I. Syncytiotrophoblast extracellular vesicles – Circulating biopsies reflecting placental health. *Placenta*. 2017, 52, 134–138.
2. Kristen A., Cadden M. S., Walsh S. W. Neutrophils, but not Lymphocytes or Monocytes, Infiltrate Maternal Systemic Vasculature in Women with Preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2008, 27(4), 396–405.
3. Панова И. А., Кудряшова А. В., Хлипунова Д. А., Смирнова Е. В., Рокотьянская Е. А. Характеристика зрелости и адгезионной способности нейтрофилов при преэклампсии. *Российский иммунологический журнал*. 2014. 8; 3(17), 360–364. [Panova I. A., Kudryashova A. V., Khlipunova D. A., Smirnova E. V., Rokotianskaya E. A. Characteristics of maturity and adhesion of neutrophils in preeclampsia. *Russian Journal of Immunology*. 2014. 8; 3(17), 360–364]
4. Delgado-Rizo V., Martínez-Guzmán M. A., Iñiguez-Gutiérrez L., García-Orozco A., Alvarado-Navarro A.,

- Fafutis-Morris M.* Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview. *Front Immunol.* 2017. 8, 81.
5. *Schober A.* Chemokines in vascular dysfunction and remodeling. *Arterios Thromb Vasc Biol.* 2008. 28(11), 1950–1959.

## THE ROLE OF NEUTROPHILS IN THE PATHOGENESIS OF PREECLAMPSIA

© 2019 A. V. Kudryashova\*, I. A. Panova, E. A. Rokotyanskaya

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

Federal State Institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkova» the Ministry of Health of the Russian Federation

Received: 14.03.2019. Accepted: 29.03.2019

The aim of the work was to assess the nature of changes in the functional activity of neutrophils in women with preeclampsia and to identify their significance in the development of hypertension and proteinuria. For neutrophils of women with preeclampsia, the following were observed: increased levels of CD11b<sup>+</sup>, CD31<sup>+</sup>, CD49b, TLR4<sup>+</sup>, AnnexinV<sup>+</sup>PI<sup>+</sup>, IFN $\gamma$ <sup>+</sup>, Granzyme B<sup>+</sup>, NBT-active cells, serum G-CSF, IL-8, IFN $\gamma$  and Fractalkine; high level of MMP-9 synthesis; decreased levels of CD95<sup>+</sup>, CX3CR1<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup> and CD99<sup>+</sup> cells. Correlation was noted between: the level of CD62L<sup>+</sup>, CD99<sup>+</sup>, CXCR1<sup>+</sup> neutrophils, serum IL-8 and impaired elastic properties of blood vessels; CX3CR1<sup>+</sup> neutrophil level and mean arterial pressure and proteinuria in a single portion of urine.

*Key words:* neutrophils, preeclampsia

### Authors:

**Kudryashova A. V.**, ✉ BD, senior researcher of the laboratory of clinical immunology, Federal State Institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named by V. N. Gorodkov» the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia.

**E-mail:** niimid.immune@mail.ru;

**Panova I. A.**, MD, assistant professor, head of Department of obstetrics and gynecology, Federal State Institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named by V. N. Gorodkov» the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia;

**Rokotyanskaya E. A.**, PhD, assistant Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Reanimatology, Federal State Institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named by V. N. Gorodkov» the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia.

## СЫВОРОТОЧНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ РАССТРОЙСТВАХ У БЕРЕМЕННЫХ

© 2019 г. А. В. Кудряшова, И. А. Панова, Е. А. Рокотянская,  
А. С. Панащатенко\*

\*E-mail an.zinchenko2017@yandex.ru

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства  
имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 02.04.2019

Исследовали относительное и абсолютное содержание лимфоцитов в общем анализе крови, сывороточное содержание IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-15, IL-17A у беременных женщин с хронической артериальной гипертензией (ХАГ), с преэклампсией (ПЭ), и с ПЭ на фоне ХАГ, и с неосложненной беременностью (контроль). Во всех группах женщин с гипертензивными расстройствами в крови отмечалось снижение уровня лимфоцитов, IL-2 и IL-15. При ПЭ повышалось содержание IL-5 и IL-6, дополнительно при тяжелой ПЭ повышался уровень IL-4, IL-9, IL-17A, при ХАГ IL-12p70. Таким образом, при всех гипертензивных расстройствах у беременных снижается продукция цитокинов, регулирующих пролиферацию лимфоцитов, но при ПЭ возрастает содержание цитокинов, определяющих созревание и дифференцировку эффекторных клеток.

**Ключевые слова:** беременность, хроническая артериальная гипертензия, преэклампсия, цитокины

DOI: 10.31857/S102872210006625-2

**Адрес:** 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, научный отдел акушерства и гинекологии. Панащатенко Анна Сергеевна. Тел: +79303408646 (моб.).

**E-mail:** an.zinchenko2017@yandex.ru

**Авторы:**

**Кудряшова А. В.**, д.б.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Панова И. А.**, д.м.н., доцент, зав. отделом акушерства и гинекологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Рокотянская Е. А.**, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Панащатенко А. С.**, аспирант кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия.

Исследования патогенеза гипертензивных расстройств у беременных (хроническая артериальная гипертензия (ХАГ), преэклампсия

(ПЭ), преэклампсия, возникшая на фоне ХАГ (ХАГ+ПЭ)) показали, что эти осложнения гестационного процесса развиваются на фоне активации адаптивного иммунитета, несбалансированной дифференцировки популяций Т- и В-лимфоцитов [1]. В связи с этим целью работы было изучить содержание цитокинов, стимулирующих пролиферацию, созревание и дифференцировку клеток адаптивного иммунитета у беременных женщин с гипертензивными расстройствами различного генеза.

Проводилось обследование беременных женщин в сроке 24–36 недель при поступлении в стационар, 16 пациенток с ХАГ, 32 женщины с ПЭ, из них 16 с умеренной преэклампсией (УПЭ), 16 – с тяжелой преэклампсией (ТПЭ), 17 пациенток с присоединившейся ПЭ (ХАГ+ПЭ). Контрольную группу составили 15 женщин без гипертензивных расстройств и с неосложненным течением беременности. Материалом для исследования служила периферическая веноз-

ная кровь. На анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, USA) исследовали содержание IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-15, IL-17A (Bio-Rad, USA). На гематологическом анализаторе Siemens ADVIA 2120i (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. USA) оценивали относительное и абсолютное содержание лимфоцитов. Статистический анализ полученных результатов осуществлялся в программе «Microsoft Office 2010». Полученные данные оценивались в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей ( $Me (Q_{25\%}-Q_{75\%})$ ), достоверность различий определялась по критериям Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова.

В периферической крови женщин отмечалось достоверное снижение абсолютного содержания лимфоцитов в группах с ХАГ и ХАГ+ПЭ ( $p=0,01$ , в обоих случаях) и относительное снижение содержания лимфоцитов ( $p=0,02$ ) в группе с ПЭ по сравнению с контролем. Это позволило предположить, что гипертензивные расстройства у беременных сочетаются с нарушением пролиферативных процессов в различных популяциях лимфоцитов. Во всех группах с гипертензивными расстройствами отмечалось достоверное снижение сывороточного уровня IL-2 и IL-15 ( $p<0,05$  во всех случаях по сравнению с контролем). Независимо от степени тяжести при ПЭ достоверно повышалось содержание IL-5 ( $p=0,00$ ) и IL-6 ( $p=0,01$ ) по сравнению с контролем, и IL-4 ( $p=0,002$ ), IL-6 ( $p=0,011$ ), по сравнению с ХАГ. Только для группы беременных с ТПЭ было характерным повышение уровня IL-4 ( $p=0,005$ ), IL-9 ( $p=0,002$ ), IL-17A ( $p=0,038$ ) по сравнению с контролем, и показателей содержания IL-5 ( $p=0,001$ ), IL-9 ( $p=0,006$ ), IL-17A ( $p=0,002$ ) по сравнению с ХАГ. У женщин с ХАГ отмечено достоверное снижение IL-12p70 относительно контроля ( $p=0,017$ ).

Полученные данные позволяют предположить, что снижение абсолютного содержания лимфоцитов в периферической крови в группах с ХАГ в значительной степени было обусловлено низким уровнем IL-2 и IL-15. Эти цитокины, в основном, регулируют процессы пролиферации различных популяций лимфоцитов. Сниженное содержание IL-2 и IL-12p70 при ХАГ могло препятствовать дифференцировке Th1 клеток. В тоже время для IL-2 характерна уникальная роль в дифференцировке Treg. Вероятно, длительное течение патологического процесса при ХАГ определяет необходимость ограничения чрезмерной активации Th1, эф-

фекторных лимфоцитов, НК и НКТ, но не в результате действия Treg. Этот тип регуляции в условиях дополнительной антигенной нагрузки при беременности становится чрезвычайно уязвимым, что приводит к срыву компенсаторных возможностей и развитию преэклампсии. Большая выраженность изменений при ПЭ, возможно, определялась остротой процесса. При ПЭ снижение уровня IL-2 и IL-15 сочеталось только с уменьшением относительного содержания лимфоцитов, что определяется ростом популяции нейтрофилов [2]. Отсутствие изменений в сывороточном содержании IL-4 и IL-10 при ПЭ, может свидетельствовать, что снижение уровня Treg при данной патологии [3] определяются иными факторами. Так, например, повышение уровня IL-6 может ингибировать TGF- $\beta$  индуцированную дифференцировку Treg и способствовать специфической дифференцировке наивных CD4<sup>+</sup> Т-клеток в Th17 [5]. Изменение баланса Th17/Treg определяет нарушение иммунологической толерантности и способствует развитию аутоиммунных реакций и хронического воспаления. Более того, обладая плеiotропным действием, IL-6 наряду с IL-5 мог стимулировать пролиферацию и дифференцировку В1 и В2-лимфоцитов в плазматические клетки, обеспечивая при ПЭ усиление выработки иммуноглобулинов, в том числе и аутоантител. Отмеченное нами при ТПЭ увеличение содержания IL-17A, IL-9 и IL-4, вероятно, еще в большей степени способствует этому процессу.

Таким образом, у беременных женщин с гипертензивными расстройствами имеются значительные различия в изменениях сывороточного уровня цитокинов, определяющие характер регуляции активации, пролиферации и дифференцировки лимфоцитов на системном уровне при хронической артериальной гипертензии и преэклампсии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Pinheiro M. B., Martins-Filho O. A., Mota A. P., Alpoim P. N., Godoi L. C., Silveira A. C., Teixeira-Carvalho A., Gomes K. B., Dusse L. M.* Severe preeclampsia goes along with a cytokine network disturbance towards a systemic inflammatory state. *Cytokine*. 2013, 62(1), 165–173.
2. *Панова И. А., Кудряшова А. В., Хлипунова Д. А., Смирнова Е. В., Рокотьянская Е. А.* Характеристика зрелости и адгезионной способности нейтрофилов при преэклампсии. *Российский иммунологический журнал*. 2014, 8; 3(17), 360–364. [*Panova I. A., Kudryashova A. V., Khlipunova D. A., Smirnova E. V., Rokotyanskaya E. A.* Characteristics of maturity and

- adhesion of neutrophils in preeclampsia. Russian Journal of Immunology. 2014, 8; 3 (17), 360–364].
3. Zare M., Doroudchi M., Ghareisi-Fard B. Altered Frequencies of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Regulatory T Cells in Pre-eclampsia. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2018, 17(6),540–547.
4. Kimura A., Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. Eur J Immunol. 2010, 40(7),1830–1835.

## SERUM CONTENT OF CYTOKINES REGULATING PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION OF LYMPHOCYTES IN HYPERTENSIVE DISORDERS IN PREGNANT WOMEN

© 2019 A. V. Kudryashova, I. A. Panova, E. A. Rokotyanskaya, A. S. Panaschatenko\*

\*E-mail an.zinchenko2017@yandex.ru

Federal State Institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 02.04.2019

Relative and absolute lymphocyte amounts in the clinical (or common) blood analysis, serum levels of IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-15, IL-17A were investigated in pregnant women with chronic arterial hypertension, preeclampsia, and with preeclampsia on the background of chronic arterial hypertension as well as uncomplicated pregnancy (control). In all groups of women with hypertensive disorders there was a decrease in the level of lymphocytes and IL-2 and IL-15 in the blood. In contrast to the control, preeclampsia increased the contents of IL-5 and IL-6. Besides, severe preeclampsia increased the level of IL-4, IL-9, IL-17A, with chronic arterial hypertension IL-12p70. Thus, in hypertensive disorders in pregnant women, the production of cytokines regulating the proliferation of lymphocytes decreases. However, in preeclampsia, the contents of cytokines, which determine the maturation and differentiation of effector cells, increases.

*Key words:* pregnancy, chronic arterial hypertension, preeclampsia, cytokines

### Authors:

**Kudryashova A. V.**, BD, senior researcher of the laboratory of clinical immunology, Federal State Institution “Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov” the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia;

**Panova I. A.**, MD, assistant professor, head of Department of obstetrics and gynecology, Federal State Institution “Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov” the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia;

**Rokotyanskaya E. A.**, PhD, assistant Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Reanimatology, Federal State Institution “Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov” the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia;

**Panashchatenko A. S.**, ☒ postgraduate Student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Reanimatology, Federal State Institution “Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov” the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia. **E-mail:** an.zinchenko2017@yandex.ru

## ДОСТУПНОСТЬ ЭПИТОПОВ ТИРЕОИДНОЙ ПЕРОКСИДАЗЫ В ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ ДИАГНОСТИКУМАХ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ

© 2019 г. Н. С. Кузьмина\*, А. В. Зубков, В. В. Свиридов

\*E-mail: ns\_kuzim@mail.ru

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток  
им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 12.03.2019

Оценка циркулирующих аутоантител (ауто-Ат) к тиреоидной пероксидазе (ТПО) широко используется в клинике для выявления/подтверждения аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Несмотря на значительные успехи в создании тестов для детекции ауто-Ат, вопросы их валидации, стандартизации методов привлекают пристальное внимание как разработчиков, так и пользователей. Сравнительные исследования уровня антител в сыворотке крови пациентов с диффузным токсическим зобом, аутоиммунным тиреоидитом при использовании наборов разных производителей показало, что расхождения связаны с эпитопной структурой ТПО, сорбированной на твердой фазе. Предлагается использование моноклональных антител для контроля антигенной структуры ТПО как процессе выделения нативного белка, так и изготовления тестов для анализа Ат к ТПО.

**Ключевые слова:** иммуноферментный анализ, аутоантитела, тиреоидная пероксидаза, моноклональные антитела

DOI: 10.31857/S102872210006626-3

Адрес: 105064 Москва, Малый Казенный пер., дом 5А, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», лаборатория иммунологической диагностики эндокринных заболеваний

Кузьмина Нина Сергеевна, Тел: +74959175242

E-mail: ns\_kuzim@mail.ru

**Авторы:**

**Кузьмина Н. С.**, к.б.н., в.н.с. лаборатории иммунологической диагностики эндокринных заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

**Зубков А. В.**, к.м.н., заведующей лабораторией иммунологической диагностики эндокринных заболеваний ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

**Свиридов В. В.**, к.м.н., заведующей лабораторией клеточных гибридов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение этиологии и патогенеза аутоиммунных заболеваний (АИЗ) щитовидной железы (ЩЖ) — одна из актуальных задач современной эндокринологии. По данным литературы наиболее значимыми в развитии аутоиммунных нарушений признаются антигены ЩЖ: тиреоглобулин (ТГ), тиреопероксидаза (ТПО) и рецептор

тиреотропного гормона (рТТГ). Аутоантитела (ауто-Ат) к ним в сыворотке крови пациентов с болезнью Грейвса, тиреоидитом Хашимото, послеродовым тиреоидитом, выявляются у большинства обследованных, а у лиц без видимых нарушений функции ЩЖ — у 5–26% [1]. Оценка циркулирующих ауто-Ат к ЩЖ используется в клинике для выявления/подтверждения аутоиммунной природы заболевания. Несмотря на значительные успехи в создании тестов для детекции ауто-Ат, вопросы их валидации, стандартизации методов привлекают пристальное внимание как разработчиков, так и пользователей [2].

В данной работе мы сфокусировали свое внимание на оценке эпитопной структуры тиреоидной пероксидазы, как возможного источника ошибок при количественном определении аутоантител к ТПО методом иммуноферментного анализа.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ТПО выделяли из ткани щитовидной железы больных ДТЗ после оперативного её удаления.

Очистку препарата проводили аффинной хроматографией с использованием иммуносорбентов на основе полученных моноклональных антител (МкАТ) в качестве лигандов [3, 4]. Препараты ТПО контролировали методами ИФА с использованием сформированной панели МкАтк ТПО (36 гибридом-продуцентов); электрофореза в ПААГ, иммуноблоттинга. Препарат ТПО не содержал примесей ТГ. Ауто-АТ к ТПО определяли в иммуноферментном анализе. В качестве твердой фазы использовали полистироловые планшеты, сенсibilизированные высокоочищенной ТПО. Связавшиеся с антигенами сывороточные ауто-Ат выявляли конъюгатом меченых пероксидазой моноклональных антител к IgG человека, взятых в рабочем разведении. Калибровочные пробы готовили на основе пула образцов сыворотки крови человека и оценивали по международному стандарту Ат к ТПО – № 66/387. Чувствительность методов составляла 10 МЕ/мл, диапазон определяемых концентраций от 25 до 1000 МЕ/мл; коэффициент вариации не более 8%, линейность и открытие в пределах 90–110%.

Сыворотки крови доноров и больных с различными заболеваниями щитовидной железы были получены из различных клинико-диагностических лабораторий г. Москвы. Всего в исследовании проанализировано 100 образцов сыворотки крови практически здоровых лиц в возрасте 20–25 лет (50 образцов лица женского пола и 50 – мужского), 300 – сыворотки пациентов и АИТ и ДТЗ.

В сравнительных опытах использовали коммерческие иммуноферментные диагностикумы для определения Ат к ТПО ( $n=3$ ), а также контрольные образцы сыворотки: № 1 – отрицательная сыворотка, уровень Ат к ТПО, соответствовал нормальным значениям (до 50 МЕ/мл), № 2 – положительная, содержащая Ат к ТПО.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке диагностической значимости теста показано, что содержание антител в сыворотке крови здоровых лиц в группе женщин составлял  $40,0 \pm 8,9$  МЕ/мл, у мужчин  $25,1 \pm 5,93$  МЕ/мл. При этом референтные диапазоны концентрации антител для разных наборов варьируют от 10 до 50 МЕ/мл. В сыворотке крови больных в ДТЗ ( $n=60$ ) Ат к ТПО выявлялись в 80% случаев и их концентрация составляла от 100 до 5000 МЕ/мл, Ат к при АИТ в 90% случаев (от 70 до 3000 МЕ/мл). Сравнение полученных данных при анализе контрольных образцов сы-

воротки показало, что при использовании всех наборов, в том числе и разработанного нами, в контрольной сыворотке № 1 было зарегистрировано нормальное содержание антител к ТПО, в сыворотке № 2 – обнаружены Ат к ТПО. Однако абсолютные значения содержания антител в сыворотках варьировали в широких пределах, несмотря на применение для стандартизации всеми производителями одного международного стандарта 66/387. Значение концентрации Ат к ТПО в отрицательной контрольной сыворотке варьировало от 0 до 47,3 МЕ/мл, а в положительной – от 66 до 606 МЕ/мл. Это может быть обусловлено различными причинами: методом выделения антигена (его чистотой, сохранностью пространственной структуры), чувствительностью метода, свойствами материала, используемого для иммобилизации антигена. Всё это, несомненно, сказывается на конформации сорбированного материала, свойствах и доступности эпитопов комплементарных паратопам антител. В работе [5] описано, при использовании силиконированных поверхностей меньше повреждается функциональная активность Ag и Ат.

Установлено, что наличие в белке ТПО незначительных примесей ТГ (до 2,5%) приводит к ложным результатам при оценке уровня антител к ТПО: к снижению уровня выявляемых Ат к ТПО в сыворотке с высокой концентрацией антител к ТГ (более 1000 МЕ/мл). Можно полагать, что примесь ТГ чисто стерически ограничивает возможность связывания анти-ТПО аутоантител с эпитопами, сорбированной на планшете ТПО. При сравнении результатов определения антител к ТПО разработанным набором с данными, полученными при использовании трех коммерческих тест-систем ИФА-Ат-ТПО коэффициент корреляции варьировал от 0,8 до 0,98. Тестирование 36 моноклональных антител к ТПО, полученных из среды культивирования гибридом, на планшетах из иммуноферментных наборов реактивов для определения Ат к ТПО показало, что 32 МкАт к ТПО определяли антигенные детерминанты, представленные на различных образцах пероксидазы щитовидной железы. Четыре МкАт (3, 27, 61 и 71), распознающие конформационные эпитопы тиреоидной пероксидазы, по-разному реагировали с иммобилизованной ТПО на планшетах разных наборов. С сорбированной на пластике ТПО из набора, с которым корреляция достигала 98%, реагировали все изученные МкАт, что позволяет сделать вывод о сходстве антигенной структуры ТПО в этих тестах. Причем, наименьшая сходимость результатов

(не более 70%) отмечена для иммуносorbента, с которым не реагировало МкАт 3. При изучении эпитопной специфичности аутоантител методом конкурентного ИФА с использованием коллекции МкАт к ТПО было показано, что МкАт 3 является уникальным: аутоантитела, присутствующие в сыворотке больных АИЗЖЖ, подавляли связывание МкАт к эпитопу3 на 80–100%. Полученные расхождения в результатах анализа аутоантител к ТПО, на наш взгляд, обусловлены несколькими факторами: свойствами МкАт и ТПО, сорбированной в лунках планшетов, и доступностью сайтов связывания Ат с Аг в пространстве. Выявленные с использованием МкАт различия в структуре ТПО, иммобилизованной на твердой фазе, могут объяснить расхождения в данных количественного определения аутоантител в ТПО в сыворотке крови при использовании реагентов разных производителей. Анализ литературных данных показывает, что коэффициент корреляции при определении аутоантител к ТПО разными диагностикумами не превышает 0,93 при сравнении данных по наличию/отсутствию Ат.

Весьма целесообразным и перспективным представляется использование моноклональных антител для контроля сохранности значимых

эпитопов ТПО в процессе её выделения и оценки их доступности на твердой фазе в изготовленных иммуноферментных диагностикумах.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Czarnocka D., Eshler D. C., Godlewska, Nomer Y. Thyroid autoantibodies: thyroid peroxidase and thyroglobulin antibodies. In: Shoenfeld Y, Meroni PL, Gerswin MT (eds) Autoantibodies, 3rd edn. Elsevier, Amsterdam, 2014, 365–373.
2. Tozzoli R., Villalta D., Bizzaro N. Challenges in the Standardization of Autoantibody Testing: a Comprehensive Review. Clin. Rev. Allergy Immunol., 2017, 53(1), 68–77.
3. Кузьмина Н. С., Кузнецова Г. И., Яковлева И. В., Свиридов В. В., Буркин М. А., Мартынов А. И. Иммуноферментный метод определения аутоантител к пероксидазе щитовидной железы. Аллергия, астма и клиническая иммунология. 2000, 1, 135–137.
4. Кузьмина Н. С., Яковлева И. В., Свиридов В. В., Зубков А. В., Кузнецова Г. И., Кириллова Г. А., Сергиенко О. В., Лукин В. Г., Буркин М. А., Летаров А. В., Лаврова Н. В., Рязанова Е. М. Моноклональные антитела к человеческой пероксидазе щитовидной железы. Биотехнология, 2005, № 1, 51–57
5. Butler J. E., Navarro P., Sun J. Adsorption-induced antigenic changes and their significance in ELISA and immunological disorders. Immunol. Invest. 1997, 26(1–2), 39–54.

## THE STERIC AVAILABILITY OF THYROID PEROXIDASE EPITOPES IN ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE DETERMINATION OF AUTOANTIBODIES

© 2019 N. S. Kuzmina\*, A. V. Zubkov, V. V. Sviridov

\*E-mail: ns\_kuzim@mail.ru

Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia

Received: 01.03.2019. Accepted: 12.03.2019

Evaluation of circulating autoantibodies (auto-At) to thyroid peroxidase (TPO) is widely used in the clinic to identify / confirm autoimmune diseases of the thyroid gland. Despite significant progress in creating tests for auto-At detection, the issues of their validation, standardization of methods attract close attention of both developers and users. Comparative studies of the level of antibodies in the blood serum of patients with diffuse toxic goiter, autoimmune thyroiditis using diagnosticum of different manufacturers showed that the discrepancies are associated with the TPO epitope structure immobilized on the solid phase. It is proposed to use monoclonal antibodies to control the antigenic structure of TPO as the process of isolation of the native protein, and the production of tests for the analysis of At to TPO.

*Key words:* enzyme immunoassay, autoantibodies, thyroid peroxidase, monoclonal antibodies

### Authors:

**Kuzmina N. S.**, ☒ Ph.D., leading research worker, Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia. E-mail: ns\_kuzim@mail.ru;

**Zubkov A. V.**, Ph.D., Head of the Laboratory for Immunological Diagnostics of Endocrine Diseases, Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia

**Sviridov V. V.**, Ph.D., Head of the Laboratory of Cell Hybrids, Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow, Russia.

## ГЛУТАМАТ-ОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ VLA-4 ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

© 2019 г. У. Ш. Кузьмина<sup>1</sup>, К. З. Бахтиярова<sup>2</sup>, Ю. В. Вахитова<sup>1\*</sup>

\*E-mail: juvv73@gmail.com

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение  
ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет  
Минздрава РФ, Уфа, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 14.03.2019

Проведено исследование влияния блокады AMPA и NMDA рецепторов глутамата на поверхностную экспрессию интегрин VLA-4 в интактных и антиген-активированных субпопуляциях CD69<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>, CD69<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup> и CD69<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, полученных от здоровых лиц и больных рассеянным склерозом (РС). Оценку уровня поверхностной экспрессии интегрин проводили с помощью проточной цитометрии методом иммунофлуоресцентного окрашивания. Согласно полученным данным, блокада NMDA рецепторов не сопровождается изменением поверхностной экспрессии VLA-4 во всех экспериментальных группах. В тоже время выявлены отличия в последствиях блокады AMPA рецепторов у больных РС по сравнению с группой здоровых лиц: на фоне NBQX у здоровых лиц наблюдается увеличение поверхностной экспрессии интегрин VLA-4 на клетках с фенотипом CD69<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup>, в то время как у пациентов с РС выявлено снижение исследуемого показателя в CD69<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> клетках. Таким образом, рецепторы глутамата вовлечены в регуляцию экспрессии VLA-4, локализованных на Т-лимфоцитах, что раскрывает возможные механизмы, посредством которых реализуются иммуномодулирующие функции глутамата при РС.

**Ключевые слова:** NMDA рецепторы, AMPA рецепторы, Т-лимфоциты, VLA-4, рассеянный склероз

DOI: 10.31857/S102872210006627-4

Адрес: 450054, Уфа, пр. Октября, д. 71, Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, лаборатория молекулярной фармакологии и иммунологии, Вахитова Юлия Венеровна. Тел./факс: +7(347)2–35–60–88.

E-mail: juvv73@gmail.com

Авторы:

**Кузьмина У. Ш.**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной фармакологии и иммунологии, Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия;

**Бахтиярова К. З.**, д.б.н., профессор кафедры неврологии с курсами нейрохирургии и медицинской генетики ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа, Россия;

**Вахитова Ю. В.**, д.б.н., чл.-корр. РАН, зав. лаборатории молекулярной фармакологии и иммунологии, Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Ключевым событием в патогенезе рассеянного склероза, прогрессирующего аутоиммунного и нейродегенеративного заболевания центральной нервной системы, считается миграция периферических аутореактивных миелин-специфических Т-клеток через гематоэнцефалический барьер в мозг [1]. Известно, что трансэндотелиальной миграции лимфоцитов осуществляется путем взаимодействия иммунных и эндотелиальных клеток посредством синтеза различных молекул, в частности интегринов. Кроме того, отмечена немаловажная роль статуса активации клеток в этом процессе, которая приобретает особую значимость, учитывая иммунопатогенез РС [2]. На сегодняшний день доказано наличие действующих рецепторов глутамата на Т-лимфоцитах и их вовлеченность в регуляцию различ-

ных базовых процессов, в том числе миграция иммунных клеток [1]. Тем не менее, открытым остается вопрос о роли глутамата и его рецепторов в механизмах трансэндотелиальной миграции Т-лимфоцитов. В связи с этим, настоящее исследование посвящено изучению функциональной значимости ионотропных рецепторов глутамата NMDA и AMPA в регуляции поверхностной экспрессии интегрин VLA-4 при РС.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 15 здоровых индивидов и 16 больных с ремиттирующим рассеянным склерозом в стадии обострения. Мононуклеары из периферической венозной крови доноров выделяли центрифугированием в градиенте плотности фиколла. Клетки ( $1 \times 10^5$  клеток/образец) инкубировали 24 часа с моноклональными антителами (МКА) к CD3 молекуле совместно с антагонистом NMDA рецепторов (+)MK801 (100 мкМ) или AMPA рецепторов NBQX (100 мкМ). Оценку уровня поверхностной экспрессии молекул адгезии проводили методом непрямого иммунофлуоресцентного окрашивания с помощью первичных МКА к интегрину VLA-4 и вторичных антител, конъюгированных с Alexa Fluor® 488. Иммунофенотипирование клеток осуществляли с использованием МКА CD69-PE и CD25-PE/Cy5. Интенсивность флуоресценции детектировали с помощью проточного цитофлуориметра «Novocyte 2060» с последующим анализом данных в программе NovoExpress® v.1.2.5. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью непараметрических методов анализа: U-критерий Манна-Уитни и t-критерий Вилкоксона.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным данным, действие антагонистов NBQX и (+)MK801 не оказывает влияния на уровень VLA-4 на нестимулированных Т-лимфоцитах как здоровых лиц, так и больных РС. Блокада NMDA и AMPA рецепторов на фоне антигенной активации Т-лимфоцитов у здоровых лиц вызывает, в целом, снижение исследуемого показателя, однако обращает на себя внимание повышение на фоне инкубации с NBQX экспрессии VLA-4 в субпопуляции CD69<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup> клеток по сравнению с соответствующим контролем. При инкубации aCD3-активированных клеток больных РС доноров с (+)MK801 или NBQX наблюдается тенденция к снижению уровня VLA-4 в CD69<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> и CD69<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> субпопуляциях. Блокада AMPA рецепторов достоверно снижает представленность молекулы адгезии на поверхности CD69<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> клеток. В совокупности полученные данные свидетельствуют о вовлеченности рецепторов глутамата в регуляцию экспрессии молекул адгезии на Т-клетках и вносят вклад в понимание важного с точки зрения патогенеза заболевания процесса, связанного с регуляцией эндогенными факторами функций иммунных клеток и их межклеточных взаимодействий.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Levite M.* Glutamate, T cells and multiple sclerosis. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017, 124, 775–798.
2. *González-Amaro R., Cortés J. R., Sánchez-Madrid F, Martín P.* Is CD69 an effective brake to control inflammatory diseases? *Trends Mol Med*. 2013, 19(10), 625–632.

**GLUTAMAT-MEDIATED MECHANISMS OF REGULATION  
OF VLA-4 EXPRESSION IN MULTIPLE SCLEROSIS**

© 2019 U. Sh. Kuzmina<sup>1</sup>, K. Z. Bakhtiyarova<sup>2</sup>, Yu. V. Vakhitova<sup>1\*</sup>

\*E-mail: juvv73@gmail.com

<sup>1</sup>IBG UFRC RAS, Ufa, Russia;

<sup>2</sup>FSBEI HE BSMU MOH Russia, Ufa, Russia

Received: 01.03.2019. Accepted: 14.03.2019

The effect of blockade of AMPA and NMDA glutamate receptors on the surface expression of integrin VLA-4 in intact and antigen-activated CD69<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>, CD69<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup> and CD69<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> subpopulations of T-lymphocytes obtained from healthy individuals and patients with multiple sclerosis (MS) was studied. The assessment of the level of surface expression of integrin was performed using flow cytometry using immunofluorescent staining. According to obtained data, blockade of NMDA receptors is not accompanied by a change in the surface expression of VLA-4 in all experimental groups. At the same time, differences in the consequences of the blockade of AMPA receptors in patients with MS compared with the group of healthy individuals were revealed: against the background of NBQX in healthy individuals, an increase in surface expression of VLA-4 was observed on cells with the CD69<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup> phenotype, while in patients with MS a decrease in the studied parameter was found in CD69<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> cells. Thus, glutamate receptors are involved in the regulation of the expression of VLA-4 localized on T-lymphocytes, which reveals the possible mechanisms by which the immunomodulating functions of glutamate are realized in MS.

*Key words:* NMDA receptors, AMPA receptors, T-lymphocytes, VLA-4, multiple sclerosis

**Authors:**

**Kuzmina U. Sh.**, PhD, Research scientist of molecular pharmacology and immunology, IBG UFRC RAS, Ufa, Russia;

**Bakhtiyarova K. Z.**, Dr. Sci. Biol., Professor of the Department of Neurology with courses of neurosurgery and medical genetics, FSBEI HE BSMU MOH, Ufa, Russia; Head of the republican center of Multiple Sclerosis, Ufa, Russia;

**Vakhitova Yu. V.**, ✉ Dr. Sci. Biol., corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of molecular pharmacology and immunology IBG UFRC RAS, Ufa, Russia. E-mail: juvv73@gmail.com

## ИНФЕКЦИОННЫЙ СТАТУС У ЖЕНЩИН С УГРОЗОЙ ПРЕРЫВАНИЯ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ В АНАМНЕЗЕ

© 2019 г. А. В. Куст<sup>1\*</sup>, Е. В. Козелкова<sup>1</sup>, А. В. Садыгова<sup>1</sup>,  
Н. Ю. Борзова<sup>1</sup>, А. В. Смирнова<sup>2</sup>, Н. В. Батрак<sup>2</sup>

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 27.03.2019

Целью исследования было определить особенности инфекционного статуса женщин с угрожающим выкидышем в ранние сроки беременности. Было установлено, что угроза прерывания беременности ассоциируется с наличием в периферической крови маркеров острого вирусного и бактериального инфицирования. В генез угрозы прерывания беременности при привычном невынашивании значительный вклад вносят микст-инфекции.

**Ключевые слова:** невынашивание беременности, урогенитальная инфекция

DOI: 10.31857/S102872210006628-5

Адрес: 153045 Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии. Куст Алена Валерьевна.

Тел./факс: +79109962148 (моб.)

E-mail: niimid.immune@mail.ru

**Авторы:**

**Куст А. В.**, аспирант лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «ИвНИИ МиД им.В.Н. Городкова» МЗ РФ, Иваново, Россия;

**Козелкова Е. В.**, аспирант отдела акушерства и гинекологии ФГБУ «ИвНИИ МиД им.В.Н. Городкова» МЗ РФ, Иваново, Россия;

**Садыгова А. В.**, аспирант отдела акушерства и гинекологии ФГБУ «ИвНИИ МиД им.В.Н. Городкова» МЗ РФ, Иваново, Россия;

**Борзова Н. Ю.**, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела акушерства и гинекологии ФГБУ «ИвНИИ МиД им.В.Н. Городкова» МЗ РФ, Иваново, Россия;

**Смирнова А. В.**, к.м.н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии, медицинской генетики ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» МЗ РФ, Иваново, Россия;

**Батрак Н. В.**, к.м.н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии, медицинской генетики ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» МЗ РФ, Иваново, Россия.

Проблема невынашивания беременности остается одной из основных в современном аку-

шерстве. В настоящее время частота данной акушерской патологии колеблется от 10 до 25% в популяции и зависит от множества факторов [1]. Вопрос об этиологической роли инфекционного фактора, как одного из основополагающих при развитии угрожающего выкидыша, широко дискутируется в литературе. Данные одних исследователей показывают, что инфекция является наиболее значимой причиной невынашивания как спорадического, так и привычного, в то же время, другие исследователи отмечают важную роль инфекционного фактора только для спорадического прерывания беременности [2]. Несмотря на отсутствие явной связи между привычным невынашиванием беременности и рецидивирующими генитальными инфекциями, в основном, из-за трудности демонстрации патогенной роли отдельно действующего инфекционного агента, по мнению ряда авторов, необходимо своевременно диагностировать и лечить инфекции мочеполового тракта у данной категории пациенток [3].

**Целью работы** было определение особенностей инфекционного статуса женщин с угрожающим выкидышем в ранние сроки бере-

менности при спорадическом и привычном невынашивании.

Исследования проводились на базе перинатального центра ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ. Всего было обследовано 259 беременных женщин в сроке гестации 5–12 недель. Основную группу составили 111 женщин с угрозой прерывания беременности и привычным невынашиванием в анамнезе. Группу сравнения составили 71 беременная женщина с угрозой прерывания беременности и без привычного невынашивания в анамнезе. Группу контроля составили 77 беременных женщин с неосложненным течением беременности. Для оценки инфекционного статуса в периферической венозной крови методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли уровень иммуноглобулинов классов G, A и M к возбудителям основных урогенитальных инфекций: *Herpes simplex virus*, *Cytomegalovirus*, *Epstein-Barr virus*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* («Вектор-Бест», Новосибирск, Россия). Статистическая обработка данных производилась с помощью программы «Statistica 6.0».

При анализе данных было установлено, что у женщин с угрозой прерывания настоящей беременности и привычным невынашиванием в анамнезе достоверно чаще по сравнению с контролем выявлялись IgM к *Herpes simplex virus* (27,9% и 10,4%,  $p=0,006$ ) и IgA к *Mycoplasma hominis* (15,5% и 3,9%,  $p=0,024$ ). В то же время, маркеры хронической микоплазменной инфекции определялись в исследуемых группах с одинаковой частотой. Нами так же было установлено, что у женщин с привычным невынашиванием беременности в 2 раза чаще определялись IgM к *Cytomegalovirus* и более чем в 2,5 раза чаще маркеры острой хламидийной инфекции по сравнению с остальными обследованными. В группе сравнения статистически значимым являлось увеличение частоты активной герпетической инфекции по сравнению с контролем (23,9% и 10,4%,  $p=0,048$ ). Следует отметить, что у женщин с неосложненным течением беременности и женщин с угрозой прерывания беременности в 3 раза чаще выявлялись антитела к *Epstein-Barr virus* ( $p=0,013$  и  $p=0,001$  соответственно) по сравнению с основной группой.

Полученные результаты свидетельствуют, что угроза прерывания беременности на ранних

сроках ассоциируется с наличием у пациенток маркеров острого вирусно-бактериального инфицирования. Причем при развитии угрозы прерывания у беременных с привычным невынашиванием отмечалось усиление иммунного ответа на герпетическую, цитомегаловирусную, хламидийную и микоплазменную инфекции. Тогда как при развитии спорадического невынашивания беременности ранних сроков патогенетическую роль играет только активная герпетическая инфекция. По данным литературы, механизм угрозы прерывания беременности при герпетической инфекции реализуется посредством снижения стероидогенеза в плаценте, что в свою очередь приводит к понижению уровня прогестерона, обеспечивающего гравидарный гомеостаз [4]. Кроме того, было показано, что микоплазменная моноинфекция, в свою очередь, сопряжена с изменением показателей гемостаза в плаценте, причем присоединение герпетической и хламидийной инфекции усиливает патологические процессы в сосудистом русле плаценты, приводя к развитию фетоплацентарной недостаточности [5]. Таким образом, при спорадическом невынашивании беременности патогенетическую роль играет герпетическая моноинфекция, тогда как при привычном невынашивании беременности наличие микстинфекции обуславливает развитие угрожающего преждевременного выкидыша.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Копобаева И. Л.* Привычное невынашивание беременности. *Journal Medicine*. 2015, 8 (158), 57–602. [*Коробаяева I. L.* Habitual pregnancy loss 2015, 8 (158), 57–602].
2. *Тулупова М. С.* Роль урогенитальной инфекции в проблеме невынашивания беременности по Приморскому краю. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2008, 3, 54–56. [*Tulupova M. S.* The role of urogenital infection in the problem of habitual pregnancy loss on the coastal region. *Far Eastern Medical Journal*. 2008, 3, 54–56].
3. *Nigro G., Mazzocco M., Mattia E., Di Renzo G. C., Carta G. & Anceschi M. M.* Role of the infections in recurrent spontaneous abortion. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2011, 24 (8), 983–989.
4. *Довжикова И. В.* Прогестерон в плаценте при беременности, осложненной обострением герпесвирусной инфекции. *Фундаментальные исследования*. 2010, 4, 44–49. [*Dovzhikova I. V.* Progesteron in placenta during pregnancy complicated by the aggravation of herpes virus infection. *Basic research*. 2010, 4, 44–49].
5. *Мальцева Л. И.* Механизмы развития осложнений беременности и перинатальных повреждений плода

при микоплазменной инфекции у женщин. Автореферат дис. д-ра мед. наук. 1996. Казань. [Maliseva L. I. Mechanisms of pregnancy complications development

and perinatal damage to the fetus during mycoplasmal infection in women. Dissertation abstract for the degree of Doctor of Medical Sciences, Kazan, 1996].

## INFECTIOUS STATUS IN WOMEN WITH THREATENED PREGNANCY LOSS AND HABITUAL MISCARRIAGE IN ANAMNESIS

© 2019 A. V. Kust<sup>1\*</sup>, E. V. Kozelkova<sup>1</sup>, A. V. Sadygova<sup>1</sup>, N. Yu. Borzova<sup>1</sup>, A. V. Smirnova<sup>2</sup>, N. V. Batrak<sup>2</sup>

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

<sup>1</sup>Federal State Budget Establishment «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkova» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia

<sup>2</sup>State Budget Educational Institution of of Higher Vocational Education «Ivanovo State Medical Academy» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 27.03.2019

The aim of the work was to define the type of the infectious status in women with early threatened abortion. It was established, that early threatened abortion is associated with the presence in the peripheral blood of markers of acute viral and bacterial infection. Mixt-infection makes an important contribution to the genesis of early threatened abortion in recurrent spontaneous abortion.

*Key words:* pregnancy loss, urogenital infection

### Authors:

**Kust A. V.**, ✉ postgraduate Student of the laboratory of clinical immunology, Federal State Budget Establishment «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkova» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia.

**E-mail:** niimid.immune@mail.ru;

**Kozelkova E. V.**, postgraduate Student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Reanimatology, Federal State Budget Establishment «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkova» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Sadygova A. V.**, postgraduate Student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Reanimatology, Federal State Budget Establishment «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkova» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Borzova N. Yu.**, MD, assistant professor, senior researcher of Department of Obstetrics and Gynecology, Federal State Budget Establishment «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkova» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Smirnova A. V.**, PhD, assistant of Department of Obstetrics and Gynecology State Budget Educational Institution of of Higher Vocational Education «Ivanovo State Medical Academy» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Batrak N. V.**, PhD, assistant of Department of Obstetrics and Gynecology State Budget Educational Institution of of Higher Vocational Education «Ivanovo State Medical Academy» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia.

## ЗНАЧЕНИЕ МЕДИАТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ

© 2019 г. М. А. Левкович<sup>1\*</sup>, И. И. Крукиер<sup>1</sup>, Л. Л. Ерджанян<sup>1</sup>,  
А. В. Калинина<sup>2</sup>

\*E-mail: xlma@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет  
Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный медицинский  
университет, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 18.03.2019

Проведено исследование уровней провоспалительных цитокинов и неоптерина у беременных с преждевременными родами на фоне плацентарной недостаточности (ПН). Установлено, что преждевременные роды ассоциированы с повышением в сыворотке крови и околоплодных водах содержания IL-6, IL-8 и неоптерина. Выявленные биологические маркеры могут быть использованы для прогноза преждевременных родов у пациенток с плацентарной недостаточностью с целью раннего назначения адекватной терапии.

**Ключевые слова:** Преждевременные роды, цитокины, плацентарная недостаточность

DOI: 10.31857/S102872210006629-6

**Адрес:** 344012, Ростов-на-Дону, Мечникова д.43, ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, отдел медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии. Левкович Марина Аркадьевна. Тел./факс: +7(863) 321840, 89185706436 (моб.).  
**E-mail:** xlma@mail.ru

### Авторы:

**Левкович М. А.**, д.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

**Крукиер И. И.**, д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

**Ерджанян Л. Л.**, врач акушер-гинеколог родильного дома ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

**Калинина А. В.**, студент ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный медицинский университет Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия.

Преждевременные роды по-прежнему являются одной из важнейших проблем медицины и основной причиной перинатальной смертности, заболеваемости и длительной инвалидизации [1]. Риск нарушений нейropsychического развития, респираторных и желудочно-кишечных осложнений значительно повышен у детей,

родившихся раньше срока. Преждевременные роды также сопряжены с высокими экономическими затратами на реабилитацию данного контингента новорожденных. Основываясь на различных фактических данных, преждевременные роды являются результатом как отягощённого акушерского анамнеза, инфекции, так и ранней активации медиаторов воспаления, которые, в свою очередь, предшествуют активации и сокращению миометрия [2, 3]. Важной причиной преждевременных родов является плацентарная недостаточность (ПН), развивающаяся в результате нарушения механизмов регуляции беременности [4]. Провоспалительные цитокины играют важную роль в иммуномодуляции, а дисбаланс их продукции также может привести к преждевременным родам [5]. В этой связи **целью исследования** явилось определение роли провоспалительных цитокинов и неоптерина в генезе преждевременных родов.

Под наблюдением находилось 78 женщин. I группу обследованных представили 38 пациенток с преждевременными родами в сроках с 32 до 36 недели беременности на фоне ПН. Контрольную группу составили 40 женщин, беременность и роды у которых протекали без осложнений и закончились рождением доношенного ребен-

ка. Диагноз плацентарной недостаточности был установлен на основании данных анамнеза, течения беременности, результатов ультразвуковой диагностики, доплерометрии, гормональных исследований.

Уровень цитокинов и неоптерина в сыворотке крови и околоплодных водах измеряли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Реакцию проводили согласно рекомендациям производителя. IL-6 с использованием тест-систем фирмы Цитокин (С.-Петербург, Россия), IL-8 с использованием тест-систем BenderMedsystems (Австрия), неоптерин – с использованием тест-системы IBL (Германия). При определении статистической обоснованности различия исследуемых групп применялся критерий Манна-Уитни для независимых групп и критерий Вилкоксона для зависимых групп. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

По данным литературы, IL-6 наряду с другими цитокинами, способствует успешной имплантации, способен секретироваться трофобластом. С другой стороны, IL-6 активировать коагуляционные реакции, может привести к нарастанию продукции простагландинов и преждевременному развитию родовой деятельности. Анализируя результаты исследования содержания IL-6, нам удалось установить, что в I группе по сравнению с контрольной выявлено достоверное повышение IL-6 в сыворотке крови ( $86,3 \pm 17,3$  пг/мл, против  $8,8 \pm 1,7$  пг/мл;  $p < 0,05$ ). Аналогичные данные обнаружены и в околоплодных водах – показатели у женщин I группы превышали контрольные в 11,5 раз ( $p < 0,05$ ).

IL-8 один из основных провоспалительных цитокинов, образуемый макрофагами, эпителиальными и эндотелиальными клетками. Играет важную роль в системе врождённого иммунитета, является ключевым индуктором острой воспалительной реакции. У женщин в группе I по сравнению с контрольной группой содержание IL-8 в сыворотке крови было выше в 2,5 раз ( $78,8 \pm 10,1$  пг/мл против  $32,1 \pm 13,5$  пг/мл;  $p < 0,05$ ), а в околоплодных водах в 2,5 раз ( $90,1 \pm 4,9$  пг/мл против  $35,6 \pm 11,1$  пг/мл;  $p < 0,05$ ).

Неоптерин является маркером активации клеточного иммунитета. Увеличение его концентрации связано с интенсивностью воспалительного процесса, усилением апоптоза клеток плаценты. Анализируя результаты исследования содержания неоптерина, обнаружено, что в I группе по сравнению с контрольной группой отмечалось достоверное повышение неоптерина

как в сыворотке крови ( $17,8 \pm 5,6$  пг/мл, против  $2,6 \pm 0,5$  пг/мл;  $p < 0,05$ ), так и в околоплодных водах ( $32,8 \pm 10,5$  пг/мл, против  $2,7 \pm 0,3$  пг/мл, соответственно,  $p < 0,05$ ). Наиболее высокий уровень неоптерина был зафиксирован в околоплодных водах.

Таким образом, активация воспалительного каскада играет важную роль в механизмах, вызывающих преждевременные роды. Гипоксия при ПН может индуцировать продукцию провоспалительных цитокинов, которые, в свою очередь, приводят к синтезу и высвобождению простагландинов, вызывающих сокращения матки. Выявленные биологические маркеры на системном и локальном уровне могут быть использованы для прогноза преждевременных родов у пациенток с плацентарной недостаточностью с целью раннего назначения адекватной терапии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Vrachnis N., Karavolos S., Iliodromiti Z., Sifakis S., Siristatidis C., Mastorakos G., Creatsas G.* Impact of mediators present in amniotic fluid on preterm labour. *In Vivo*. 2012, 26(5), 799–812.
2. *Левкович М. А., Линде В. А., Андреева В. О., Плахотья Т. Г., Нefeldова Д. Д.* Иммуно-гормональные взаимодействия в генезе невынашивания беременности ранних сроков. *Акушерство и гинекология*. 2012, 8–1, 10–14. [*Levkovich M. A., Linde V. A., Andreeva V. O., Plakhotya T. G., Nefedova D. D.* Immune-hormonal interactions in the genesis of miscarriage of early pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. 2012, 8–1, 10–14].
3. *Cappelletti M., Della Bella S., Ferrazzi E., Mavilio D., Divanovic S.* Inflammation and preterm birth. *J Leukoc Biol*. 2016, 99(1), 67–78.
4. *Левкович М. А., Плахотья Т. Г., Бердичевская Е. М., Цатурян Л. Д.* Особенности цитокиновой регуляции при хронической плацентарной недостаточности. Современные проблемы науки и образования. 2016, 4. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=249059>. [*Levkovich M. A., Plakhotya T. G., Berdichevskaya E. M., Tsaturyan L. D.* Features of cytokine regulation in chronic placental insufficiency // *Modern problems of science and education*. 2016, 4. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=249059>].
5. *Крукиер И. И., Авруцкая В. В., Левкович М. А., Нарежная Е. В., Смолянинов Г. В., Ерджанян Л. Л., Никашина А. А.* Особенности изменения биорегуляторов и органических кислот в сыворотке крови и амниотической жидкости женщин со спонтанными преждевременными родами. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2018, Т. 73, 6, 361–367. [*Krukier I. I., Avrutskaya V. V., Levkovich M. A., Narezhnaya E. V., Smolyaninov G. V., Erdzhanyan L. L., Nikashina A. A.* Features of changes in

bioregulators and organic acids in the serum and amniotic fluid of women with spontaneous preterm labor.

Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences. 2018, T. 73, 6, 361–367].

## THE VALUE OF INFLAMMATORY MEDIATORS IN THE PATHOGENESIS OF PRETERM BIRTH

© 2019 M. A. Levkovich<sup>1\*</sup>, I. I. Krukier<sup>1</sup>, L. L. Erganian<sup>1</sup>,  
A. V. Kalinina<sup>2</sup>

\*E-mail: xlma@mail.ru

<sup>1</sup>Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia;

<sup>2</sup>St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Received: 01.03.2019. Accepted: 18.03.2019

The study of the levels of proinflammatory cytokines and neopterin in pregnant women with preterm labor against the background of placental insufficiency (PN). Preterm labor has been found to be associated with an increase in serum and amniotic fluid in IL-6, IL-8 and neopterin levels. Identified biological markers can be used to predict preterm labor in patients with placental insufficiency for the purpose of early administration of adequate therapy.

*Key words:* Preterm labor, cytokines, placental insufficiency

### Authors:

**Levkovich M. A.**, ✉ Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Leading Researcher of the Department of Biomedical Problems in Obstetrics, Gynecology and Pediatrics Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia.  
**E-mail:** xlma@mail.ru;

**Krukier I. I.**, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher of the Department of Biomedical Problems in Obstetrics, Gynecology and Pediatrics Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia;

**Yerdzhanyan L. L.**, Obstetrician-gynecologist at the maternity hospital of the Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia;

**Kalinina A. V.**, student of St. Petersburg state medical University of the Ministry of health of Russia, St. Petersburg, Russia.

## ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

© 2019 г. М. А. Левкович\*, Л. В. Кравченко, А. Ю. Левкович, М. В. Пятикова

\*E-mail: xlma@mail.ru.

ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет  
Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 19.03.2019

Приведены новые данные, подтверждающие роль нарушений иммунной системы в патогенезе генерализованной герпетической инфекции. Установлено, что у новорожденных детей развитие генерализованной герпесвирусной инфекции сопряжено с нарушением цитокинового баланса с тенденцией направленности по Th2-типу иммунного ответа, недостаточностью продукции IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ .

**Ключевые слова:** Врожденная герпетическая инфекция, иммунитет, цитокины, интерферон

DOI: 10.31857/S102872210006630-8

**Адрес:** 344012, Ростов-на-Дону, Мечникова д. 43, ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, отдел медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии. Левкович Марина Аркадьевна. Тел./факс: +7(863) 321840, 8918 570 64 36 (моб.).  
**E-mail:** xlma@mail.ru.

### Авторы:

**Левкович М. А.**, д.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

**Кравченко Л. В.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник педиатрического отдела ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

**Левкович А. Ю.**, к.м.н., зав. отделением новорожденных ГБУ Областная клиническая больница № 2, Ростов-на-Дону, Россия, Ростов-на-Дону, Россия;

**Пятикова М. В.**, врач-педиатр отделения детей младшего возраста ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия.

Актуальность проблемы врожденных инфекций обусловлена не только существенными пери- и постнатальными потерями, но и тем, что у детей, перенесших тяжелые формы заболевания, очень часто развиваются серьезные нарушения здоровья, нередко приводящие к снижению качества жизни в целом [1, 2]. В настоящее время в структуре инфекционной патологии но-

ворожденных возросла роль инфекции, вызванной вирусом простого герпеса (ВПГ) 1, 2 типа. Это заболевание характеризуется склонностью к генерализации, высокой частотой поражения ЦНС, трудностью диагностики, прогнозирования течения, высокой частотой инвалидизации.

Учитывая, что в реализации инфекционного процесса ведущая роль отводится состоянию защитных сил организма, важным аспектом является изучение иммунного ответа новорожденных при генерализованной герпетической инфекции. Цитокиновая регуляция иммунного ответа при герпесвирусной инфекции является сложным многокомпонентным процессом, обеспечивающим поддержание баланса между стимуляторами и ингибиторами как врожденного, так и адаптивного иммунитета [3, 4, 5]. Особый интерес представляет изучение системы цитокинов, как регуляторов воспалительных реакций, медиаторов врожденного иммунитета и важных молекул «противовирусной» защиты.

В этой связи **целью исследования** явилось выявление роли про и противовоспалительных цитокинов в развитии врожденной генерализованной герпетической инфекции у новорожденных детей.

Изучены клинико-лабораторные данные 48 новорожденных в раннем неонатальном периоде.

У 26 детей (I группа) имела место генерализованная герпетическая инфекция. Контрольную группу составили 22 клинически здоровых новорожденных. Диагноз ставился на основании клинической картины заболевания, выявления ДНК ВПГ 1, 2 в крови и в моче, нарастания титров специфических IgG к ВПГ в динамике, обнаружения IgM в сыворотке крови у ребенка. Определение содержания цитокинов IL-4, IFN $\gamma$ , IFN $\alpha$  в сыворотке крови проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов реагентов «Протеиновый контур» г. Санкт-Петербург. При определении статистической обоснованности различия исследуемых групп применялся критерий Манна-Уитни.

Известно, что повышение выработки IFN $\alpha$  способствует подавлению репликации вируса, увеличивая экспрессию антигенов МНС I класса, вследствие чего повышается чувствительность вирус-инфицированных клеток к цитотоксическому действию Т-лимфоцитов. Кроме того, под действием IFN $\alpha$  активируются NK-клетки, в результате чего усиливается синтез IFN $\gamma$ , являющегося важнейшим фактором в дифференцировке Т-хелперов и развитии противовирусной защиты.

Анализ результатов исследования уровня IFN $\alpha$  в сыворотке периферической крови показал, что в раннем неонатальном периоде у детей I группы его уровень составил в среднем  $10,3 \pm 5,2$  пг/мл, что было в 1,5 раз ниже ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Изучение IFN $\gamma$  у детей с инфекцией, вызванной ВПГ 1, 2 типа, выявило, что его уровень был в среднем  $46,7 \pm 8,3$  пг/мл, что в 2,1 раза ниже ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контрольной группой. Приведенные данные указывают на то, что состояние системы интерферона у новорожденного ребенка определяют его иммунологическую зрелость и степень противовирусной защиты, низкая выработка интерферона у новорожденных детей свидетельствует о неполноценности этого защитного механизма и служит причиной возникновения и тяжелого течения герпесвирусных инфекций.

Содержание противовоспалительного цитокина IL-4 в I группе в раннем неонатальном периоде составило  $281,1 \pm 41,3$  пг/мл, что было в 3,5 раз выше ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контрольной

группой. Данная ситуация отражает доминирование противовоспалительных цитокинов и ведет к снижению противовирусной защиты.

Таким образом, развитие врожденной генерализованной герпесвирусной инфекции новорожденных детей сопряжено с нарушением цитокинового баланса с тенденцией направленности по Th2-типу иммунного ответа, недостаточностью IFN-реакции лейкоцитов периферической крови, как в отношении IFN $\alpha$ , так и в отношении IFN $\gamma$ .

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Purewal R., Costello L., Garlapat S., Mitra S., Mitchell M., Moffett K.S. Congenital Herpes Simplex Virus in the Newborn: A Diagnostic Dilemma. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*. 2016, 5(3), e21–e23
2. Gantt S. and Muller W.J. The Immunologic Basis for Severe Neonatal Herpes Disease and Potential Strategies for Therapeutic Intervention. *Clin Dev Immunol*. 2013, 1–16.
3. Кравченко Л. В., Левкович М. А. Механизмы иммуносупрессии при частых острых респираторно-вирусных инфекциях у детей, перенесших цитомегаловирусную инфекцию в периоде новорожденности. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия. 2017, 9(3), 34–38. [Кравченко Л. В., Левкович М. А. Mechanisms of immunosuppression with frequent acute respiratory viral infections in children who have had a cytomegalovirus infection in the neonatal period. *HIV infection and immunosuppression*. 2017, 9 (3), 34–38].
4. Левкович М. А., Афонин А. А., Кравченко Л. В., Левкович А. Ю., Демидова М. В., Заурова Л. М. Показатели иммунного статуса и функциональной активности лимфоцитов у новорожденных детей с герпесвирусной инфекцией. *Российский аллергологический журнал*. 2013, 2–2, 174–175. [Левкович М. А., Афонин А. А., Кравченко Л. В., Левкович А. Ю., Демидова М. В., Заурова Л. М. Indicators of the immune status and functional activity of lymphocytes in newborns with herpes virus infection. *Russian allergological journal*. 2013, 2–2, 174–175].
5. Кравченко Л. В., Левкович М. А., Пятикова М. В. Роль полиморфизма гена интерферона  $\gamma$  и интерферонпродукции в патогенезе инфекции, вызванной вирусом герпеса 6 типа у детей раннего возраста. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018, 63(6), 357–361. [Кравченко Л. В., Левкович М. А., Пятикова М. В. The role of interferon- $\gamma$  gene polymorphism and interferon production in the pathogenesis of the infection caused by the herpes simplex virus type 6 in young children. *Clinical laboratory diagnosis*. 2018, 63 (6), 357–361].

## CYTOKINE PROFILE OF NEWBORN CHILDREN WITH GENERALIZED HERPETIC INFECTION

© 2019 М. А. Levkovich\*, L. V. Kravchenko, A. Yu. Levkovich,  
M. V. Pyatikova

\*E-mail: xlma@mail.ru.

Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

**Received:** 01.03.2019. **Accepted:** 19.03.2019

New data confirming the role of immune system disorders in the pathogenesis of generalized herpes infection are presented. It has been established that in newborns the development of generalized herpes virus infection is associated with impaired cytokine balance, with a tendency to T2 directional type of immune response, insufficiency of IFN $\alpha$  and IFN $\gamma$  production.

*Key words:* Intrauterine herpes infection, immunity, cytokines, interferon

### Authors:

**Levkovich M. A.**, ✉ Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Leading Researcher of the Department of Biomedical Problems in Obstetrics, Gynecology and Pediatrics Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia.  
**E-mail:** xlma@mail.ru;

**Kravchenko L. V.**, doctor of medical sciences, associate professor, leading researcher of the pediatric department of Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia;

**Levkovich A. Y.**, Candidate of Medical Sciences, head. Department of Newborns Regional Clinical Hospital № 2, Rostov-on-Don, Russia;

**Pyatikova M. V.**, pediatrician of the department of young children Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia.

## КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ИШЕМИИ ПЕЧЕНИ

© 2019 г. Е. С. Литвинова\*, А. И. Конопля

\*E-mail: [kat\\_roma@mail.ru](mailto:kat_roma@mail.ru)

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Курск, Россия

Поступила: 26.02.2019. Принята: 12.03.2019

При экспериментальной острой ишемии печени установлена супрессия формирования клеточной и гуморальной форм иммунного ответа на эритроциты барана, снижение функционально-метаболической активности нейтрофилов циркулирующей крови. Установлено, что белки культуральной жидкости аллогенных гепатоцитов новорожденных крыс с ММ менее 130 кД обладают выраженной иммунокорректирующей эффективностью, а белки более 130 кД такой активностью не обладают.

**Ключевые слова:** острая ишемия печени, белки аллогенных гепатоцитов, иммунокоррекция

DOI: 10.31857/S102872210006631-9

Адрес: 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра патологической анатомии, Литвинова Екатерина Сергеевна. Тел.: 89103140949.

E-mail: [kat\\_roma@mail.ru](mailto:kat_roma@mail.ru)

Авторы:

Литвинова Е. С., к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия; Конопля А. И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой биохимии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия.

Проблема диагностики и терапии острых заболеваний печени продолжает оставаться актуальной и в настоящее время из-за сложности дифференциальной диагностики и оптимального выбора эффективных способов лечения на фоне продолжающегося роста количества пациентов с данной нозологией [1, 2]. Иммунные нарушения, возникающие при гипоксии различного генеза, и механизмы их развития остаются все еще малоизученными [3]. Раскрытию данных нарушений при хроническом и остром ишемическом поражении печени (ОИПП), разработке способов их фармакологической коррекции в настоящее время уделено недостаточное внимание.

В связи с этим целью исследования стало исследование эффективности выделенных белков

из культуральной жидкости аллогенных гепатоцитов в коррекции иммунных нарушений при остром ишемическом поражении печени.

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на здоровых половозрелых крысах Вистар с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных. ОИПП вызывали оперативным методом под внутрибрюшинным гексеналовым наркозом путем пережатия гепатодуоденальной связки с помощью турникета в течение 20 минут. Выделение аллогенных гепатоцитов от новорожденных животных производилась по методике M. N. Berry, D. S. Friend [4], из которых получали культуральную жидкость (КЖАГ) [5]. Для получения белков из КЖАГ их осаждали трехуксусной кислотой, после центрифугирования осадок разводили в 0,9% растворе хлорида натрия и диализовали в двух сменах фосфатно-солевого буфера. После определения концентрации белка и доведения его 0,9% раствором хлорида натрия до 5 мг/мл, полученный раствор фильтровали через стерилизационные мембраны 0,2 мкм, расфасовывали в стерильные флаконы по 2 мл и лиофилизовали на установке лиофильной сушки «VIRTIS». Полученные белки КЖАГ начинали вводить одновременно

с моделированием острой ишемии печени внутрибрюшинно, пятикратно, с 24-часовым интервалом, из расчета 5 мг/кг белка. В качестве контроля использовали здоровых крыс и ложнооперированных.

Для развития гуморального и клеточного иммунного ответа использовали эритроциты барана (ЭБ). Выраженность гуморального иммунного ответа (ГИО) оценивали на пятые сутки после иммунизации путем определения в селезенке числа антителообразующих клеток (АОК). О выраженности гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) судили по разнице масс (РМ) регионарного и контралатерального лимфатических узлов и по разнице количества в них кариоцитов (РК). Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови оценивалась по фагоцитарному показателю, фагоцитарному числу и индексу активности фагоцитоза (ФП, ФЧ, ИАФ), а кислородзависимую – по НСТ-тестам спонтанному (НСТ-сп.) и стимулированному опсонизированным и неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з, НСТ-ст. о/з), коэффициентам опсонизации, активации на опсонизированный и неопсонизированный зимозан (КО, Кан, Као). Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления медианы (Ме) и 25 и 75 перцентилей с помощью пакета компьютерной программы Statistica 8. Существенность различий оценивали по U-критерию Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ОИПП приводит к супрессии развития ГИО и ГЗТ на ЭБ и снижению функционально-метаболической активности циркулирующих нейтрофилов. Белки КЖАГ с ММ более 130 кД не влияли при их введении на изученные параметры адаптивного и врожденного иммунитета. Введение же белков КЖАГ с ММ менее 130 кД нормализует показатели ГЗТ (РМ и РК), фагоцитарной (ФП, ФЧ и ИАФ) и кислородзависимой метаболической (НСТ-сп., НСТ-ст. н/з и о/з, КО) активности полиморфно-ядерных лейкоцитов периферической крови и корригирует формирование ГИО (АОК) и значения

функционального резерва нейтрофилов в ответ на стимуляцию неопсонизированным и опсонизированным зимозаном (Кан и Као)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Евсеева М. Н., Шептулина А. Ф., Рубцов Ю. П. Перспективы создания аутологических гепатоцитов для лечения печеночной недостаточности. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2015. – № 6. – С. 49–57. [Evseeva M. N., Sheptulina A. F., Rubtsov Yu. P. Prospects of autologous hepatocytes for liver failure treatment. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. – 2015. – № 6. – S. 49–57.]
2. Терехова С. В., Быстрова Н. А., Литвинова Е. С., Гаврилюк Е. В. Коррекция аллогенными гепатоцитами иммунометаболических нарушений при экспериментальной ишемии печени. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 414–417. [Terehova S. V., Bystrova N. A., Litvinova E. S., Gavriluk E. V. Correction of allogeneic hepatocytes and immunometabolic disorders in experimental liver ischemia. System analysis and management in biomedical systems. – 2012. – Т. 11, № 2. – S. 414–417.]
3. Николаев С. Б., Быстрова Н. А., Лазаренко В. А., Конопля А. И. Иммунометаболические нарушения в условиях гипоксии и их фармакологическая коррекция. – Курск: Изд-во ГОУ ВПО КГМУ Росздрава России, 2010. – 226 с. [Nikolaev S. B., Bystrova N. A., Lazarenko V. A., Konoplia A. I. Immunometabolic disorders in hypoxia and their pharmacological correction. – Kursk: Izd-vo GO VPO KGMU Roszrava Rossii, 2010. – S. 226.]
4. Berry M. N., Friend D. S. High-yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells. The journal of Cell Biology. – 1969. – Vol. 43, N3. – P. 506–520.
5. Разумова М. С., Литвинова Е. С., Быстрова Н. А., Локтионов А. Л. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов периферической крови при использовании ксено-, аллогенных гепатоцитов, фибробластов и их культуральной жидкости при экспериментальном остром токсическом поражении печени. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2015. – Т. 14, № 4. – С. 714–720. [Razumova M. S., Litvinova E. S., Bystrova N. A., Loktionov A. L. Functional metabolic activity of peripheral blood neutrophils using xeno-, allogeneic hepatocytes, fibroblasts and their culture fluid in experimental acute toxic liver damage. System analysis and management in biomedical systems. – 2015. – Т. 14, № 4. – S. 714–720.]

## CORRECTION OF IMMUNE DISORDERS IN EXPERIMENTAL ACUTE LIVER ISCHEMIA

© 2019 E. S. Litvinova\*, A. I. Konoplya

\*E-mail: [kat\\_roma@mail.ru](mailto:kat_roma@mail.ru)

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Received: 26.02.2019. Accepted: 12.03.2019

In experimental acute ischemia of the liver, suppression of the formation of the cellular and humoral forms of the immune response to sheep erythrocytes, a decrease in the functional and metabolic activity of circulating blood neutrophils has been established. It was established that proteins of the culture fluid of allogeneic hepatocytes of newborn rats with MM less than 130 kD have a pronounced immunocorrective efficiency, and proteins more than 130 kD do not possess such activity.

*Key words:* acute liver ischemia, proteins allogenic hepatocytes, immunocorrection

### Authors:

**Litvinova E. S.**, ✉ PhD, Assistant Professor, the Pathology Anatomy Department, FSBEI HE Kursk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia. **E-mail:** [kat\\_roma@mail.ru](mailto:kat_roma@mail.ru);

**Konoplya A. I.**, MD, Professor, Distinguished Academic, Head of the Department of Biological Chemistry, FSBEI HE Kursk State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kursk, Russia.

## ИММУНОЭНДОКРИННЫЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ В ПРОЦЕССЕ АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

© 2019 г. О. А. Лобачева\*, Т. П. Ветлугина, Е. Г. Корнетова,  
А. В. Семке

\*E-mail: oalobacheva@mail.ru

НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского  
медицинского центра Российской академии наук», Томск, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Изучение динамики иммуноэндокринных параметров у 27 больных шизофренией показало, что острый период шизофрении после длительного поддерживающего лечения кветиапином сопровождается иммуногормональным дисбалансом, характеризующимся клеточным иммунодефицитом, увеличением концентрации ТТГ, снижением уровня тиреоидных гормонов и длительным повышением уровня кортизола в крови. Полученные данные позволяют в дальнейшем выявить критерии персонализированного подхода к лечению пациентов с возможным присоединением дополнительной фармакотерапии с первых дней поступления пациентов в стационар.

**Ключевые слова:** шизофрения, кветиапин, параметры иммунитета, гормоны

DOI: 10.31857/S102872210006632-0

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, 4., НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, лаборатория клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, Лобачева Ольга Анатольевна. Тел.: +7(3822)724-415, +79138893396 (моб.)

E-mail: oalobacheva@mail.ru

**Авторы:**

**Лобачева О. А.**, д.м.н., в.н.с. лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Ветлугина Т. П.**, д.б.н., проф., заслуженный деятель науки РФ, в.н.с. лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Корнетова Е. Г.**, д.м.н., в.н.с. отделения эндогенных расстройств НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Семке А. В.**, д.м.н., проф., заведующий отделением эндогенных расстройств НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Основным способом лечения шизофрении является длительная антипсихотическая терапия, которая улучшает долгосрочный прогноз заболевания и способствует его переходу в состояние ремиссии. Длительное употребление антипсихотиков кроме основного антипсихотического действия приводит к нарушению нейроиммуноэндокринного взаимодействия, которое,

являясь важным звеном патогенеза психических расстройств, утяжеляет клиническую картину заболевания, способствует формированию терапевтической резистентности, нежелательных побочных явлений психотропной терапии, снижает эффективность лечения пациентов [1–3].

Несмотря на то, что в литературе накапливаются данные по сравнительному влиянию применения типичных и атипичных антипсихотиков на гомеостатические системы организма [1, 4, 5], изучение нейроиммуноэндокринных взаимоотношений в процессе длительного применения атипичных антипсихотиков является актуальным для разработки методов повышения эффективности терапии и поиска критериев дифференцированного назначения антипсихотиков.

**Целью** настоящего исследования было изучение влияния длительной терапии атипичным нейролептиком кветиапином на показатели иммунитета и уровни гормонов у больных шизофренией.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 27 больных шизофренией (диагноз по МКБ-10 F20.01, F20.02) с давностью катмнеза заболевания не менее

1 года, в возрасте от 20 до 45 лет (средний возраст  $32,19 \pm 2,23$  лет), принимавших кветиапин в качестве базисной противорецидивной терапии не менее 6 месяцев перед поступлением в стационар.

Лабораторное обследование включало фенотипирование иммунокомпетентных клеток по кластерам дифференцировки CD методом проточной цитометрии (цитометр FACS Calibur, BD, США; набор реактивов MultiTEST IMK Kit Reagent, BD, США), определение иммуноглобулинов IgM, IgG, IgA методом ИФА, циркулирующих иммунных комплексов ЦИК, концентраций гормонов в сыворотке крови (кортизол, пролактин, тиреотропный гормон (ТТГ), трийодтиронин свободный (Т3) и тироксин свободный (Т4) методом ИФА (наборы ИФА-БЕСТ (ЗАО «Вектор-Бест», Россия).

Исследование проводилось в двух точках: 1-я – при поступлении пациента в стационар в период обострения, 2-я – через 4–6 недель терапии. Контроль – 76 практически здоровых лиц.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета STATISTICA для Windows (V.12.0). Описательная статистика представлена медианой (Me) и межквартильным интервалом (LQ; UQ). Применяли U-критерий Манна-Уитни для сравнения независимых выборок, корреляционный анализ проводился с расчетом коэффициента ранговой корреляции по Спирмену ( $r_s$ ). За критический уровень значимости  $p$  был принят 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 1-й точке исследования выявлено изменение субпопуляционного состава лимфоцитов крови: по сравнению со здоровыми лицами выявлено снижение количества  $CD3^+CD19^-$  (59 (51; 69)% и 76 (69; 80)% в контроле,  $p=0,040$ ) и  $CD3^+CD4^+$ -клеток (43 (32; 49)% и 48 (43; 55)% в контроле,  $p=0,007$ ), повышение численности  $CD3^+HLADR^+$ -лимфоцитов (18 (12; 26)% и 14 (12; 14)% в контроле,  $p=0,004$ ),  $CD3^+CD16^+CD56^+$  (14 (12; 18)% и 5 (4; 7)% в контроле,  $p=0,001$ ) на фоне увеличения уровня кортизола (677,80 (574,90; 888,80) нмоль/л и 460,48 (359,8; 538,10) нмоль/л в контроле,  $p=0,001$ ), ТТГ (2,50 (1,60; 3,60) мМЕ/л и 1,28 (0,74; 1,68) мМЕ/л в контроле,  $p=0,008$ ), и снижения Т3 (1,45 (1,20; 2,80) пмоль/л и 5,16 (4,40; 5,39) пмоль/л в контроле,  $p=0,007$ ) и Т4 (11,20 (9,20; 13,0) пмоль/л и 18,40 (14,69; 22,73) пмоль/л в контроле,  $p=0,003$ ). Уровень пролактина в 1-й точке ис-

следования практически не отличался от контрольного (198,20 (72,30; 447,30) и 245,06 (131,59; 420,35) мМЕ/л в контроле,  $p=0,749$ ). В процессе лечения в стационаре позитивная динамика психопатологической симптоматики сопровождалась позитивной динамикой  $CD3^+$ - и  $CD3^+CD4^+$ -лимфоцитов, уровень кортизола и ТТГ оставался высоким на фоне тенденции к дальнейшему повышению уровня пролактина.

Корреляционный анализ выявил достоверные взаимосвязи между  $CD3^+CD8^+$ -лимфоцитами и пролактином ( $r_s = -0,60$ ,  $p=0,048$ ), ЦИК и кортизолом ( $r_s = 0,82$ ,  $p=0,007$ ); усиливается вовлеченность в иммуноэндокринную интеграцию тиреотропного гормона:  $CD3^+CD8^+$  и ТТГ ( $r_s = -0,67$ ,  $p=0,035$ ),  $CD3^+CD16^+CD56^+$  и ТТГ ( $r_s = -0,65$ ,  $p=0,041$ ),  $CD3^+CD95^+$  и ТТГ ( $r_s = 0,74$ ,  $p=0,014$ ), IgA и ТТГ ( $r_s = -0,81$ ,  $p=0,004$ ) и тироксина:  $CD3^+CD16^+56^+$  и Т4 ( $r_s = 0,63$ ,  $p=0,050$ ),  $CD3^+CD19^+$  и Т4 ( $r_s = 0,67$ ,  $p=0,035$ ),  $CD3^+CD95^+$  и Т4 ( $r_s = -0,62$ ,  $p=0,046$ ).

Таким образом, для острого периода шизофрении после длительного поддерживающего лечения кветиапином характерен иммуногормональный дисбаланс с клеточным иммунодефицитом, увеличением выработки тиреоидных гормонов, которые повышают метаболическую активность и чувствительность тканей организма к циркулирующим в крови катехоламинам, а также длительным повышением уровня кортизола в крови, что является одним из механизмов иммуносупрессии при шизофрении. Отсутствие повышенной секреции пролактина по данным литературы возможно связано с тем, что антипсихотики с низким сродством к D2-рецепторам (кветиапин) вызывают гиперпролактинемия в меньшей степени или характеризуются ее полным отсутствием [4]. В целом, полученные данные демонстрируют, что отклонения в системе нейроиммуноэндокринной регуляции являются единым патогенетическим механизмом развития эндогенных расстройств и позволяют в дальнейшем выявить критерии персонализированного подхода к лечению пациентов с возможным присоединением дополнительной фармакотерапии с первых дней поступления пациентов в стационар.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Теоретические и практические аспекты психонейроэндокринологии. / Под ред. проф. Л. Н. Горобец. М.: 2012, 40–57. [Theoretic and practical aspects of psychoneuroendocrinology. L. N. Gorobets, ed. Moscow: 2012, 40–57].

2. Müller N. Immunological aspects of the treatment of depression and schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci.* 2017, 19(1), 55–63.
3. Никитина В. Б., Лобачева О. А., Ветлугина Т. П., Аксенов М. М., Лебедева В. Ф. Нейроиммуноэндокринные нарушения при психических расстройствах и болезнях зависимости. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии.* 2018, 2(99), 45–55. [Nikitina V. B., Lobacheva O. A., Vetlugina T. P., Aksenov M. M., Lebedeva V. F. Neuroimmunoendocrine dysfunctions in mental disorders and addictions. *Siberian Journal of Psychiatry and Addiction Psychiatry.* 2018, 2(99), 45–55].
4. Мосолов С. Н., Цукарзи Э. Э., Капилетти С. Г. Антипсихотическая фармакотерапия шизофрении: от научных данных к клиническим рекомендациям. В кн.: Биологические методы терапии психических расстройств / Ред. Мосолов С. Н. Доказательная медицина – клинической практике. Москва, 2012, 11–61. [Mosolov S. N., Tsukarzi E. E., Kapiletti S. G. Antipsychotic pharmacotherapy of schizophrenia: from scientific data to clinical recommendations. In: *Biological methods of therapy of mental disorders.* S. N. Mosolov, ed. Evidence based medicine for clinical practice. – Moscow, 2012, 11–61].
5. Ветлугина Т. П., Лобачева О. А., Альперина Е. Л., Жукова Е. Н., Семке А. В., Никитина В. Б., Чейдо М. А., Идова Г. В. Клинико-экспериментальные исследования иммуномодулирующего эффекта amisulприда. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2012, 12(67), 13–17. [Vetlugina T. P., Lobacheva O. A., Al'perina E. L., Zhukova E. N., Semke A. V., Nikitina V. B., Cheido M. A., Idova G. V. Clinical and experimental research of immunomodulatory effect of amisulpride. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2012, 12(67), 13–17].

## IMMUNOENDOCRINE DISTURBANCES IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA IN THE PROCESS OF ANTIPSYCHOTIC THERAPY

© 2019 О. А. Lobacheva\*, Т. П. Vetlugina, Е. Г. Kornetova, А. V. Semke

\*E-mail: oalobacheva@mail.ru

*Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC), Tomsk, Russia*

**Received:** 14.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

Study of dynamics of immunoendocrine parameters in 27 patients with schizophrenia has shown that acute period of schizophrenia after long-term maintenance treatment with quetiapine is accompanied by immune-hormonal imbalance characterized by cellular immune deficit, increase in the concentration thyroid-stimulating hormone, reduction in thyroid hormones and prolonged elevation of the level of cortisol in blood. The obtained data will allow further revealing the criteria of personalized approach to treatment of patients with possible joining additional pharmacotherapy from the first days of the admission of patients in the hospital.

*Key words:* schizophrenia, quetiapine, immune parameters, hormones

### Authors:

**Lobacheva O. A.**, ✉ MD, lead researcher of the Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia. **E-mail:** oalobacheva@mail.ru;

**Vetlugina T. P.**, D. Sc., Prof., lead researcher of the Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Head of the Department of Biological Psychiatry and Narcology, Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia;

**Kornetova E. G.**, MD., lead researcher of the Endogenous Disorders Department, Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia;

**Semke A. V.**, MD., Prof., Head of the Endogenous Disorders Department, Mental Health Research Institute of Tomsk NRMC, Tomsk, Russia.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ IL-17A И IL-17F У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2019 г. Ю. В. Логинова\*, О. С. Абрамовских, Т. И. Никонова

\*E-mail: clinlab74@mail.ru

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

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

В работе представлены результаты по анализу частот распределения аллелей и генотипов полиморфных локусов генов IL-17A rs2275913 и IL-17F rs763780 у женщин с невынашиванием беременности. Статистически значимых различий в распределении аллелей и генотипов олигонуклеотидных полиморфизмов генов IL-17A rs2275913 и IL-17F rs763780 у женщин с невынашиванием беременности в сравнении с группой условно здоровых женщин с двумя и более успешными (реализованными) беременностями в паре с одним и тем же партнером не выявлено.

**Ключевые слова:** невынашивание беременности, интерлейкин 17, однонуклеотидный полиморфизм

DOI: 10.31857/S102872210006633-1

Адрес: 454092 Челябинск, ул. Воровского, 64, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Логинова Юлия Владимировна. Тел.: +7 (351) 2327456; +7950 730 63 54 (моб.).

E-mail: clinlab74@mail.ru

Авторы:

**Логинова Ю. В.**, младший научный сотрудник научно-исследовательского института иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия;

**Абрамовских О. С.**, д. м. н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия;

**Никонова Т. И.**, старший лаборант научно-исследовательского института иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия.

Актуальность проблемы невынашивания беременности (НБ) в практическом здравоохранении обусловлена полиэтиологичностью нозологии. Особое значение в развитии НБ принадлежит генетическим и иммунологическим факторам. Иммунная система матери непосредственно участвует в процессах оплодотворения, имплантации и развития беременности [1]. В формировании иммунологической толерантности в отношении полуаллогенного плода

при физиологическом течении беременности принимают участие субпопуляции Т-хелперов, Тreg-лимфоциты и их цитокины. В предыдущем исследовании нами было установлено, что уровни Th1, Th2, Th17 и Th17/Th1 в периферической крови у женщин с НБ выше в сравнении с группой условно здоровых женщин с двумя и более успешными (реализованными) беременностями в паре с одним и тем же партнером, что вероятно связано с повышенной реактивностью клеточного звена иммунной системы в отношении семиаллогенного плода [2]. Особый интерес в отношении регуляции индукции и поддержания физиологического течения беременности вызывают Th17-лимфоциты. Это одна из субпопуляций Т-хелперов, характеризующаяся экспрессией IL-17, IL-6, TNF $\alpha$  и IL-22. Наиболее изученными членами семейства IL-17 являются IL-17A и IL-17F, гены которых расположены на коротком плече хромосомы 6. Известно, что продукция цитокинов, их структурные свойства и функциональная активность генетически детерминированы. В реализации этих эффектов относительно IL-17 непосредственно принимают участие олигонуклеотидные полиморфизмы генов IL-17A rs2275913 и IL-17F rs763780. В ряде работ как зарубежных, так и отечественных на-

учных коллективов проанализированы ассоциации указанных полиморфизмов генов с НБ у женщин разных популяционных групп, а также установлена связь носительства различных генотипов полиморфных локусов генов IL-17A rs2275913 и IL-17F rs763780 с уровнями IL-17 в сыворотке крови обследуемых [3, 4].

Исходя из этого, **целью** настоящего исследования стал анализ частот распределения аллелей и генотипов полиморфных локусов генов IL-17A rs2275913 и IL-17F rs763780 у женщин с невынашиванием беременности, проживающих на территории г. Челябинска и Челябинской области.

Работа проводилась на базе НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России (г. Челябинск). Всего обследовано 192 женщины репродуктивного возраста от 20 до 48 лет (средний возраст составил  $32,41 \pm 5,85$  лет). В основную группу были включены 118 женщин с диагнозом НБ (61,5%). Диагноз НБ установлен врачами акушерами-гинекологами на основании клинических, инструментальных и лабораторных методов исследования. Критерии включения: репродуктивный возраст; 2 и более прерываний беременности в анамнезе в сроки от зачатия до 20 недели гестации в паре с одним и тем же партнером; отсутствие явных этиологических факторов НБ; информированное согласие пациентки.

Группу контроля составили 74 условно здоровые женщины (38,5%), имеющие две и более успешные (реализованные) беременности в паре с одним и тем же партнером.

Материалом для генотипирования послужили образцы ДНК, которые получали из лейкоцитов периферической венозной крови обследуемых женщин с использованием коммерческого набора реагентов «К-Сорб-100» (ЗАО «Синтол», г. Москва). Анализ полиморфизмов генов IL-17A rs2275913 и IL-17F rs763780 осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборах «Rotor-Gene» 3000 и «Rotor-Gene» 6000 («Corbett Research Pty Ltd.», Австралия) с использованием праймеров и зондов производства ЗАО «Синтол» (г. Москва).

Анализ частот аллелей и генотипов проводился с помощью сервиса SNPStats. При анализе частот генотипов использовались кодоминантная, доминантная, рецессивная и сверхдоминантная генетические модели.

Анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфизма G(-197) A гена IL-17A (rs2275913) показал, что частота встречаемости

аллели G в группе женщин с НБ составила 73%, в группе контроля — 71%. Частота встречаемости аллели A у женщин с НБ зарегистрирована в 27% случаев, а в группе условно здоровых женщин — 29%. Генотип GG в основной группе встречался в 56% случаев, в группе контроля — в 53%. Генотип AA зарегистрирован в 10% случаев в группе женщин с НБ и в 11% случаев в группе условно здоровых женщин. Частота встречаемости гетерозигот GA в основной группе составила 34%, в группе контроля — 36%.

При анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса T7488C гена IL-17F (rs763780) установлено, что частота встречаемости аллели T как в группе женщин с НБ, так и в группе контроля составила 99%. Аллель C встречалась в 1% случаев в обеих группах. Нормальные гомозиготы TT как в основной группе, так и в контрольной зарегистрированы в 97% случаев. Частота встречаемости гетерозигот TC — по 3% в каждой исследуемой группе. При этом мутантные гомозиготы CC не зарегистрированы.

При статистической обработке полученных данных значимых различий в частотах распределения аллелей и генотипов полиморфизмов генов IL-17A (rs2275913) и IL-17F (rs763780) не выявлено. Таким образом, настоящее исследование свидетельствует об отсутствии положительных ассоциаций указанных полиморфизмов генов IL-17A и IL-17F с риском развития невынашивания беременности у женщин, проживающих на территории г. Челябинска и Челябинской области.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Ghaebi M., Nouri M., Ghasemzadeh A., Farzadi L., Jajidi-Niaragh F., Ahmadi M., Yousefi M.* Immune regulatory network in successful pregnancy and reproductive failures. *Biomed. Pharmacother.* 2017, 88, 61–73.
2. *Логинова Ю. В., Абрамовских О. С.* Анализ субпопуляционного состава Th-лимфоцитов в периферической крови у женщин с невынашиванием беременности. *Российский иммунологический журнал.* 2018, 12(21), 354–357. [*Loginova Y. V., Abramovskikh O. S.* Analysis of subpopulation composition of Th-lymphocytes in peripheral blood in women with miscarriage. *Russian journal of immunology.* 2018, 12(21), 354–357.]
3. *Najafi S., Hadinedoushan H., Eslami G., Aflatoonian A.* Association of IL-17A and IL-17 F gene polymorphisms with recurrent pregnancy loss in Iranian women. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2014, 31, 1491–1496.
4. *Путиримова Л. Н., Загороднева Е. А., Гумилевский Б. Ю.* Особенности аллельного полиморфизма генов интерлейкинов и цитокиновый ба-

ланс женщин с невынашиванием беременности. *Акушерство и гинекология*. 2014, 3, 33–38. [Pitirimova L. N., Zagorodneva E. A., Gumilevsky B. Yu. Features of allelic polymorphism of interleukin genes and cytokine balance of women with miscarriage. *Obstetrics and gynecology*. 2014, 3, 33–38.]

5. Симбирцев А. С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека. *Медицинский академический журнал*. 2013, 13(3), 18–41. [Simbirtsev A. S. Cytokines in the pathogenesis of infectious and noninfectious human diseases. *Medical Academic Journal*. 2013, 13, 3, 18–41.]

## DETERMINATION OF THE FREQUENCIES OF IL17A AND IL17F GENE POLYMORPHISMS IN WOMEN WITH MISCARRIAGE

© 2019 г. Y. V. Loginova\*, O. S. Abramovskikh\*, T. I. Nikonova

\*E-mail: clinlab74@mail.ru

Federal state budgetary educational institution of higher professional education “South Ural state medical University” Ministry of healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 01.04.2019

The paper presents the results of the analysis of the frequency distribution of alleles and genotypes of polymorphic sites rs2275913 of gene IL17A and rs763780 of gene IL17F in women with miscarriage. Statistically significant differences in the distribution of alleles and genotypes of oligonucleotide polymorphisms rs2275913 of gene IL17A and of gene IL17F in women with miscarriage in comparison with a group of conditionally healthy women with two or more successful pregnancies paired with the same partner have not been identified.

*Key words:* miscarriage, interleukin-17, single nucleotide polymorphism

### Authors:

**Loginova Y. V.**, ✉ Junior Researcher of Research Institute of Immunology, Federal state budgetary educational institution of higher professional education “South Ural state medical University” Ministry of healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia. E-mail: clinlab74@mail.ru;

**Abramovskikh O. S.**, MD, Professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics of Federal state budgetary educational institution of higher professional education “South Ural state medical University” Ministry of healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia;

**Nikonova T. I.**, senior laboratory assistant of Research Institute of Immunology, Federal state budgetary educational institution of higher professional education “South Ural state medical University” Ministry of healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russia.

## ИММУНОРЕАБИЛИТАЦИЯ ПРЕПАРАТАМИ МАГНИЯ ПРИ ОСТРОМ ДЕСТРУКТИВНОМ ПАНКРЕАТИТЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

© 2019 г. А. В. Локтионова\*, Н. А. Быстрова, А. Л. Локтионов

\*E-mail: ana-loc@yandex.ru

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Курск, Россия

Поступила: 24.02.2019. Принята: 06.03.2019

Исследования проведены на 108 здоровых половозрелых крысах Вистар массой 150–200 г. Острый деструктивный панкреатит (ОДП) моделировали накануне выведения животных из эксперимента перевязкой протоков поджелудочной железы с последующей стимуляцией прозеринном. Исследовали влияние препаратов магния (магне В<sub>6</sub>, магнелиса и панангина) в условиях ОДП на иммунологическую реактивность. При ОДП установлено снижение процессов фагоцитоза, повышение кислородзависимого метаболизма гранулоцитов циркулирующей крови, супрессия формирования гуморальной и клеточной форм иммунного ответа. Наиболее эффективным в коррекции параметров врожденного и адаптивного иммунитета оказался магне В<sub>6</sub>, затем, по степени снижения эффективности магнелис и панангин.

**Ключевые слова:** экспериментальный острый деструктивный панкреатит, препараты магния

DOI: 10.31857/S102872210006634-2

**Адрес:** 305041 Курск, ул. Карла Маркса, д. 3; ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра педиатрии. Локтионова Анастасия Владимировна. Тел. +79102137273 (моб.).

**E-mail:** ana-loc@yandex.ru

**Авторы:**

**Локтионова А. В.**, заочный аспирант кафедры педиатрии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

**Быстрова Н. А.**, д.м.н., профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия;

**Локтионов А. Л.**, д.м.н., профессор кафедры хирургических болезней № 2 ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия.

Деструктивные формы острого панкреатита (ОДП) характеризуются максимально выраженными и разнонаправленными изменениями параметров иммунной системы. Эти изменения играют ключевую роль в формировании поздних гнойных осложнений этого заболевания, их характер, локализацию и масштаб [2, 4]. Известно ингибирующее влияние магния на активацию ферментов поджелудочной железы, но мало исследованы его иммуномодулирующие эффекты, что обуславливает интерес к изуче-

нию эффективности препаратов магния в коррекции иммунных нарушений в норме и патологии, в том числе при ОДП [1, 3].

**Цель** – изучить эффективность препаратов магния в коррекции врожденного и адаптивных форм иммунного ответа при экспериментальном остром деструктивном панкреатите.

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Исследования проведены на 108 здоровых половозрелых крысах Вистар массой 150–200 г. ОДП моделировали накануне выведения животных из эксперимента перевязкой протоков поджелудочной железы с последующей стимуляцией прозеринном.

Животных с ОДП делили на 5 групп по 9–10 особей в каждой: 1-я группа (контрольная); 2-я группа – моделирование ОДП; 3-я группа – ОДП и введение магне В<sub>6</sub> (*per os*, 100 мг/кг в пересчете на магний, через 24 часа, № 15); 4-я группа – ОДП и введение магнелиса (*per os*, 96 мг/кг в пересчете на магний, через 24 часа, № 15); 5-я группа – ОДП и введение панангина (*per os*, 33,7 мг/кг в пересчете на магний, через

24 часа, № 15). Введение препаратов магния начинали за 15 суток до забоя, который осуществляли через 5 суток после моделирования ОДП, иммунизации или сенсибилизации эритроцитами барана (ЭБ) и последнего введения препаратов. Группа контроля состояла из 15 здоровых животных.

Клеточную форму адаптивного иммунного ответа оценивали по степени развития реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к ЭБ. ГЗТ воспроизводили путем внутрибрюшинного введения ЭБ: сенсибилизирующей ( $10^8$  клеток) и на четвертые сутки разрешающей дозы ( $10^6$  клеток). О выраженности ГЗТ судили через сутки после введения разрешающей дозы ЭБ по разнице масс регионарного и контралатерального лимфатических узлов (РМ) и по разнице количества в них кариоцитов (РК). Гуморальный иммунный ответ (ГИО) индуцировали однократным внутрибрюшинным введением ЭБ в дозе  $2 \times 10^9$  клеток на 1 кг массы тела. Степень развития ГИО на ЭБ оценивали на 5-е сутки после иммунизации по числу иммунных антителообразующих клеток (АОК) в селезенке. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови оценивалась по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ), а кислородзависимую – по НСТ-тестам спонтанному (НСТ-сп.) и стимулированному опсонизированным и неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з, НСТ-ст. о/з), коэффициентам опсонизации, активации на опсонизированный и неопсонизированный зимозан (КО, КАН, КАо). Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления медианы (Me) и 25 и 75 перцентилей с помощью пакета компьютерной программы Statistica 8. Существенность различий оценивали по U-критерию Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При ОДП отмечалась супрессия формирования адаптивного иммунного ответа, фагоцитарной активности нейтрофилов и стимуляция кис-

лородзависимого метаболизма гранулоцитов. Введение крысам с ОДП магнелиса корригировало, но не до показателей здоровых животных параметры гуморальной и клеточной форм иммунного ответа, функционально-метаболическую активность нейтрофилов периферической крови. Несколько эффективнее магнелиса оказался панангин, а наибольшая иммунокорригирующая активность выявлена у магне В<sub>6</sub>, так как после его введения отмечена нормализация параметров адаптивного иммунитета, а показатели функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови были максимально приближенными к норме.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Бушмина О. Н., Долгарева С. А., Локтионов А. Л., Конопля А. И. Метаболические нарушения в условиях экспериментального острого деструктивного панкреатита и воздействия этанола. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2015, 14(3), 396–403. [Bushmina O. N., Dolgarova S. A., Loktionov A. L., Konoplya A. I. Metabolic disturbances in the conditions of the experimental acute destructive pancreatitis and influence of ethanol. System analysis and management in biomedical systems. 2015, 14(3), 396–403].
2. Локтионов А. Л., Конопля А. И., Евсегнеева И. В. Острый панкреатит как клинико-иммунологическая проблема (обзор литературы). Физиология и патология иммунной системы. 2013, 17(11), 3–8. [Loktionov A. L., Konoplya A. I., Evsegneeveva I. V. Acute pancreatitis as a clinical and immunological problem (literature review). Physiology and pathology of the immune system. 2013, 17(11), 3–8].
3. Морозова Т. Е., Дурнецова О. С. Препараты магния в кардиологической практике. Лечащий врач. 2014; (4): <https://www.lvrach.ru/2014/04/15435947/> [Morozova T. E., Durnetsova O. S. Magnesium medications in cardiological practice. Lechashchij vrach. 2014, (4), <https://www.lvrach.ru/2014/04/15435947/>].
4. Уханова И. Ю., Караулов А. В., Конопля А. И., Локтионов А. Л., Суняйкина О. А. Функциональная активность перитонеальных макрофагов при остром деструктивном панкреатите: оценка, значение. Клиническая лабораторная диагностика. 2011, 6, 42–44. [Ukhanova I. Yu., Karaulov A. V., Konoplya A. I., Loktionov A. L., Sunyakina O. A. Functional activity of peritoneal macrophages in acute destructive pancreatitis: evaluation, value. Clinical laboratory diagnostics. 2011, 6, 42–44].

## IMMUNOREHABILITATION DRUGS OF MAGNESIUM IN ACUTE DESTRUCTIVE PANCREATITIS IN THE EXPERIMENT

© 2019 A. V. Loktionova\*, N. A. Bystrova, A. L. Loktionov

\*E-mail: ana-loc@yandex.ru

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Received: 24.02.2019. Accepted: 06.03.2019

Studies were conducted on 108 healthy Wistar rats weighing 150–200 g. Acute destructive pancreatitis (ADP) was modeled on the eve of the removal of animals from the experiment ligation of the ducts of the pancreas with subsequent stimulation by neostigmine. Investigated the influence of preparations of magnesium (Magne B<sub>6</sub>, Magnelis and Panangin) in the context of ADP on immunological reactivity. In ADP established reduction of phagocytosis, increased oxygen-dependent metabolism of circulating blood granulocytes, suppression of the formation of humoral and cellular forms of immune response. The most effective in correcting the parameters of innate and adoptive immunity was Magne B<sub>6</sub>, then, according to the degree of decrease in the effectiveness of Magnelis and Panangin.

*Key words:* experimental acute destructive pancreatitis, magnesium preparations

### Authors:

**Loktionova A. V.**, ✉ correspondence post-graduate student, Department of Pediatrics, Kursk State Medical University, Kursk, Russia.  
**E-mail:** ana-loc@yandex.ru;

**Bystrova N. A.**, Doctor of Medicine, Professor, Department of Biochemistry, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Loktionov A. L.**, Doctor of Medicine, Professor of the Department of surgical diseases № 2, Kursk state medical University, Kursk, Russia.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФЕНОТИПЫ ТИМОМЕГАЛИИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА С ОСТРЫМИ БРОНХИТАМИ

© 2019 г. Д. С. Любимов

\*E-mail: ivax37@yandex.ru

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

Поступила: 28.02.2019. Принята: 14.03.2019

Из 104 госпитализированных младенцев с острыми бронхитами при рентгенологическом обследовании тимомегалия выявлена у 45 (46,8%). На фоне депрессии клеточного иммунитета и гипокортицизма выявлено три иммунологических фенотипа тимомегалии. Иммунокоррекция тактивином и тималином проводилась дифференцировано, с учетом клинических и иммунологических особенностей каждого фенотипа.

**Ключевые слова:** тимомегалия, фенотип, тималин, тактивин, бронхит

DOI: 10.31857/S102872210006904-9

Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский 29  
ФГБУ Ростовский государственный медицинский университет,  
Любимов Дмитрий Сергеевич.

Тел.: +7 (863) 263 44 41, 8 918 556 76 44 (моб.)

E-mail: ivax37@yandex.ru

Автор:

Любимов Д. С., к. м. н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии Ростовского государственного медицинского университета, Ростов-на-Дону, Россия.

Тимомегалия и перинатальная энцефалопатия являются клиническими признаками неблагоприятного течения перинатального периода с нарушением развития центральных органов нервной, эндокринной иммунной систем. Дети с этими состояниями болеют респираторными и кишечными инфекциями особенно тяжело и часто склонны к рецидивирующему течению заболевания. В настоящее время, неврологи и педиатры активно используют пептидные экстракты из нервной ткани (кортексин, церебролизин) и, гораздо реже, из тимуса (тактивин или тималин).

Целью настоящего исследования было выявление показаний для дифференцированного использования тималина или тактивина у младенцев с осложненным течением бронхитов на фоне тимомегалии. При рентгенологическом обследовании тимомегалия выявлена у 45 из 104 детей в возрасте от 3 до 36 месяцев, госпитализированных с острыми бронхитами — 46,8%.

У детей первого года жизни тимомегалия встречалась в 60,4% (у 32 из 53), от года до трех лет в 25,5% (у 13 детей из 51). Иммунологическое обследование включало определение CD лимфоцитов, иммуноглобулинов, ЦИК, поглотительную способность нейтрофилов (латекс). Оценивали состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (АКТГ, кортизол) и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной (ТТГ, Т3, Т4) осей.

У всех детей независимо от наличия или отсутствия тимомегалии в остром периоде бронхита наблюдалась супрессия клеточного, активация гуморального звеньев иммунитета, увеличение количества ЦИК и повышение поглотительной способности нейтрофилов. У детей с тимомегалией с обструктивным бронхитом депрессия клеточного звена достигала максимальных значений и проявлялась снижением уровня CD3<sup>+</sup> (47,8%) и CD4<sup>+</sup> (28,3%) клеток, увеличением количества CD8<sup>+</sup> лимфоцитов (26,9%), что приводило к уменьшению ИРИ (CD4/CD8) до 1,05. Лимфоцитоз сопровождался появлением двойных позитивных CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> незрелых тимических лимфоцитов (7,4%). У детей с тимомегалией степень Т-лимфоцитоза была максимальной —  $3,16 \times 10^9$ /л, у детей без тимомегалии — 2,69, у здоровых — 1,8.

В гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе у детей без тимомегалии происходило значительное повышение АКТГ (44,6)

и умеренное кортизола (368,8). Здоровые дети: 15,8 пмоль/л и 326,1 нмоль/л. У большинства детей с тимомегалией наблюдались наиболее низкие показатели АКТГ (41,3) и значительное снижение кортизола (259,5).

Гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная ось характеризовалась активацией центрального звена (2–3-кратный рост ТТГ) и депрессией периферического (снижение Т3). При этом, у здоровых и больных детей уровень Т4 был одинаков. Самое значительное повышение ТТГ (4,2) и снижение Т3 (1,17) наблюдалось у детей с тимомегалией и обструктивным бронхитом. Без тимомегалии 3,7 МЕ/л и 1,49 нмоль/л, здоровые 1,74 и 1,92.

Таким образом, показанием для включения тимусных экстрактов у детей с бронхитом на фоне тимомегалии являются незрелость Т-клеток (лимфоцитоз с появлением двойных позитивных клеток CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) на фоне гипокортицизма. Сопоставление клинических и иммунологических данных позволило выявить два фенотипа тимо-

мегалии у младенцев. Первый характеризуется выраженным уменьшением IgA, а второй напротив – умеренным повышением IgA и Ig G.

Первый фенотип клинически проявлялся большим количеством бактериальных инфекций в анамнезе (отиты, фурункулезы, пневмонии), а иммунологически – очень низким уровнем IgA (0,27±0,04 г/л), по-видимому, вследствие недостаточного обеспечения активированных В-клеток Th2 интерлейкинами. В зависимости от состояния щитовидной железы, надпочечников и тимуса этот фенотип имеет два варианта течения респираторной вирусной инфекции. Первый вариант – сильная обструкция с интоксикацией и дыхательной недостаточностью. У детей второго подтипа функция надпочечников и тимуса сохранена в большей степени, поэтому респираторная инфекция протекает без обструкции, но с большим количеством бактериальных и вирусных инфекций. В семейном анамнезе высока частота ЛОР-патологии у родителей.

## IMMUNOLOGICAL PHENOTYPES OF TIMOMEGALY IN INFANTS WITH ACUTE BRONCHITIS

© 2019 Lyubimov D. S.

\*E-mail: ivax37@yandex.ru

Rostov state medical University, Rostov-on-Don, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 14.03.2019

Of the 104 hospitalized babies with acute bronchitis, an x-ray examination showed thymomegaly in 45 (46.8%). Against the background of depression of cellular immunity and hypocorticism, three immunological phenotypes of thymomegaly were revealed. Immunocorrection with taktivin and thymalin was carried out differentially, taking into account the clinical and immunological features of each phenotype.

*Key words:* thymomegaly, phenotype, timalin, taktivin, bronchitis

### Authors:

**Lyubimov D. S.**, Ph.D. Associate Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, Rostov State Medical University Russia, Rostov-on-Don, Russia.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОКОРРИГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ ПРИ НАРУЖНОМ ГЕНИТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

© 2019 г. Н. М. Магзумова<sup>1\*</sup>, Д. А. Мусаходжаева<sup>2</sup>, Д. У. Исмоилова<sup>1</sup>

\*E-mail: dilym@mail.ru

<sup>1</sup>Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Узбекистан;

<sup>2</sup>Институт иммунологии и геномики человека АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Поступила: 15.02.2019. Принята: 27.02.2019

Обследованы 38 женщин с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) II–III степени, которые составили 2 группы: 1-я группа – 20 пациенток, у которых во время лапароскопии в брюшинную полость вводили 0,5 мг ронколейкина, а после операции – на 2-е, 4-е сутки и в последующем – 2 раза в неделю в течение 3 недель вводили внутривенно в дозировке 0,5 мг. Вторую группу составили 18 женщин с НГЭ, у которых после лапароскопии в качестве противорецидивной терапии применялся бусерелин-депо по 3,75 мг внутримышечно один раз в месяц, в течение 6 месяцев. Проводили изучение уровня цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ ) в перитонеальной жидкости у женщин с НГЭ до и после лечения. Выявлен дисбаланс изученных цитокинов у пациенток, который был восстановлен после применения иммунокоррекции.

**Ключевые слова:** наружный генитальный эндометриоз, Ронколейкин, цитокины

DOI: 10.31857/S102872210006905-0

**Адрес:** 100109 Ташкент, ул. Фароби, д. 2, Ташкентская медицинская академия, кафедра акушерства и гинекологии, Магзумова Наргиза Махкамовна.

Тел./факс: + 998781507828, +998903570353 (моб.).

**E-mail:** dilym@mail.ru

**Авторы:**

**Магзумова Н. М.**, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии Ташкентской медицинской академии, Ташкент, Узбекистан;

**Мусаходжаева Д. А.**, д.б.н., зав. лаб. иммунологии репродукции Института иммунологии и геномики человека АН РУз, Ташкент, Узбекистан;

**Исмоилова Д. У.**, асс. Каф. ВОП подготовки Ургенчского филиала Ташкентской медицинской академии, Ургенч, Ташкент, Узбекистан.

Эндометриоз в настоящее время считается одним из самых распространенных заболеваний женщин репродуктивного возраста [1, 2]. Согласно данным различных авторов, эндометриоз встречается у 40–90% женщин с болевым синдромом и/или бесплодием [3].

Одним из предполагаемых механизмов, объясняющих имплантацию и прогрессивную пролиферацию эктопического эндометрия, является иммунная дисрегуляция. Расшифровка процесса клеточного и гуморального имму-

нитета позволила выявить и охарактеризовать значительное количество цитокинов, которые оказались неотъемлемыми модуляторами иммунного ответа. Связываясь со специфическими рецепторами на мембране клеток-мишеней, они влияют на пролиферацию, дифференцировку, активацию и хемотаксис клеток. Цитокины представляют собой семейство пептидов, к которым относятся интерлейкины, интерфероны, колониестимулирующие факторы, трансформирующие факторы роста, факторы некроза опухолей и ростовые факторы [4, 5]. Поэтому не удивительно, что использование цитокинов в качестве иммунных препаратов открывает большие перспективы для клиницистов.

В последние годы начали применять цитокиновую и антицитокиновую иммуномодулирующую терапию. Особый интерес представляет применение генно-инженерного (рекомбинантного) препарата интерлейкин-2 (ронколейкин, ООО «БИОТЕХ», Санкт-Петербург), к действию которого восприимчивы различные клетки иммунной системы [5].

**Цель исследования** – оценка эффективности иммунотерапии с использованием препарата

ронколейкин у женщин с наружным генитальным эндометриозом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 38 женщин с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) II–III степени, которые составили 2 группы: 1-я группа – 20 пациенток, у которых во время лапароскопии в брюшинную полость вводили 0,5 мг (500 000 МЕ) ронколейкина, а после операции – на 2-е, 4-е сутки и в последующем – 2 раза в неделю в течение 3 недель внутривенно вводили ронколейкин в дозировке 0,5 мг. Вторую группу составили 18 женщин с НГЭ, у которых после лапароскопии в качестве противорецидивной терапии применялся бусерелин-депо по 3,75 мг внутримышечно один раз в месяц, в течение 6 месяцев. Показатели 18 практически здоровых женщин с нормальной репродуктивной функцией, поступившие на плановую хирургическую стерилизацию, были использованы в качестве контрольной группы для иммунологических исследований. Проводили изучение уровня цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ ) в перитонеальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом методом ИФА до и после лечения (тест-система ЗАО Вектор-Бест, РФ). Статистический анализ полученных данных выполнялся с использованием методов вариационной статистики. Различия считали статистически достоверным при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все обследованные женщины с НГЭ были сопоставимы по возрасту, диагнозу, структуре клинических проявлений, частоте бесплодия, объему оперативного вмешательства, равноценности общего медикаментозного комплекса. Оценка иммунного статуса осуществлялась до операции, через 1 месяц после операции (по завершении иммунотерапии), через 6 месяцев после операции (по завершении гормональной терапии) и включала в себя определение уровня провоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости и в сыворотке периферической крови. Изучение уровня цитокинов у женщин с НГЭ в перитонеальной жидкости показало, что концентрация провоспалительных цитокинов – IL-1 $\beta$  ( $69,4 \pm 2,7$  пкг/мл против  $48,6 \pm 2,9$  пкг/мл в контроле,  $P < 0,05$ ), IL-6 ( $19,8 \pm 1,4$  пкг/мл против  $11,6 \pm 1,0$  пкг/мл в контроле,  $P < 0,05$ ) IL-8 ( $29,7 \pm 2,3$  пкг/мл против  $18,5 \pm 1,7$  пкг/мл,  $P < 0,05$ )

и IFN $\gamma$  ( $27,7 \pm 1,2$  пкг/мл против  $17,5 \pm 1,1$  пкг/мл,  $P < 0,05$ ) была достоверно повышенной по сравнению с данными контрольной группы. При этом, наблюдалась тенденция к снижению уровня IL-2 ( $5,6 \pm 0,8$  пкг/мл против  $8,95 \pm 0,9$  пкг/мл в контроле). Полученные данные свидетельствуют о том, что высокая активность провоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости с наружным эндометриозом служит благоприятным фоном для развития эндометриозных гетеротопий.

При изучении уровня цитокинов через месяц после лапароскопии у больных, получавших бусерелин-депо, уровень изученных цитокинов существенно не изменялся. У больных, в комплексной терапии которых использовался ронколейкин, через 1 месяц после лапароскопии отмечалось увеличение уровня IL-2 в 2,7 раза и IFN $\gamma$  – в 2,8 раза, при этом уровни IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 и TNF $\alpha$  снизились в 2,5 раза ( $P < 0,01$ ).

Таким образом, анализируя особенности синтеза цитокинов у больных с НГЭ через 1 месяц после лапароскопии, можно утверждать, что у пациенток, получавших бусерелин-депо, не наблюдалось сколько-нибудь значимых изменений в цитокиновом статусе. При терапии ронколейкином отмечалось существенное увеличение активности клеток, реализующих Th-1 тип иммунного ответа, что подтверждается снижением уровня IL-8 и увеличением IL-2 и IFN $\gamma$ , а также наблюдалась тенденция к нормализации активности макрофагов, на что указывает снижение уровня IL-6 и TNF $\alpha$ . Через 6 месяцев после лапароскопии у пациенток, получавших ронколейкин, в отличие от пациенток группы сравнения уровень изученных цитокинов был в пределах нормативных значений. Следовательно, результаты проведенных исследований убедительно подтверждают иммунорегуляторную роль ронколейкина.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Анциферова Ю. С., Сотникова Н. Ю., Посисеева Л. В., Назаров С. Б. Иммунные механизмы развития генитального эндометриоза // Монография, Иваново, 2007., 312 с. [Antsiferova Yu. S., Sotnikova N. Yu., Posiseeva L. V., Nazarov S. B. Immune mechanisms of development of genital endometriosis // Monograph, Ivanovo, 2007., 312 с.]
2. Куценко И. И., Чобанян А. Г., Хорольская А. Е. Эффективность комплексной терапии наружного генитального эндометриоза с использованием ронколейкина у больных, страдающих бесплодием. // Второй международный конгресс по репродук-

- тивной медицине «Репродуктивное здоровье семьи». — Москва: МедиаСфера, 2008. — С. 335–336. [Kutsenko I., Chobanyan A. G., Khorolskaya A. E. The effectiveness of the treatment of external genital endometriosis using Roncoleukin in patients suffering from infertility. // Second International Congress on Reproductive Medicine “Reproductive Family Health”. — Moscow: MediaSphere, 2008. — С. 335–336]
3. Сельков С. А., Павлов Р. В., Аксененко В. А. Использование Ронколейкина в комплексной терапии генитального эндометриоза // Пособие для врачей. «Издательство Н-Л», 2008., 85 с. [Selkov S. A., Pavlov R. V., Akseenenko V. A. The use of Roncoleukin in the treatment of genital endometriosis // Manual for doctors. “Publisher N-L”, 2008., 85 p.]
  4. Колесникова Н. В., Чобанян А. Г., Куценко И. И., Чудилова Г. А. Функциональные дефекты нейтрофильных гранулоцитов при наружном генитальном эндометриозе и их коррекция Ронколейкином. // Russian Journal of Immunology. — 2008. — Т. 2, N2–3, С. 292. [Kolesnikova N. V., Chobanyan A. G., Kutsenko I. I., Chudilova G. A. Functional defects of neutrophilic granulocytes with external genital endometriosis and their correction with Roncoleukin. // Russian Journal of Immunology. — 2008. — Т. 2, N2–3, С. 292.]
  5. Тихомиров А. Л. Эндометриоз — современные возможности фармакотерапии / А. Л. Тихомиров, И. Б. Манухин, М. А. Геворкян // Русский медицинский журнал. — 2013. — Т. 21, № 23. — С. 1134–1136. [Tikhomirov A. L. Endometriosis — modern possibilities of pharmacotherapy / A. L. Tikhomirov, I. B. Manukhin, M. A. Gevorkyan // Russian Medical Journal. — 2013. — Т. 21, № 23. — С. 1134–1136.]

## EFFICIENCY OF THE APPLICATION OF IMMUNE CORRECTIVE THERAPY IN OUTSIDE GENITAL ENDOMETRIOSIS

© 2019 N. M. Magzumova<sup>1\*</sup>, D. A. Musakhodzhaeva<sup>2</sup>, D. U. Ismoilova<sup>1</sup>

\*E-mail: dilym@mail.ru

<sup>1</sup>Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan

<sup>2</sup>Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

Received: 15.02.2019. Accepted: 27.02.2019

38 women with external genital endometriosis (NGE) of II–III degree were examined, which consisted of 2 groups: 1st group — 20 patients in whom Roncoleukin was injected into the peritoneal cavity during laparoscopy, and after surgery for 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup> Every day and then — 2 times a week for 3 weeks was administered intravenously at a dosage of 0.5 mg. The second group consisted of 18 women with NGE, in whom, after laparoscopy, buserelin depot was administered as an anti-relapse therapy with 3.75 mg intramuscularly once a month for 6 months. Cytokine levels (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  and IFN $\gamma$ ) were studied in the peritoneal fluid in women with HEG before and after treatment. An imbalance of the studied cytokines was detected in patients, which was restored after the application of immunocorrection.

*Key words:* external genital endometriosis, Roncoleukin, cytokine

### Authors:

**Magzumova N. M.**, ✉ MD, Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan. E-mail: dilym@mail.ru;

**Musakhodzhaeva D. A.**, Dr. of Biological Sciences, Head of Reproductive Immunology, Institute of Human Immunology and Human Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan;

**Ismoilova D. U.**, ass. Kaf. GP preparation of the Urgench branch of the Tashkent Medical Academy, Urgench, Tashkent, Uzbekistan.

## sIgE К БАКТЕРИАЛЬНЫМ АЛЛЕРГЕНАМ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

© 2019 г. С. А. Мазурина\*, А. Ю. Конищева, Т. П. Оспельникова, В. Б. Гервазиева

\*E-mail: svetulyok@list.ru

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

Поступила: 13.03.2019. Принята: 25.03.2019

Инфекционная колонизация бронхолегочного биотопа рассматривается в качестве одного из вероятных факторов поддержания воспалительного процесса с преобладанием Th2 иммунного ответа у больных с хроническими заболеваниями ВДП. Целью исследования явилась оценка IgE иммунного ответа к основным микроорганизмам ВДП. Пациенты и методы. В сыворотках крови 69 пациентов с БА, ХОБЛ и СПБАХ методом ИФА определяли содержание общего IgE и sIgE к бактериальным аллергенам уровень sIgA в слюне. Результаты. У больных СПБАХ представлен более широкий спектр sIgE к бактериальным аллергенам, на фоне сниженных уровней sIgA в слюне, в сравнении с больными БА и ХОБЛ. Это может свидетельствовать о вовлечении врожденного иммунитета, обусловленного IgE системой в противоифекционную защиту у пациентов с сочетанным синдромом СПБАХ.

**Ключевые слова:** sIgE к бактериальным аллергенам, БА, ХОБЛ, СПБАХ

DOI: 10.31857/S102872210006906-1

**Адрес:** 105064, Москва, Мал. Казенный пер 5а, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», лаб. аллергодиагностики, Гервазиева Валентина Борисовна. Тел.: +7(495) 917 20-26.

**E-mail:** svetulyok@list.ru

**Авторы:**

**Мазурина С. А.**, к.б.н, ведущий научный сотрудник лаб. аллергодиагностики ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

**Конищева А. Ю.**, к.м.н, ведущий научный сотрудник лаб. аллергодиагностики ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

**Оспельникова Т. П.**, к.м.н., зав. лаб. интерферонов ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

**Гервазиева В. Б.**, проф., д.м.н, зав. лаб. аллергодиагностики ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы отмечается рост числа хронических воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей (ВДП), среди которых особое место занимает сочетанный синдром бронхиальной астмы (БА) и ХОБЛ (СПБАХ). Имеющиеся в настоящее время данные об этиологии многих хронических заболеваний ВДП позволяют считать, что факторами риска заболевания

в первую очередь является длительная персистенция инфекционных агентов в бронхолегочном биотопе [1, 2]. Ранее нами была исследована структура микробиоты дыхательных путей больных БА, ХОБЛ и СПБАХ [3]. Было показано, что композиционный состав микробиоты больных БА или ХОБЛ представлен в основном: α-гемолитическими стрептококками (*Str. pyogenes*, *Str. pneumoniae*), *Enterococcus spp.* и *N. subflava*. У больных с СПБАХ, в сравнении с пациентами, страдающими только астмой или ХОБЛ, обнаружен более разнообразный видовой состав *Streptococcus spp.*, включая *Str. pyogenes*, *Str. pneumoniae*, *Str. agalactiae*, *Str. faecies*, *Str. mitis*, *Str. vestibularis*, *Str. constellatus*, *Str. acidominimus*, и *Staphylococcus spp.* (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. milleri*, *S. lugdunensis*, *S. acidominimus*). Кроме того, были обнаружены грамотрицательные палочки *Kl. Pneumonia*, *E. coli*, *Ser. marcensens*, *Ps. aeruginosa*, *H. influenzae*, *B. cepacia*, палочковидные бактерии *Corynebacterium spp.*, и грамположительные палочки *Actinomyces spp.*, в том числе *T. paurometabola*, способная вызывать хронические легочные воспалительные процессы,

напоминающие туберкулез. Избыточная бактериальная контаминация, которая формирует хронический инфекционный процесс, является фактором риска прогрессирующего течения СПБАХ, обеспечивая высокую частоту обострений заболевания и гиперреактивность бронхов с преобладанием Th2 иммунного ответов [4]. В этой связи целью настоящего исследования явилась оценка IgE иммунного ответа к основным микроорганизмам ВДП.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 69 взрослых пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей (БА, ХОБЛ и СПБАХ), находившихся на амбулаторных приемах в КДО ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова. Все пациенты обследованы в период ремиссии заболевания и в течение 4-х недель до исследования не принимали антибактериальную терапию. В сыворотках крови методом ИФА определяли содержание общего IgE и sIgE к бактериальным аллергенам *Str. pneumonia*, *Str. pyogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *N. perflava*, *Kl. Pneumonia*, *Br. catarrhalis* и *H. influenzae* (НПО «Иммунотэкс», Ставрополь) и уровень sIgA в слюне (ЗАО «Вектор-Бест Европа», Россия). Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0».

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди пациентов, включенных в группу исследования, у 49 диагностирован сочетанный синдром СПБАХ. При этом мы выделили группу из 25 пациентов, у которых характерные для ХОБЛ признаки фиксированной бронхиальной обструкции присоединились к ранее установленной БА (БА/ХОБЛ), и группу из 24 больных, у которых диагноз ХОБЛ предшествовал установленной впоследствии БА (ХОБЛ/БА). Группу больных БА составили 9 человек, группу пациентов с ХОБЛ — 11 человек. Следует отметить, что у всех исследуемых уровень sIgA в слюне превышал нормативные показатели. Это может свидетельствовать о повышенной микробной нагрузке в ткани легких у этих больных. В то же время у пациентов с СПБАХ содержание sIgA было ниже (БА/ХОБЛ — 750 (250; 3800) мг/л и ХОБЛ/БА — 510 (320; 2200) мг/л соотв.) в сравнении с больными БА и ХОБЛ (985 (385; 1950) мг/л и 1000 (850; 2900) мг/л соотв.). Уро-

вень общего IgE был повышен только у больных БА — 540 (303; 560) МЕ/мл. У пациентов других групп эти показатели находились в пределах верхней границы нормы (100 МЕ/мл).

sIgE к большинству бактериальных антигенов у всех исследуемых нами больных определяли с низкой частотой (менее 50%), за исключением sIgE к *Br. catarrhalis*, обнаруженные в 81–89% случаев. Уровень антибактериальных sIgE в сыворотке крови определялся в пределах 1–2 класса реакции, что соответствовало, согласно инструкции, умеренной аллергической реакции. sIgE к *Str. pneumonia* были выявлены у 21 (87,5%) больного ХОБЛ/БА, на фоне сниженной частоты sIgE к *Str. pyogenes* (12,5%, 3 чел.). У пациентов с БА/ХОБЛ и ХОБЛ sIgE к *Str. pneumonia* обнаружены у 13 (52%) и у 6 (54,5%), а sIgE к *Str. pyogenes* — у 7 (28%) и у 4 (36%) человек соответственно. Наименьшая частота выявления sIgE к антигенам стрептококка была у больных БА (44%, 4 чел. и 22%, 2 чел. соотв.). В то же время у больных БА и БА/ХОБЛ sIgE к *S. aureus* выявлены в 4 (44%) и в 10 (40%) случаях, а у больных ХОБЛ и ХОБЛ/БА только в 2 (18%) и в 4 (16,75%) случаях. Обращает так же на себя внимание более низкая частота выявления sIgE к *S. epidermidis* (11%, 1) и к *N. perflava* (0%) у больных БА в сравнении с пациентами с СПБАХ и ХОБЛ, у которых таковые обнаруживались в 18–28% и 4–9% соответственно. sIgE к *Kl. pneumonia* были обнаружены только у пациентов с СПБАХ (8–8,3%), независимо от формирования синдрома (БА/ХОБЛ или ХОБЛ/БА). sIgE к *H. influenzae* чаще определялись у пациентов с ХОБЛ и ХОБЛ/БА (81,8% и 62,5% соответственно), чем у больных БА и БА/ХОБЛ (44% и 32% соотв.).

Таким образом, полученные нами результаты показали, что sIgE к бактериальным аллергенам, особенно к *Br. catarrhalis*, *H. influenzae* и *Str. pneumonia*, чаще обнаруживаются у пациентов с сочетанным синдромом СПБАХ и у больных ХОБЛ. Несмотря на то, что эти заболевания не являются аллергическими, выявленный нами IgE обусловленный иммунный ответ, как часть врожденного иммунитета, направленного на защиту слизистых ВДП, обеспечивает противинфекционный иммунитет. В свою очередь, IgE-зависимая элиминация патогенов в результате дегрануляции эозинофилов, нейтрофилов и, в меньшей степени, тучных клеток, высвобождающих протеолитические ферменты, вызывает повреждение окружающих тканей, аналогично цитолитическим реакциям при Th1 иммунном

ответе, и может усиливать воспалительные реакции, поддерживая хроническое воспаление в ткани легких [5].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sanjay S., Timothy F. Murphy. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2008; 359:2355–2365.
2. Huang Y.J., Kim E., Cox M.J., Brodie E.L., Brown R., Wiener-Kronish J.P., Lynch S.V. A persistent and diverse airway microbiota present during chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *OMICS*. 2010; 14(1): 9–59.
3. Мазурина С.А., Данилина Г.А., Смирнова М.Ю., Осипова Г.Л., Гервазиева В.Б., Конищева А.Ю., Оспельникова Т.П. Микробиота нижних отделов дыхательных путей при хронических обструктивных заболеваниях легких. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; (5): 53–60. [Mazurina S.A., Danilina G.A., Smirnova M. Yu., Gervazieva V.B., Osipova G.L., Konishcheva A. Yu., Ospelnikova T.P. The microbiome of lower airways in patients with chronic obstructive lung diseases. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018; (5): 53–60].
4. Hizawa N. Clinical approaches towards asthma and chronic obstructive pulmonary disease based on the heterogeneity of disease pathogenesis. *Clin Exp Allergy*. 2016 May;46(5):678–87.
5. Железникова Г.Ф. Иммуноглобулин Е: биологическая роль при инфекционных заболеваниях. *Медицинская иммунология*. 2002; 4 (4–5): 515–534. [Zheleznikova G. F. Immunoglobulin E: biological role in infectious diseases. *Med. Immunol.* 2002; 4 (4–5): 515–534].

### sIgE TO BACTERIAL ALLERGENES IN PATIENTS WITH CHRONIC INFLAMMATORY PULMONARY DISEASES

© 2019 S. A. Mazurina\*, A. Yu. Konishcheva, T. P. Ospelnikova, V. B. Gervazieva

\*E-mail: svetulyok @list.ru

*Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia*

**Received:** 13.03.2019. **Accepted:** 25.03.2019

Infections colonization of the bronchopulmonary biotope is considered as one of the likely factors for maintaining the inflammatory process with a predominance of the Th2 immune response in patients with chronic diseases of the lung airway. The aim of the study was to assess the IgE immune response to the main microorganisms lung airway. Patients and methods: In the blood serum of 69 patients with BA, COPD and ACOS, the content of total IgE and sIgE for bacterial allergens, sIgA level in saliva was determined by ELISA. Results. In patients with ACOS, a wider spectrum of sIgE to bacterial allergens is presented, against the background of reduced levels of sIgA in saliva, in comparison with patients with asthma and COPD. This may indicate the involvement of innate immunity due to the IgE system in relation to anti-infective protection in patients with ACOS.

*Key words:* sIgE to bacterial allergens, BA, COPD, ACOS

#### Authors:

**Mazurina S. A.**, Ph.D., Leading Researcher at the lab. allergodiagnostic Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. **E-mail:** svetulyok@list.ru;

**Konishcheva A. Yu.**, Ph.D., Leading Researcher at the lab. allergodiagnostic Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

**Ospelnikova T. P.**, Ph.D., Head. of the lab. Interferons Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

**Gervazieva V. B.**, Prof., MD, Head of the Department of Allergology Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ СЕМЕЙСТВА NCR В ПОПУЛЯЦИИ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРОВ У ПАЦИЕНТОК С ЛЕЙОМИОМОЙ МАТКИ

© 2019 г. Д. А. Малышкина<sup>1</sup>, Ю. С. Анциферова<sup>2\*</sup>, Н. В. Долгушина<sup>1</sup>

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия

Поступила: 13.02.2019. Принята: 28.02.2019

При изучении экспрессии NCR эндометриальными клетками – естественными киллерами (ЕК) – у пациенток с лейомиомой матки было выявлено существенное повышение количества NKp46<sup>+</sup> и NKp44<sup>+</sup>NKp46<sup>+</sup> клеток в пуле CD56<sup>+</sup> лимфоцитов. При высокой интенсивности пролиферации клеток миоматозных узлов экспрессия изученных NCR эндометриальными ЕК не отличалась от показателей контрольной группы. У пациенток с низким уровнем пролиферации было повышено общее содержание ЕК, CD56<sup>+</sup>NKp46<sup>+</sup> и CD56<sup>+</sup>NKp46<sup>+</sup>NKp44<sup>+</sup> лимфоцитов как по сравнению с контрольной группой, так и по сравнению с подгруппой пациенток с высоким уровнем экспрессии Ki67 в ткани миомы.

**Ключевые слова:** лейомиома матки, эндометрий, ЕК, NCR рецепторы, пролиферация

DOI: 10.31857/S102872210006907-2

**Адрес:** 153045 Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии. Анциферова Юлия Станиславовна. Тел./факс: +7(4932) 226256, +7905 155 86 76 (моб).

**E-mail:** niimid.immune@mail.ru

**Авторы:**

**Малышкина Д. А.**, ординатор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Анциферова Ю. С.**, д. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Долгушина Н. В.**, д. м. н., доцент, заместитель директора – руководитель департамента организации научной деятельности ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Лейомиома матки диагностируется по данным разных авторов у 20–60% женщин репродуктивного возраста [1]. Изучение механизмов, лежащих в основе развития и роста этой доброкачественной опухоли миометрия, выявило осо-

бую роль иммунных нарушений в этом процессе. Показано, что у пациенток с лейомиомой матки отмечаются выраженные нарушения врожденного иммунного ответа в эндометрии. В частности, установлены изменения дифференцировки эндометриальных макрофагов, непосредственно связанные с усиленной пролиферацией клеток опухоли [2]. Менее изучены к настоящему времени особенности функционирования эндометриальных естественных киллеров (ЕК) при данном заболевании. Как известно, именно ЕК играют ведущую роль в противоопухолевом иммунном надзоре, и уровень их цитотоксичности в отношении трансформированных клеток собственного организма во многом определяется репертуаром мембранных рецепторов. К настоящему времени идентифицировано несколько семейств рецепторов ЕК, таких как киллерные иммуноглобулин-подобные рецепторы, лектино-подобные рецепторы, а также рецепторы естественной цитотоксичности или NCR молекулы. Показано, что через NCR активируется цитотоксичность и цитокиновый ответ в ЕК, а лигандами этих рецепторов являются опухоле-

вые клетки [3]. Роль этих рецепторов в обеспечении противоопухолевого иммунного ответа эндометриальных ЕК при лейомиоме матки до настоящего времени остается неизученной.

**Целью** нашего исследования было оценить особенности экспрессии НКр44 и НКр46 молекул семейства NCR эндометриальными ЕК пациенток с лейомиомой матки и выявить взаимосвязь между характером активации ЕК и интенсивностью пролиферативных процессов в ткани опухоли.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами было проведено обследование 30 пациенток с лейомиомой матки, поступивших на консервативное лечение в гинекологическую клинику ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» МЗ РФ. 10 пациенток, обратившихся на прием к гинекологу для консультации по поводу контрацепции, составили контрольную группу. Материалом для исследования служили биоптаты эндометрия и образцы ткани миоматозных узлов. Эндометриальные мононуклеарные клетки выделяли безферментативным методом. Экспрессию НКр44 и НКр46 молекул семейства NCR в популяции CD56<sup>+</sup> лимфоцитов оценивали методом трехцветной проточной цитометрии. В ткани миомы оценивали уровень экспрессии мРНК маркера пролиферации Ki67 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В целом в группе пациенток с лейомиомой матки общее содержание CD56<sup>+</sup> лимфоцитов в эндометрии не отличалось от такового в контрольной группе. При этом количество НКр46<sup>+</sup> клеток и уровень дабл-позитивных лимфоцитов НКр44<sup>+</sup>НКр46<sup>+</sup> в пуле CD56<sup>+</sup> лимфоцитов у пациенток с лейомиомой матки значительно превышали аналогичные показатели у здоровых женщин. Анализ данных в зависимости от уровня пролиферативной активности опухолевых клеток показал, что в случаях высокой интенсивности пролиферации клеток миоматозных узлов экспрессия NCR эндометриальными ЕК не отличалась от показателей контрольной группы. В подгруппе пациенток с низким уровнем экспрессии маркера пролиферации Ki67 мы выявили значительное повышение общего содержания ЕК, уровня CD56<sup>+</sup>НКр46<sup>+</sup> и CD56<sup>+</sup>НКр46<sup>+</sup>НКр44<sup>+</sup> лимфоцитов как по сравнению с контрольной группой, так и по сравнению

с подгруппой пациенток с высоким уровнем экспрессии Ki67 в ткани миомы. Подгруппы пациенток с различным уровнем пролиферации в ткани опухоли различались между собой уровнем экспрессии НКр44 в популяции ЕК, которая была существенно выше у пациенток с низкой пролиферативной активностью в ткани лейомиомы матки.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, уровень активации эндометриальных ЕК различается у пациенток с высоким и низким уровнем пролиферативной активности в ткани опухоли. Максимально выраженные изменения, характеризующиеся повышенным уровнем экспрессии NCR рецепторов в популяции ЕК, отмечаются при лейомиоме с низким уровнем пролиферации, т.е. при более благоприятном течении заболевания. Тогда как у пациенток с пролиферирующей лейомиомой, которых относят к группе высокого риска по развитию гиперпластических процессов в эндометрии и молочных железах, а также по развитию кистозных доброкачественных и злокачественных образований в яичниках [4], существенных изменений в активности эндометриальных ЕК мы не выявили. Учитывая выраженную способность НКр44 и НКр46 рецепторов к индукции реакций цитотоксичности у CD56<sup>+</sup> ЕК можно предположить, что недостаточная цитотоксическая активность эндометриальных ЕК в ткани лейомиомы матки, непосредственно прилегающей к эндометрию, приводит к срыву локального противоопухолевого иммунного ответа, что может быть одной из причин усиления пролиферативной активности опухолевых клеток.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ /REFERENCES

1. *Commandeur A. E., Styer A. K., Teixeira J. M.* Epidemiological and genetic clues for molecular mechanisms involved in uterine leiomyoma development and growth. *Hum Reprod Update.* 2015, 21(5), 593–615.
2. *Antsiferova Y., Sotnikova N., Voronin D., Malysheva A., Kirsanov A.* Macrophages subsets in the endometrium of women with uterine leiomyoma. *Am J Reprod Immunol.* 2015, 73, Issue Supplement S1, 21.
3. *Pazina T., Shemesh A., Brusilovsky M., Porgador A., Campbell K. S.* Regulation of the Functions of Natural Cytotoxicity Receptors by Interactions with Diverse Ligands and Alterations in Splice Variant Expression. *Front Immunol.* 2017, 30 (8), 369.
4. Миома матки / под ред. И. С. Сидоровой. — М.: МИА, 2003. — 256 с. / Uterine leiomyoma. Ed. I. S. Sidорова. — М.: МИА, 2003. — 256 p.

**THE EXPRESSION OF NCR RECEPTORS BY ENDOMETRIAL  
NATURAL KILLERS IN WOMEN WITH UTERINE LEIOMYOMA**

© 2019 D. A. Malyshkina<sup>1</sup>, Yu. S. Antsiferova<sup>2\*</sup>, N. V. Dolgushina<sup>1</sup>

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

<sup>1</sup>*B.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology  
Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia;*

<sup>2</sup>*Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov  
Ministry of Healthcare of the Russian, Ivanovo, Russia*

**Received:** 13.02.2019. **Accepted:** 28.02.2019

The patients with uterine leiomyoma demonstrate the significant elevation of NKp44 and NKp46 expression by endometrial CD56<sup>+</sup> lymphocytes. The high proliferation of leiomyoma is not associated with changes of NCR expression by endometrial NK. In the case of low proliferation the level of NK, CD56<sup>+</sup>NKp46<sup>+</sup> and CD56<sup>+</sup>NKp46<sup>+</sup>NKp44<sup>+</sup> lymphocytes is increased in comparison to the control group and group of patients with high expression of Ki67 in leiomyoma tissue.

*Key words:* uterine leiomyoma, endometrium, NK, NCR receptors, proliferation

**Authors:**

**Malyshkina D.A.**, MD, Student, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Antsiferova Yu.S.**, ✉ BD, Leading scientific worker of the Laboratory of Clinical immunology, Ivanovo's Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ivanovo, Russia.

**E-mail:** niimid.immune@mail.ru;

**Dolgushina N.V.**, MD, PhD, Head of R&D Department, V. I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia.

## ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ПРОГНОЗА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА ПОСЛЕ КОРОНАРНОГО СТЕНТИРОВАНИЯ

© 2019 г. Е. В. Маркелова<sup>1\*</sup>, Н. И. Грачев<sup>1</sup>, А. А. Семенихин<sup>1</sup>,  
А. В. Караулов<sup>2</sup>

\*E-mail: markev2010@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет  
им. И. М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия

Поступила: 04.02.2019. Принята: 18.02.2019

Исследование было направлено на оценку прогностической способности иммунобиохимических показателей у пациентов с инфарктом миокарда после стентирования коронарных артерий. Забор крови выполнялся до операции, на 2 и 7 сутки для определения ИЛ-17, ИФН $\gamma$  и ММП-9. Выявлена предикторная способность ИЛ-17 до вмешательства (10,21–19,47 пг/мл), ИФН $\gamma$  (10,54–51,27 пг/мл) и ММП-9 (426,80–978,38 нг/мл) на вторые сутки после операции. Данные показатели сопряжены с повышением риска развития осложнений в ранний послеоперационный период.

**Ключевые слова:** цитокины, ЧКВ, инфаркт миокарда, осложнения

DOI: 10.31857/S102872210006908-3

Адрес: 690002 Владивосток, пр-кт Острякова, 2, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра нормальной и патологической физиологии. Маркелова Елена Владимировна.  
Тел.: 8 914 707 85 59 (моб.).

E-mail: markev2010@mail.ru

**Авторы:**

**Маркелова Е. В.**, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Грачев Н. И.**, аспирант ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Семенихин А. А.**, аспирант ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Караулов А. В.**, д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Минздрава РФ, Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Ишемическая болезнь сердца и острый инфаркт миокарда (ОИМ) постепенно становятся

одним из самых распространенных заболеваний в странах Европы и Северной Америки [1]. Важно отметить, что в западных странах регистрируется более низкая летальность от ОИМ, чем в России. Считается, что данные отличия обусловлены разницей в частоте использования интервенционных вмешательств. Так, например, в Чехии частота чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) при остром коронарном синдроме уже несколько лет держит планку свыше 95% [1]. Однако в последнее время в России наблюдается обнадеживающая тенденция к увеличению количества интервенционных вмешательств – за 2015 г. выполнено 202217 стентирований коронарных артерий и с каждым годом количество операций увеличивается [2]. Увеличение количества подобных вмешательств существенно повышает актуальность получения новых знаний о патогенезе ОИМ, реакции организма на интервенции и о предикторах развития осложнений при лечении. Именно поэтому, изучение иммунопатогенеза ОИМ у пациентов после ЧКВ и выявление иммунобиохимических предикто-

ров неблагоприятного прогноза заболевания остается важной медицинской проблемой [3].

**Цель исследования:** выявить иммунологические предикторы осложнений послеоперационного периода у пациентов с ОИМ, подвергшихся ЧКВ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 75 пациентов от 45 до 74 лет с ОИМ обоего пола, подвергшихся ЧКВ. Группы пациентов формировали в зависимости от характера течения послеоперационного периода – с гладким течением (62 человека) и с осложнениями в раннем периоде (13 человек). Осложнения включали неблагоприятные события после операции в течение госпитализации (нестабильность гемодинамических показателей, жизнеугрожающие нарушения ритма). Группой контроля служили 30 практически здоровых добровольцев. Забор крови производился до операции, на 2 и 7 сутки после ЧКВ. Определение сывороточного уровня ИЛ-17, ИФН $\gamma$  и ММП-9 производили методом твердофазного ИФА с использованием реактивов «R&D Diagnostics Inc», USA. Данные сравнивались U-критерием Манна-Уитни. Логистический регрессионный анализ был проведен для определения предикторов осложнений после ЧКВ. Статистически достоверными считали различия при  $p > 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами установлено, что уровень ИЛ-17 на всех этапах исследования был значительно выше в группе пациентов с ОИМ – 13,03 (12,31; 13,64) пг/мл, 12,28 (10,27; 13,09) пг/мл, 12,41 (11,59; 12,85) пг/мл, референсные показатели – 5,57 (1,89; 9,45) пг/мл ( $p < 0,001$ ). Достоверных различий в динамике на всех этапах забора крови не выявлено ( $p > 0,05$ ). Также в ходе анализа выявлено, что сывороточная концентрация ИЛ-17 была значительно выше в группах с наличием осложнений (до ЧКВ 12,13 (10,61; 13,65) пг/мл, 2-е сутки 13,71 (11,36; 16,06) пг/мл и 7-е сутки 12,84 (11,39; 14,30) пг/мл) по сравнению с группой гладкого течения послеоперационного периода (до ЧКВ 2,93 (2,50; 3,36) пг/мл, 2-е сутки 1,82 (1,03; 2,24) пг/мл и 7-е сутки 2,42 (2,01; 2,83) пг/мл) у лиц с ОИМ, подвергшихся ЧКВ ( $p < 0,01$ ). Содержание ИФН $\gamma$  до ЧКВ (36,89 (36,54; 37,92) пг/мл), а также на 2-е (39,99 (31,87; 47,15) пг/мл) и 7-е сутки (30,34 (29,76;

30,98) пг/мл) в сыворотке крови пациентов с ОИМ было значительно выше, чем в группе контроля (10,54 (7,40; 12,20) пг/мл) ( $p < 0,001$ ). Однако достоверных различий концентрации ИФН $\gamma$  на разных этапах забора крови выявлено не было ( $p > 0,05$ ). При этом мы выявили, что концентрация ИФН $\gamma$  на всех этапах исследования была значительно выше в группах с наличием осложнений (до ЧКВ 12,13 (10,61; 13,65) пг/мл, 2-е сутки 13,71 (11,36; 16,06) пг/мл и 7-е сутки 12,84 (11,39; 14,30) пг/мл) по сравнению с группой гладкого течения (до ЧКВ 2,93 (2,50; 3,36) пг/мл, 2-е сутки 1,82 (1,03; 2,24) пг/мл и 7-е сутки 2,42 (2,01; 2,83) пг/мл) послеоперационного периода. Концентрация ММП-9 в сыворотке крови у пациентов с ОИМ в полтора раза превышал аналогичный уровень в группе здоровых лиц на всех этапах мониторинга: 438,35 (253,15; 620,11) нг/мл до ЧКВ, 467,51 (464,23; 551,67) нг/мл на 2-е сутки и 413,40 (328,39; 502,29) нг/мл через неделю после вмешательства против 274,40 (209,00; 324,00) нг/мл в контроле. Динамика концентрации ММП-9 имела следующую картину – нарастала ко вторым суткам и снижалась к концу первой недели ( $p < 0,01$ ). У пациентов с осложнениями в раннем периоде определялись более высокие уровни ММП-9 относительно группы с гладким течением – 503,49 нг/мл против 473,4 до ЧКВ и 437,51 нг/мл против 392,06 нг/мл на седьмые сутки после процедуры ( $p < 0,001$ ). Результаты лог-регрессионного анализа были подтверждены статистически значимыми результатами построения кривых диагностической точности (ROC-кривых) ключевых предикторов ранних осложнений – ИЛ-17 до вмешательства в диапазоне 10,21–19,47 пг/мл ( $p = 0,03$ , среднее качество модели), ИФН $\gamma$  на вторые сутки в диапазоне 10,54–51,27 пг/мл ( $p = 0,01$ , хорошее качество модели), ММП-9 на вторые сутки в диапазоне 426,80–978,38 нг/мл ( $p = 0,04$ , среднее качество модели). Предикторная способность ИЛ-17 и ИФН $\gamma$  связана с первичной инициацией провоспалительных цитокинов и более быстрым запуском их синтеза в зонах патологических повреждений сосудов и тканей миокарда относительно других медиаторов воспаления и свидетельствует о вовлечении в патологический процесс избыточной активации нейтрофилов и лимфоцитов. Повышение сывороточного уровня ММП-9 при ОИМ, по всей видимости, обусловлено интенсивным клеточно-гуморальным ответом, приводящим к повреждению меж-

клеточного матрикса при ишемии миокарда и эндотелия сосудов. Полученные данные могут позволить клиницистам прогнозировать осложненное течение раннего послеоперационного периода у лиц с ОИМ, подвергшихся ЧКВ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Zeymer U., Ludman P., Danchin N., Kala P., Ferrari R., Maggioni A. P., Weidinger F. The European Society of Cardiology ACCA-EAPCI Registry on ST elevation myocardial infarction. *EurHeartJ.* 2017, 14; 38(3), 138–139.
2. Алякян Б. Г., Григорьян А. М., Стаферов А. В., Каранетян Н. Г. Рентгенэндоваскулярная диагностика и лечение заболеваний сердца и сосудистой в Российской Федерации – 2017 г. *Эндоваскулярная хирургия* 2018, 5(2), 93–240. [Alekyan B. G., Grigoryan A. M., Staferov A. V., Karapetyan N. G. Endovascular diagnosis and treatment of diseases of the heart and vascular system in the Russian Federation – 2017. *Endovascular surgery* 2018, 5(2), 93–240.]
3. Силаев А. А., Турмова Е. П., Маркелова Е. В. Анализ эффективности цитокинотерапии в послеоперационном периоде у пациентов с коронарным атеросклерозом. *Тихоокеанский медицинский журнал.* – 2013, 3, 18–21. [Silaev A. A., Turmova E. P., Markelova E. V. Analysis of the effectiveness of cytokine therapy in the postoperative period in patients with coronary atherosclerosis. *Pacific Medical Journal* 2013, 3, 18–21.]

### IMMUNOBIOCHEMICAL PREDICTORS FOR COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION AFTER CORONARY STENTING

© 2019 E. V. Markelova<sup>1\*</sup>, N. I. Grachev<sup>1</sup>, A. A. Semenikhin<sup>1</sup>,  
A. V. Karaulov<sup>2</sup>

\*E-mail: markev2010@mail.ru

<sup>1</sup>Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia;

<sup>2</sup>First Moscow Medical University, Moscow, Russia

Received: 04.02.2019. Accepted: 18.02.2019

The reason of study was assessing the prognostic ability of immunobiochemical parameters in patients with myocardial infarction after coronary arteries stenting. Blood sampling was performed before the operation, on the second and seventh days to determine IL-17, IFN $\gamma$  and MMP-9. The predictive ability of IL-17 before intervention (10.21–19.47 pg/ml), IFN $\gamma$  (10.54–51.27 pg/ml) and MMP-9 (426.80–978.38 ng/ml) on the second day after surgery. These indicators increase the risk of complications in the early postoperative period.

*Key words:* cytokines, PCI, myocardial infarction, complications

#### Authors:

**Markelova E. V.**, ☒ PhD, Head of Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia. E-mail: markev2010@mail.ru;

**Grachev N. I.**, postgraduate, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia;

**Semenikhin A. A.**, postgraduate, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia;

**Karaulov A. V.**, PhD, Head of Department of Clinical Immunology and Allergology, First Moscow Medical University, Moscow, Russia.

## ВЛИЯНИЕ МОДУЛИРОВАННЫХ КОФЕИНОМ ИММУННЫХ КЛЕТОК НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПАТТЕРНЫ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНЫХ ЖИВОТНЫХ

© 2019 г. Е. В. Маркова<sup>1,2\*</sup>, М. А. Княжева<sup>1</sup>, Т. Г. Амстиславская<sup>3</sup>

\*E-mail: evgeniya\_markova@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup>ФГБНУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины», Новосибирск, Россия

Поступила: 15.02.2019. Принята: 26.02.2019

Нарушение нейроиммунного взаимодействия является существенным звеном в патогенезе поведенческих расстройств. Однонаправленное влияние большинства психоактивных веществ на ЦНС и иммунную систему позволяет рассматривать иммунные клетки в качестве модельных объектов для воздействия на межсистемную функциональную взаимосвязь. Целью настоящей работы было исследование влияния трансплантации иммунных клеток с модулированной *in vitro* кофеином функциональной активностью на поведенческие паттерны депрессивно-подобных животных. Результаты исследования демонстрируют эффект модулированных кофеином иммунных клеток, корригирующий депрессивно-подобное поведение, выражающийся в снижении ангедонии, стимуляции поведения в «открытом поле» и существенном увеличении временных периодов мобильности в тесте принудительного плавания, регистрируемых на фоне изменения содержания ряда цитокинов в головном мозге.

**Ключевые слова:** иммунные клетки, психоактивное вещество, трансплантация, депрессивно-подобное поведение

DOI: 10.31857/S102872210006909-4

Адрес: 630099. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория нейроиммунологии. Маркова Евгения Валерьевна. Тел./факс: +7(383) 222-06-72, 8 903 934 67 86 (моб.).

E-mail: evgeniya\_markova@mail.ru

Авторы:

**Маркова Е. В.**, д.м.н., заведующая лабораторией нейроиммунологии, главный научный сотрудник ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия; профессор ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск, Россия;

**Княжева М. А.**, аспирант третьего года обучения лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Амстиславская Т. Г.**, д.б.н., заведующая лабораторией транслационной биопсихиатрии, главный научный сотрудник ФГБНУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины», Новосибирск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Нарушение нейроиммунного взаимодействия является существенным звеном в патогенезе поведенческих расстройств, оказывая негативное

влияние на их течение, утяжеляя клиническую картину, снижая эффективность терапии; в силу чего актуальным является поиск новых подходов к их лечению. Однонаправленное влияние большинства психоактивных веществ (ПАВ) на ЦНС и иммунную систему позволяет рассматривать иммунные клетки в качестве модельных объектов для воздействия на межсистемную функциональную взаимосвязь. Имеется достаточный массив данных о существенной роли иммунокомпетентных клеток и их биологически активных продуктов в патогенезе депрессии [1, 2], что обуславливает возможность и перспективность иммунотерапии депрессивно-подобного поведения аутологичными иммунными клетками с модулированной ПАВ функциональной активностью. Ранее нами была установлена способность клеток иммунной системы к направленной регуляции параметров ориентировочно-исследовательского поведения [3, 4]; показана возможность и механизмы стимуляции

пассивного поведения животных трансплантацией спленоцитов, с модулированной *in vitro* кофеином функциональной активностью [5].

**Целью** настоящей работы было исследование влияния трансплантации иммунных клеток с модулированной *in vitro* ПАВ функциональной активностью на поведенческие паттерны депрессивно-подобных животных.

## МЕТОДЫ

В качестве доноров и реципиентов использовались мыши (СВА×С57BL/6) F1 (n=120), в возрасте 3-х месяцев, с пассивным типом поведения в «открытом поле», у которых было сформировано депрессивно-подобное поведение методом длительного социального стресса. Иммунные клетки для трансплантации получали в стерильных условиях из суспензии спленоцитов, обрабатывали *in vitro* кофеином, внутривенно вводили сингенным реципиентам, как было описано ранее [5]. В контрольной группе животных подготовка и трансплантация иммунных клеток проводилась в аналогичных условиях эксперимента, за исключением того, что последние культивировались без присутствия кофеина. У реципиентов через 48 часов после трансплантации оценивались параметры поведения в тесте «открытое поле», в тесте принудительного плавания по Порсолту с использованием компьютеризованного оборудования фирмы Noldus International Technology. Для оценки выраженности ангедонии у реципиентов течение 10 дней регистрировалось индивидуальное потребление (слизывание) 1% раствора сахарозы и воды в условиях свободного выбора методом автоматизированного круглосуточного мониторинга с помощью мультифункциональной системы, поведенческого фенотипирования лабораторных животных Intelli Cage (NewBehavior). Содержание цитокинов в структурах головного мозга определялось методом ИФА.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Модуляция под действием ПАВ функциональной активности спленоцитов выражалась в изменении их пролиферативной активности и продукции цитокинов. Трансплантация, модулированных кофеином, иммунных клеток вызывала у сингенных реципиентов с депрессивно-подобным поведением стимуляцию двигательной и исследовательской активности в «открытом поле». В тесте принудительного

плавания, используемого для оценки состояния депрессивности у животных, наблюдалось существенное увеличение временных периодов мобильности и снижение периодов пассивного плавания (дрейф + полная неподвижность) с исчезновением периодов полной неподвижности в воде. У мышей-реципиентов регистрировалось также снижение ангедонии, считающейся главным признаком депрессии в экспериментальных моделях, выявляемое по предпочтению потребления раствора сахарозы (в процентном отношении от общего количества потребляемой жидкости) по сравнению с контрольной группой животных ( $87,8 \pm 2,0$  и  $67,5 \pm 4,8$  соответственно;  $p < 0,05$ ). Различия по указанному показателю между контрольной и опытной группами реципиентов регистрировались через сутки после клеточной трансплантации и в течение 7-ми дней последующего тестирования. Указанные выше особенности поведения депрессивно-подобных реципиентов регистрировались на фоне изменения содержания ряда регуляторных цитокинов в патогенетически значимых структурах головного мозга, преимущественно в сторону снижения провоспалительных цитокинов: в гиппокампе выявлено снижение ИЛ-6, ИНФγ и повышение ИЛ-10; в гипоталамусе – снижение ИЛ-1β, ИЛ-6, ИНФγ; в префронтальной коре – снижение ИНФγ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты демонстрируют эффект трансплантации иммунных клеток с модулированной *in vitro* психоактивным веществом функциональной активностью, корригирующий депрессивно-подобное поведение у экспериментальных животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Miller A. H., Maletic V., Raison C. L. Inflammation and Its Discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. // J. Biological Psychiatry. 2009, 9 (65), 732–741.
2. Idova G. V., Markova E. V., Gevorgyan M. M., Al'perina E. L., Zhanaeva S. Ya. Production by Splenic Cells in C57BL/6J Mice with Depression-Like Behavior Depends on the Duration of Social Stress. Bull. Exp. Biol. Med. 2018, 164 (5), 645–649.
3. Маркова Е. В. Иммунная система и высшая нервная деятельность. Механизмы нейроиммунных взаимодействий в реализации и регуляции поведенческих реакций. Saarbrücken, 2012. [Markova E. V. The immune system and higher nervous activity. Mechanisms of neuroimmune interactions in the

- implementation and regulation of behavioral reactions. Saarbruken, 2012].
4. *Маркова Е. В., Князева М. А., Козлов В. А.* Клеточные механизмы нейроиммунных взаимодействий в регуляции ориентировочно-исследовательского поведения. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2013., 1 (76), 49–52. [*Markova E. V., Knyazheva M. A., Kozlov V. A.* Cellular mechanisms of neuroimmune interactions in the regulation of orienting-exploratory behavior. *Siberian Bulletin of Psychiatry and Narcology*. 2013., 1 (76), 49–52].
  5. *Маркова Е. В., Князева М. А., Шушпанова Т. В., Козлов В. А.* Стимуляция пассивного поведения трансплантацией иммунокомпетентных клеток, экстракорпорально обработанных психоактивным препаратом Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2015, 4 (89), 5–9. [*Markova E. V., Knyazheva M. A., Shushpanova T. V., Kozlov V. A.* Stimulation of passive behavior by transplantation of immunocompetent cells extracorporeally treated with a psychoactive drug. *Siberian Bulletin of Psychiatry and Addiction*. 2015, 4 (89), 5–9].

## CAFFEINE-MODULATED IMMUNE CELLS EFFECT ON BEHAVIOR PATTERNS IN DEPRESSIVE-LIKE ANIMALS

© 2019 E. V. Markova<sup>1,2\*</sup>, M. A. Knyazheva<sup>1</sup>, T. G. Amstislavskaya<sup>3</sup>

\*E-mail: [evgeniya\\_markova@mail.ru](mailto:evgeniya_markova@mail.ru)

<sup>1</sup>*Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;*

<sup>2</sup>*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Novosibirsk State Pedagogical University», Novosibirsk, Russia;*

<sup>3</sup>*Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Physiology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia*

**Received:** 15.02.2019. **Accepted:** 26.02.2019

Disruption of neuroimmune interaction is an essential link in the pathogenesis of behavioral disorders. The unidirectional influence of most psychoactive substances on nervous and immune systems makes it possible to consider immune cells as model objects for influencing the intersystem functional relationship. The purpose of this work was to study the effect of the caffeine – modulated immune cells transplantation on the behavioral patterns in depressive-like animals. The results show a corrective depressive-like behavior effect, resulting in a decrease in anhedonia, stimulation of behavior in the open field and a significant increase in the time periods of mobility in the forced swimming test registered against the background of changes in the brain cytokines content.

*Key words:* immune cells, psychoactive substance, transplantation, depressive-like behavior

### Authors:

**Markova E. V.**, ✉ Doctor of Medical Sciences, Head of the Neuroimmunology laboratory, Chief Researcher of the Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia; Professor of the «Novosibirsk State Pedagogical University», Novosibirsk, Russia. **E-mail:** [evgeniya\\_markova@mail.ru](mailto:evgeniya_markova@mail.ru);

**Knyazheva M. A.**, Graduate student of the Neuroimmunology laboratory of the Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Amstislavskaya T. G.**, Doctor of Biological Sciences, Head of the Translational Biopsychiatry Laboratory, Chief Researcher of the Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Physiology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia.

## ПОШАГОВОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СНИЖЕНИЯ РИСКОВ ЧАСТЫХ СЛУЧАЕВ ОСТРОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ГРУППАХ ЛИЦ С РАЗНЫМ ИММУННЫМ СТАТУСОМ

© 2019 г. А. И. Мартынов, Т. Г. Федоскова, Т. В. Феофанова\*,  
З. В. Зеленова

\*E-mail: [tatianafeofanova@yandex.ru](mailto:tatianafeofanova@yandex.ru)

ФГБУ «Государственный научный центр Институт иммунологии»  
ФМБА России, Москва, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 11.03.2019

Предложена пошаговая статистическая модель расчета рисков частых ежегодных случаев заболевания острой респираторной вирусной инфекцией у взрослых в условиях изменения величины вредного воздействия. Алгоритм апробирован на данных двух групп работников химического предприятия, которые различались по величине соответствующих иммунных маркеров. Показано, что при одном и том же снижении уровня вредного воздействия темпы снижения риска в группах различались в 2,5 раза. Таким образом, в ситуации с уменьшением вредного воздействия, модель может быть использована с целью выбора приоритетной группы работников, для которых будет реализовано максимальное снижение величины указанного риска.

**Ключевые слова:** иммунитет, острая респираторная вирусная инфекция, повышенный риск, производственный фактор, статистическая модель

DOI: 10.31857/S102872210006910-6

Адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24, ФГБУ «Государственный научный центр Институт иммунологии» ФМБА России, лаборатория моделирования иммунологических процессов. Феофанова Татьяна Васильевна.  
Тел.: 89032416927 (моб.).

E-mail: [tatianafeofanova@yandex.ru](mailto:tatianafeofanova@yandex.ru)

**Авторы:**

**Мартынов А. И.**, к.м.н., первый зам. директора ФГБУ «Государственный научный центр Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

**Федоскова Т. Г.**, д.м.н., зав. лабораторией молекулярных механизмов аллергии ФГБУ «Государственный научный центр Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

**Феофанова Т. В.**, к.ф.-м.н., в.н.с., лаборатории моделирования иммунологических процессов ФГБУ «Государственный научный центр Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

**Зеленова З. В.**, н.с. лаборатории моделирования иммунологических процессов ФГБУ «Государственный научный центр Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ) ежегодно наносит значительный ущерб здоровью населения и экономике практически всех стран мира. Риск заболевания ОРВИ зави-

сит от многих факторов: возраста, условий труда и проживания, сопротивляемости организма, участия в программах вакцинации против ОРВИ и др. С точки зрения минимизации ущерба, как для отдельного больного (ущерб для здоровья), так и для группы больных (экономические потери от оплаты больничных листов), важным является сокращение числа повторных случаев ОРВИ у одного человека в течение одного календарного года.

Ранее нами был разработан статистический метод определения иммунных маркеров повышенного риска ежегодных случаев ОРВИ, включая повторные, по результатам однократного иммунологического обследования работающих взрослых [1]. Для апробации этого метода были использованы данные работников химического предприятия. В ходе расчетов для этих лиц были: 1) определены три показателя иммунного статуса, являющиеся маркерами повышенного риска ежегодных частых заболеваний ОРВИ; 2) выделены две группы с разными рисками ОРВИ; 3) для каждой группы получено регрессионное

уравнение, связывающее число заболеваний ОРВИ за год с иммунным статусом, состоянием здоровья и условиями труда. В дальнейшем планировали использовать эти уравнения для расчета изменения величины рисков ОРВИ при изменении величины вредного воздействия.

**Цель** настоящего исследования – разработка алгоритма расчета рисков развития ОРВИ в условиях изменения величины вредного воздействия и его апробация в двух сформированных ранее группах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для расчетов были использованы: 1) данные иммунологического обследования (23 показателя, в том числе 3 показателя местного иммунитета, определявшиеся в слюне) 43 человек, работавших в контакте с производственным фактором (РФ); 2) сведения о состоянии их здоровья; 3) данные о числе ежегодных случаев ОРВИ для каждого работника. В качестве имитатора действия РФ был выбран показатель s-IgA-sal, так как давно известно, что у лиц, проживающих на загрязненных территориях были повышенные значения показателей местного иммунитета, которые нормализовались после их перемещения на территории без загрязнения [2]. При расчетах использовали непараметрические критерии с  $p < 0,05$ .

### Пошаговая статистическая модель

Величина риска заболевания ОРВИ вычисляется с учетом величины соответствующего иммунного маркера и числа лиц с ОРВИ в данной группе [1]. Для оценки изменения риска в группе при изменении величины вредного воздействия необходимо построить статистические модели связей величины вредного воздействия с величиной иммунных маркеров и с независимыми переменными соответствующих регрессионных уравнений (шаг 1); рассчитать ожидаемое число ОРВИ для каждого объекта в группе с учетом связей, выявленных на шаге 1 (шаг 2); удалить из группы объекты с несоответствующими первоначальными условиями отбора в нее значениями маркеров и/или значений числа ОРВИ (шаг 3); рассчитать новое значение риска (шаг 4).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Расчеты показали, что при 10%-ом снижении уровня действия РФ (в модели этому соответствует 10%-ное снижение показателя s-IgA-sal) в группе 1 риск частых ежегодных ОРВИ сни-

жался на 14,3–16,7%, в группе 2 – на 6,5%. Подробные результаты расчетов представлены в [3].

## ОБСУЖДЕНИЕ

Сопоставление рисков ежегодных случаев ОРВИ в группах работников химического предприятия с разным иммунным статусом показало, что информации только о величине этих показателей недостаточно для выбора приоритетной группы и приоритетного пути для проведения эффективных мероприятий по их (рисков) снижению [3]. По этой причине была разработана пошаговая статистическая модель оценки риска ежегодных случаев ОРВИ в зависимости от действия данного РФ, проявляющегося в повышении уровня иммуноглобулинов класса А в слюне. С помощью этой модели была определена группа с максимальной чувствительностью к РФ. В эту группу вошли лица с частыми ежегодными заболеваниями ОРВИ, имевшие на момент обследования соответствующие значения иммунных маркеров, а именно: повышенные значения показателей местного иммунитета и нормальные значения фагоцитоза нейтрофилов. В соответствии с характером действия РФ высказано предположение, что в этой группе снижение риска возникновения частых ежегодных случаев ОРВИ может быть достигнуто путем усиления средств индивидуальной защиты, в первую очередь предназначенных для защиты слизистых оболочек ротовой полости и носоглотки работника. Таким образом, с помощью разработанной модели была выбрана приоритетная группа и указан возможный путь для управления риском частых ежегодных случаев ОРВИ в условиях действия данного РФ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Мартынов А. И., Федоскова Т. Г., Феофанова Т. В., Зеленова З. В.* Иммунные маркеры повышенного риска частых случаев острой респираторной вирусной инфекции у работников химического производства Российский иммунологический журнал. 2017, 11, 3, 419–421. [*Martynov A. I., Fedoskova T. G., Feofanova T. V. and Z. V. Zelenova Z. V.* Immune markers of increased risk of frequent cases of acute respiratory viral infection in employees of chemical production. Russian Immunological Journal. 2017, 11, 3, 419–421].
2. *Richter J., Pelech L.* Immunological findings in groups of children after compensatory measures. Toxicol Lett. 1996, 88, 1–3, 165–168.
3. *Мартынов А. И., Федоскова Т. Г., Феофанова Т. В., Зеленова З. В.* Некоторые аспекты управления рисками ежегодных случаев острой респираторной

вирусной инфекции в группах лиц с разным иммунным статусом. В кн.: Управление развитием крупномасштабных систем (MLSD'2018) Труды одиннадцатой международной конференции. ИПУ РАН, Москва 2018, 391–399. [Martynov A. I., Fedoskova T. G., Feofanova T. V. and Z. V. Zelenova Z. V.

Some aspects of risk management of annual cases of acute respiratory viral infection in groups of individuals with different immune status. In: Management large-scale systems development (MLSD'2018) Proceedings of the eleventh international conference. IPU RAN, Moscow 2018, 391–399].

## STEP-BY-STEP SIMULATION RISK REDUCTION OF PRIVATE ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTION CASES IN PATIENTS WITH DIFFERENT IMMUNE STATUS

© 2019 A. I. Martynov, T. G. Fedoskova, T. V. Feofanova\*, Z. V. Zelenova

\*E-mail: [tatianafeofanova@yandex.ru](mailto:tatianafeofanova@yandex.ru)

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

Received: 27.02.2019. Accepted: 11.03.2019

A step-by-step statistical model for calculating the risks of frequent annual cases of acute respiratory viral infection in adults in the conditions of changing the magnitude of the harmful effects is proposed. The algorithm was tested on the data of two groups of workers of the chemical enterprise, which differed in size of the corresponding immune markers. It is shown that with the same reduction in the level of harmful effects, the rate of risk reduction in the groups differed by 2.5 times. Thus, the model can be used to select a priority group of employees in the conditions of a given impact on the production factor in order to minimize the value of the specified risk for them.

*Key words:* immunity, acute respiratory viral infection, increased risk, production factor, personal protective equipment, statistical model

### Authors:

**Martynov A. I.**, ✉ Ph. D., first Deputy Director, Federal Medical-Biological Agency of Russia, National Research Center Institute of Immunology, Moscow, Russia. **E-mail:** [tatianafeofanova@yandex.ru](mailto:tatianafeofanova@yandex.ru);

**Fedoskova T. G.**, MD, Head of the laboratory of Molecular Mechanisms of Allergy, Federal Medical-Biological Agency of Russia, National Research Center Institute of Immunology; Moscow, Russia;

**Feofanova T. V.**, Phys.-MD., Leading Researcher., Laboratory of Immunological Processes modeling, Federal Medical-Biological Agency of Russia, National Research Center Institute of Immunology; Moscow, Russia;

**Zelenova Z. V.**, Researcher, Laboratory of Immunological Processes Modeling, Federal Medical-Biological Agency of Russia, National Research Center Institute of Immunology. Moscow, Russia.

## ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИТЕЛ К $\beta$ 2-ГЛИКОПРОТЕИНУ-I И ДОМЕНУ I У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2019 г. И. В. Менжинская\*, Л. В. Ванько

\*E-mail: i\_menzinskaya@oparina4.ru

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 14.03.2019

Антитела к  $\beta$ 2-ГП-I являются независимым фактором риска привычного невынашивания беременности (ПНБ). Показано хорошее совпадение между результатами ИФА и хемилюминесцентного иммуноанализа при определении средних и высоких концентраций антител к  $\beta$ 2-ГП-I. Антитела к домену I часто выявлялись у пациенток, серопозитивных на антитела к  $\beta$ 2-ГП-I. Обнаружение антител к домену I имеет важное клиническое значение для стратификации пациенток по риску тромбоза и акушерских осложнений.

**Ключевые слова:** антитела к  $\beta$ 2-гликопротеину-I и домену I, привычное невынашивание беременности, хемилюминесцентный иммуноанализ

DOI: 10.31857/S102872210006911-7

**Адрес:** 117997 Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии. Менжинская Ирина Владимировна.  
Тел./факс: +7 (495) 438 11 83, 8915 345 06 59 (моб.).

**E-mail:** i\_menzinskaya@oparina4.ru

**Авторы:**

**Менжинская И. В.**, к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Ванько Л. В.**, д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия.

Антитела (IgM, IgG) к  $\beta$ 2-гликопротеину-I ( $\beta$ 2-ГП-I) относятся к классификационным лабораторным критериям антифосфолипидного синдрома (АФС) наряду с антителами к кардиолипину (КЛ) и волчаночным антикоагулянтам (ВА).  $\beta$ 2-гликопротеин-I — белок плазмы крови, обладающий антикоагулянтной активностью, — является главной мишенью антифосфолипидных антител (аФЛ), тогда как антитела к  $\beta$ 2-ГП-I играют центральную роль в патогенезе АФС [1].

Антитела к  $\beta$ 2-ГП-I являются независимым фактором риска привычного невынашивания беременности (ПНБ) на ранних сроках [2]. Наличие антител к  $\beta$ 2-ГП-I ассоциируется с низкой частотой живорождения, высокой частотой преэклампсии, задержки внутриутробного роста плода и мертворождения [3]. Хотя антитела к  $\beta$ 2-ГП-I могут связываться с каждым из пяти доменов  $\beta$ 2-ГП-I, иммунодоминантный эпитоп локализуется в домене I и является зависимым от конформации молекулы  $\beta$ 2-ГП-I. Антитела к домену I  $\beta$ 2-ГП-I ассоциируются с тромбозом и осложнениями беременности в большей степени, чем антитела к  $\beta$ 2-ГП-I, и часто выявляются при положительном ВА или тройной позитивности на лабораторные критерии АФС [4]. Диагностика АФС проводится с использованием твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствии с рекомендациями Международного общества по изучению тромбоза и гемостаза. Кроме того, для определения антител к КЛ, к  $\beta$ 2-ГП-I и домену I предлагается автоматизированный хемилюминесцентный иммуноанализ (ХЛИА) [4].

**Цель** настоящего исследования: сравнение результатов определения антител к  $\beta$ 2-ГП-I ме-

тодами ИФА и ХЛИА и определение частоты выявления антител к домену I у женщин с ПНБ, серопозитивных на антитела к  $\beta 2$ -ГП-I.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методы исследования включали определение антител (IgM, IgG) к  $\beta 2$ -ГП-I с использованием иммуноферментных наборов фирмы ORGENTEC Diagnostika GmbH (Германия) и наборов HemosIL AcuStar (Instrumentation Laboratory, США) для ХЛИА. Определение IgG антител к домену I  $\beta 2$ -ГП-I проводили с применением хемилюминесцентного анализатора Acustar (Instrumentation Laboratory) и наборов QUANTA Flash фирмы INOVA Diagnostics, Inc. (США). В исследование были включены женщины с ПНБ и повышенным уровнем антител (IgM, IgG) к  $\beta 2$ -ГП-I по данным ИФА (n=30).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При исследовании сывороток крови женщин с ПНБ с помощью ИФА IgM антитела к  $\beta 2$ -ГП-I были выявлены в 15 (50%) образцах, IgG – в 22 (73,3%) образцах. При исследовании этих же сывороток с помощью ХЛИА IgM антитела к  $\beta 2$ -ГП-I были обнаружены в 9 (30%) образцах, IgG антитела – в 22 (73,3%) образцах. В среднем и высоком диапазоне концентраций результаты анализов совпадали в 92% случаев, однако наблюдались несовпадения результатов при низких уровнях антител: при уровне IgM  $5,8 \pm 4,3$  Ед/мл, IgG  $9,2 \pm 7,3$  Ед/мл по данным ИФА. Медианный уровень антител к  $\beta 2$ -ГП-I у женщин с ПНБ по данным ИФА составлял: IgM – 7,9 (1,4–109,0) (95% CI (2,3–13,3)) Ед/мл, IgG – 13,2 (1,8–124,9) (95% CI (8,6–35,6)) Ед/мл. По данным ХЛИА медианный уровень антител к  $\beta 2$ -ГП-I у женщин составлял: IgM – 3,3 (1,1–462,8) (95% CI (2,3–13,3)) Ед/мл, IgG – 94,4 (6,1–122000) (95% CI 23,1–1103,8)) Ед/мл. Между уровнями антител к  $\beta 2$ -ГП-I класса IgM, полученными при определении с помощью ИФА и ХЛИА, наблюдалась сильная прямая корреляционная связь с  $r=0,737$  (0,513–0,867) ( $p<0,0001$ ), тогда как между уровнями IgG антител к  $\beta 2$ -ГП-I отмечалась прямая корреляционная связь средней силы с  $r=0,66$  (0,393–0,824) ( $p<0,0001$ ). IgG антитела к домену I  $\beta 2$ -ГП-I были обнаружены у 13 (43,3%) женщин с ПНБ, серопозитивных на антитела к  $\beta 2$ -ГП-I по данным ИФА. Медианный уровень IgG антител к домену I составлял 9,85 (3,7–7664,3) (95% CI

(3,74–51,7)) хемилюминесцентных единиц (СУ). Между уровнями IgG антител к  $\beta 2$ -ГП-I и домену I при определении с помощью ХЛИА была выявлена сильная прямая корреляционная связь с  $r=0,923$  (0,843–0,963) ( $p<0,0001$ ), при этом у женщин, положительных на антитела к домену I, медианный уровень антител к  $\beta 2$ -ГП-I составлял 1527 (567,5–122000) Ед/мл. Тогда как между уровнями IgG антител к  $\beta 2$ -ГП-I в ИФА и к домену I наблюдалась прямая корреляционная связь средней силы с  $r=0,646$  (0,372–0,816) ( $p=0,0001$ ). При обнаружении антител к домену I средний уровень IgG антител к  $\beta 2$ -ГП-I по данным ИФА составлял  $48,6 \pm 34,8$  Ед/мл. По данным ROC-анализа, при уровне IgG антител к  $\beta 2$ -ГП-I выше 17,6 Ед/мл (OR41,3; 95% CI (5,01–339,82);  $p=0,0005$ ) по данным ИФА или выше 501,3 Ед/мл (OR945; 95% CI (17,6–50764,9);  $p=0,0007$ ) по данным ХЛИА имеется высокая вероятность наличия IgG антител к домену I. Следует отметить, что автоматизированный ХЛИА характеризуется простотой, экспрессностью, высокой чувствительностью, специфичностью и широким линейным диапазоном. Несовпадения результатов ИФА и ХЛИА при низком содержании антител к  $\beta 2$ -ГП-I могут быть следствием разной чувствительности и специфичности анализов, что обусловлено различиями способов очистки и иммобилизации  $\beta 2$ -ГП-I, свойств иммунореактивов и используемых стандартов. Таким образом, при исследовании сывороток крови пациенток с ПНБ на антитела (IgM, IgG) к  $\beta 2$ -ГП-I с помощью методов ИФА и ХЛИА наблюдалось хорошее совпадение результатов двух анализов при определении антител в среднем и высоком диапазоне концентраций. Высокая частота выявления антител к домену I у женщин с ПНБ, серопозитивных на антитела к  $\beta 2$ -ГП-I, в совокупности с высокой вероятностью наличия антител к домену I при среднем и высоком уровне антител к  $\beta 2$ -ГП-I имеют важное клиническое значение для стратификации пациенток с ПНБ по риску тромбоза и акушерских осложнений.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Willis R., Pierangeli S. S. Anti- $\beta 2$ -glycoprotein I antibodies. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2013, 1285, 44–58.
2. Менжинская И. В., Кащенко М. М., Ионанидзе Т. Б., Ванько Л. В., Сухих Г. Т. Спектр антифосфолипидных антител у женщин с привычным невынашиванием беременности и их диагностическое значение. Иммунология. 2016, 37(1), 4–9. [Menzhinskaya I. V., Kashentseva M. M., Ionanidze T. B., Van'ko L. V., Sukhikh G. T. Spectrum of

- antiphospholipid antibodies in women with recurrent pregnancy loss and their diagnostic value. *Immunologia/Immunology*. 2016, 37(1), 4–9. (in Russian)].
3. *Saccone G., Berghella V., Maruotti G. M., Ghi T., Rizzo G., Simonazzi G., Rizzo N., Facchinetti F., Dall'Asta A., Visentin S., Sarno L., Xodov S., Bernabini D., Monari F., Roman A., Chigoziem Eke A., Hoxha A., Ruffatti A., Schuit E., Martinelli P.* Antiphospholipid antibody profile based obstetric outcomes of primary antiphospholipid syndrome: the pregnant study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2017, 216, 525.e1–525.e12.
  4. *De Craemer A. S., Musial J., Devreese K. M.* Role of anti-domain 1- $\beta$ 2 glycoprotein I antibodies in the diagnosis and risk stratification of antiphospholipid syndrome. *J. Thromb. Haemost.* 2016, 14(9), 1779–1787.

## STUDY OF ANTIBODIES TO $\beta$ 2-GLYCOPROTEIN-I AND DOMAIN I IN WOMEN WITH RECURRENT PREGNANCY LOSS

© 2019 I. V. Menzhinskaya\*, L. V. Van'ko

\*E-mail: [i\\_menzinskaya@oparina4.ru](mailto:i_menzinskaya@oparina4.ru)

*National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology  
named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation,  
Moscow, Russia*

**Received:** 27.02.2019. **Accepted:** 14.03.2019

Antibodies to  $\beta$ 2-GP-I are an independent risk factor for recurrent pregnancy loss (RPL). A good agreement between the results of ELISA and chemiluminescent immunoassay was shown in the determination of medium and high anti- $\beta$ 2-GP-I antibody concentrations. Antibodies to domain I were often found in the patients seropositive for anti- $\beta$ 2-GP-I antibodies. Detection of antibodies to domain I has important clinical significance for the stratification of patients by risk of thrombosis and obstetric complications.

*Key words:* antibodies to  $\beta$ 2-glycoprotein-I and domain I, recurrent pregnancy loss, chemiluminescent immunoassay

### Authors:

**Menzhinskaya I. V.**, ☒ PhD in Medical sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Clinical Immunology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia. **E-mail:** [i\\_menzinskaya@oparina4.ru](mailto:i_menzinskaya@oparina4.ru);

**Van'ko L. V.**, Grand PhD in Medical sciences, Professor, Leading Researcher of the Laboratory of Clinical Immunology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia.

## РОЛЬ TLR9 И КОМПОНЕНТОВ ИНФЛАММАСОМНОГО КОМПЛЕКСА В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ ПСОРИАЗА

© 2019 г. Е. Д. Меркушова<sup>1\*</sup>, Е. М. Хасанова<sup>1</sup>, О. А. Свитич<sup>1</sup>,  
Н. В. Баткаева<sup>2</sup>, М. М. Гитинова<sup>2</sup>, Л. В. Ганковская<sup>1</sup>

\*E-mail: rina.karmin@outlook.com

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 29.03.2019

В настоящее время псориаз рассматривают как заболевание, в патогенезе которого участвуют как аутоиммунные, так и аутовоспалительные реакции. В настоящем исследовании с помощью метода ПЦР-РВ была исследована экспрессия генов TLR9, компонентов инфламмасомного комплекса (NLRP1, NLRP3), а также эффекторных молекул IL-1 $\beta$  и IL-18 в биоптатах здоровой и пораженной кожи у 35 пациентов с тяжелым течением псориаза. В псориазическом очаге было выявлено повышение уровня экспрессии генов TLR9 в 4,1 раза, NLRP1 – в 6 раз. Анализ экспрессии генов интерлейкинов выявил 10-кратное увеличение экспрессии гена IL-18 в псориазическом очаге, при этом экспрессия гена IL-1 $\beta$  была сопоставима с его экспрессией в биоптатах здоровой кожи.

**Ключевые слова:** псориаз, TLR9, инфламмасома, IL-1 $\beta$ , IL-18, экспрессия гена

DOI: 10.31857/S102872210006912-8

**Адрес:** 117997 Москва, ул. Островитянова, д.1, ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, Россия, кафедра иммунологии МБФ, Меркушова Екатерина Дмитриевна. Тел: 89152569694 (моб.).

**E-mail:** rina.karmin@outlook.com

**Авторы:**

**Меркушова Е. Д.**, ассистент кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Хасанова Е. М.**, студент 6 курса МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Свитич О. А.**, д.м.н., член-корр. РАН, доцент кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Баткаева Н. В.**, к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии РУДН, Москва, Россия;

**Гитинова М. М.**, ассистент кафедры дерматовенерологии и косметологии РУДН, Москва, Россия;

**Ганковская Л. В.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия.

Псориаз является хроническим, аутоиммунным, воспалительным заболеванием кожи, характеризующимся нарушением дифференцировки кератиноцитов. В настоящее время псориаз рассматривают как заболевание, в патогенезе

которого участвуют как аутоиммунные, так и аутовоспалительные реакции. Активно исследуется роль механизмов врожденного иммунитета в иммунопатогенезе псориаза. В последние годы появились исследования свидетельствующие о том, что передача сигналов через Toll-подобные рецепторы (TLR) и Nod-подобные рецепторы (NLR) может играть роль в инициации или прогрессировании течения псориаза, способствуя развитию воспаления [1]. Известно, что разрушение кератиноцитов при псориазе приводит к выработке противомикробного пептида LL-37, который при связывании с собственной ДНК превращает ее в мощный активирующий лиганд для TLR9 [2]. Взаимодействие TLR9 с эндогенными лигандами приводит к активации транскрипционного фактора Nf-kB, который запускает экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как TNF $\alpha$ , IL-6, семейства IL-1, среди которых IL-1 $\beta$  и IL-18 [3]. Однако, для выработки функционально зрелых цитокинов IL1 $\beta$  и IL-18 необходим их предварительный процессинг, включающий сборку инфламмасомного комплекса и активацию каспаз, необходимых для

их расщепления до функциональных цитокинов. Важную роль в развитии псориазического воспаления отводят активации инфламмосы, основная функция которой состоит в распознавании стрессорных молекул и процессинге провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-18 [4]. Доказана синергичная роль IL-18 и IL-12 в ответе Th1 посредством индукции IFN $\gamma$  в псориазической бляшке [1]. IL-1 $\beta$  является провоспалительным цитокином, который участвует в активации и регуляции воспаления, способствуя пролиферации нейтрофилов, дифференцировке наивных Т-хелперов в Т-хелперы 17, являющиеся доказанным ключевым звеном в патогенезе псориаза [5].

**Целью** нашей работы является изучение роли TLR9 и TLR9-опосредованной активации инфламмосомного комплекса в пораженной и здоровой коже пациентов с тяжелым течением псориаза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 35 пациентов – 7 мужчин и 28 женщин (средний возраст 34 $\pm$ 11), которые проходили обследование в Московском научно-практическом центре дерматовенерологии и косметологии филиал Коломенский (заведующий филиала – Маляренко Е. Н.). Критериями включения в группу являлись наличие у пациентов тяжелого течения псориаза, индекс PASI > 10 (Psoriasis area and severity index), длительность течения кожного процесса, составляющая более двух лет. Критерии исключения: наличие тяжелой соматической патологии, острых и хронических заболеваний. Забор биоптатов из пораженного очага и из участков здоровой кожи проводили под местной анестезией с помощью дерматологического пробойника [3]. Выделение РНК осуществляли с помощью «Набора для выделения РНК из клинического материала» (Интерлабсервис, Россия). Для постановки реакции обратной транскрипции использовали «Набор для проведения обратной транскрипции (ОТ)» (Синтол, Россия) в соответствии с набором производителя. Далее проводили ПЦР в реальном времени в присутствии SYBR Green (ДТ-96). Праймеры и реактивы для ПЦР реакции были синтезированы фирмой Синтол (Россия). Экспрессию целевых генов нормализовали на ген домашнего хозяйства –  $\beta$ -актин, оценивали по методу  $\Delta\Delta C_t$  [3]. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения «Statistica 6.1».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для сборки инфламмосы необходима ее первичная активация. Известно, что TLR-опосредованный сигналинг способен влиять на инициацию и экспрессию инфламмосомного комплекса, поэтому на первом этапе исследования нами был изучен уровень экспрессии гена TLR9 в псориазическом очаге и в здоровой коже. Было выявлено, что в пораженной коже по сравнению со здоровой экспрессия гена TLR9 достоверно увеличена в 4,1 раза ( $p=0,0098$ ). Исходя из того, что активация TLR может приводить к индукции сборки инфламмосы разных типов, нами была оценена экспрессия генов инфламмосомного комплекса NLRP1, NLRP3. Обнаружено, что уровень экспрессии NLRP3 не отличался в образцах здоровой и пораженной кожи у пациентов с псориазом. Напротив, экспрессия гена NLRP1 в пораженных кератиноцитах превышала таковую в образцах здоровой кожи в 6 раз ( $p=0,0067$ ). В результате активации инфламмосы, как известно, происходит процессинг и образование функционально зрелых молекул IL-1 $\beta$  и IL-18. В связи с этим представлялось целесообразным оценить уровни экспрессии генов этих провоспалительных цитокинов. В результате исследования выявлена тенденция к увеличению уровня экспрессии гена IL-1 $\beta$  в пораженной коже, однако, она оказалась статистически недостоверной. В то же время уровень экспрессии гена IL-18 в псориазическом очаге был повышен в 10,1 раза ( $p=0,0078$ ). В работе [4] было показано, что NLRP1 обладает способностью рекрутировать каспазу-5, которая преимущественно процессирует IL-18, что может объяснить значительное увеличение его экспрессии. Исследование молекулярных механизмов развития воспаления при псориазическом поражении может дать представление о патогенезе заболевания, а также выявить новые мишени для эффективного применения таргетной терапии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Yun Liang, Mrinal K. Sarkar, Lam C Tsoi and Johann E. Gudjonsson. Psoriasis: A mixed autoimmune and autoinflammatory disease. *Curr Opin Immunol*. 2017 Dec; 49: 1–8.
2. Lande R., Gregorio J., Facchinetti V., Chatterjee B., Wang Y. H., Homey B., Cao W., Wang Y. H., Su B., Nestle F. O., Zal T., Mellman I., Schröder J. M., Liu Y. J., Gilliet M. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. // *Nature* 2007; 449: 7162: 564–569.

3. Ганковская Л. В., Свитич О. А., Хамаганова И. В., Гюльалиев Д. М. Изменение показателей врожденного иммунитета при очаговой склеродермии. Вестник Российского государственного медицинского университета – 2015. – № 4. – С. 20–23. [Gankovskaya L. V., Svitich O. A., Khamaganova I. V., Gyulaliev D. M. A change in innate immune factors expression in localized scleroderma // Bulletin of Russian State Medical University. – 2015. – № 4. – С. 20–23.]
4. Maria L. Salskov-Iversen, Claus Johansen, Knud Kragballe and Lars Iversen. Caspase-5 Expression Is Upregulated in Lesional Psoriatic Skin Journal of Investigative Dermatology; 2011; V-131.
5. Chung Y., Chang S. H., Martinez G. J., Yang X. O., Nurieva R., Kang H. S., Ma L., Watowich S. S., Jetten A. M., Tian Q., Dong C. Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling. Immunity; 2009; 30:576–587.

## THE ROLE OF TLR9 AND COMPONENTS OF THE INFLAMMASOMA COMPLEX IN IMMUNOPATHOGENESIS OF PSORIASIS

© 2019 E. D. Merkusheva<sup>1\*</sup>, E. M. Khasanova<sup>1</sup>, O. A. Switch<sup>1</sup>,  
N. V. Batkaeva<sup>2</sup>, M. M. Gitinova<sup>2</sup>, L. V. Gankovskaya<sup>1</sup>

\*E-mail: rina.karmin@outlook.com

<sup>1</sup>Pirogov Russian National N. Pirogov Research Medical University, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 29.03.2019

Psoriasis is an autoimmune disease in pathogenesis of which are involved autoinflammatory reaction too. An important role in the development of psoriatic inflammation is given to the activation of inflammasome. In this study, we investigate the expression of TLR9 genes, components of the inflammasome complex (NLRP1, NLRP3), and effector molecules IL-1 $\beta$  and IL-18 in healthy and affected skin biotates in 35 patients with severe psoriasis was studied using PCR-RT. In the psoriatic focus was found increasing the level expression of TLR9 genes 4.1 fold, NLRP1–6 fold. Analysis of interleukin gene expression revealed a 10-fold increase in IL-18 gene expression in the psoriatic focus, while IL-1 $\beta$  gene expression was comparable to its expression in healthy skin biotates.

*Key words:* psoriasis, TLR9, inflammasome, IL-1 $\beta$ , IL-18, gene expression

### Authors:

**Merkushova E. D.**, ✉ assistant of Department of Immunology, Russian National N. Pirogov Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russia. **E-mail:** rina.karmin@outlook.com;

**Khasanova E. M.**, student of Medicobiologic Faculty, RNRMU, Moscow, Russia;

**Svitich O. A.**, PhD, MD (Medicine), Corresponding Member Russian Academy of Sciences, Assistant Professor, RNRMU, Moscow, Russia;

**Batkaeva N. M.**, PhD, Assistant Professor, Department of dermatovenerology and cosmetology, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

**Gitinova M. M.**, assistant of Department of dermatovenerology and cosmetology, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

**Gankovskaya L. V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology, RNRMU, Moscow, Russia.

## ПРОДУКЦИЯ IL-10 ПЛАЦЕНТАРНЫМИ МАКРОФАГАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА IL-10

© 2019 г. П. Л. Милеева, Д. Н. Воронин\*, Е. Л. Бойко,  
И. Н. Фетисова

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени  
В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 02.04.2019

Полиморфизм IL-10 A-1082G, но не A-592C, представляет собой значимый фактор в регуляции иммунных реакций на уровне плаценты и может являться одним из предикторов формирования задержки развития плода.

**Ключевые слова:** интерлейкин-10, макрофаги, плацента, беременность, задержка развития плода

DOI: 10.31857/S102872210006913-9

**Адрес:** 153045 Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии, Воронин Дмитрий Николаевич.

Тел./факс: +7(4932) 226256, +7 962 158-76-21(моб).

**E-mail:** niimid.immune@mail.ru

**Авторы:**

**Милеева П. Л.**, врач акушер-гинеколог акушерского физиологического отделения ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Воронин Д. Н.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Бойко Е. Л.**, д.м.н., старший научный сотрудник отдела акушерства и гинекологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

**Фетисова И. Н.**, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии, медицинской генетики ФГБОУ ВО «ИвГМА» МЗ РФ», ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии и генетики, врач-генетик ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

На сегодняшний день известен ряд полиморфизмов промоторного региона гена IL-10, которые могут влиять на уровни транскрипции мРНК IL-10. Среди них наиболее изучены однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) IL-10 A-1082G (rs1800896) и A-592C (rs1800872) [1]. Отдельные аллельные варианты гена IL-10 ассоциируются с уровнем продукции соответствующего белка, что оказывает влияние на характер течения и исход различных заболеваний, включая и осложнения беременности [2]. Задержка

роста плода (ЗРП) представляет собой одну из центральных причин перинатальной заболеваемости и смертности, и до сих пор остаётся на одном из первых мест среди осложнений беременностей. По данным литературы доказано значение провоспалительного цитокина – IL-10 при беременности, однако роль аллельных вариантов IL-10 в регуляции иммунных реакций в системе мать-плацента-плод до сих пор остаётся до конца неизученной.

**Целью** нашего исследования было выявить взаимосвязи полиморфизмов IL-10 A-1082G и A-592C с продукцией IL-10 плацентарными макрофагами у беременных женщин с задержкой роста плода.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами было проведено обследование 35 беременных женщин, поступивших в клинику ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава России. Полиморфизм гена IL-10 A-1082G оценивали методом ПЦР в режиме реального времени. Уровень IL-10 в супернатантах 24-часовых культур децидуальных макрофагов оценивали методом ИФА. Все полученные данные представлены в виде медианы и 25–75% перцентилей (Me (Q<sub>25%</sub>–Q<sub>75%</sub>)). При расчете уровня статистической значимости различий в группах использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия в группах оценивались как статистически значимые при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Продукция IL-10 в 24-часовых культурах макрофагов децидуальной ткани плаценты у женщин с диагнозом ЗРП не имела статистически значимых различий по сравнению с аналогичным показателем женщин, у которых беременность протекала без осложнений (1,95 (0,87–13,12) пг/мл и 2,29 (0,00–18,27) пг/мл соответственно,  $p > 0,05$ ). Мы не выявили значимых отличий в продукции IL-10 в 24-часовых культурах децидуальных макрофагов у беременных женщин с неосложненной беременностью с разными комбинациями генотипов по аллели A-592C. В группе пациенток с ЗРП, низкий уровень продукции IL-10 децидуальными макрофагами наблюдался у женщин, которые в генотипе имели аллель -1082A гена IL-10, по сравнению с женщинами с гомозиготным генотипом по аллели -1082G (1,36 (0,00–3,85) пг/мл и 6,13 (3,597–24,42) пг/мл соответственно,  $p = 0,019$ ). Основными функциями IL-10 являются формирование и активация клеток с регуляторной активностью, супрессия активности клеток с цитолитической активностью и противовоспалительный эффект [3]. Недостаточная продукция цитокинов с протективным эффектом на беременность, в виду наличия генотипа с низко функциональным аллелем, может приводить к нарушению иммунного баланса

на локальном уровне, что, в свою очередь, может способствовать угнетению роста плода, независимо от индуцирующей причины.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты нашего исследования позволяют предполагать, что наличие аллели -1082A гена IL-10 в геноме беременных женщин может быть одной из причин снижения выработки IL-10 децидуальными макрофагами и в последующем приводить к нарушению иммунорегуляции в системе мать-плацента-плод. Это может лежать в основе патогенеза нарушений течения беременности, таких как задержка роста плода.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Song L., Zhong M. Association between Interleukin-10 gene polymorphisms and risk of early-onset preeclampsia. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015, 8 (9), 11659–11664.
2. Liu Q. Y., Gao F. Y., Liu X. R., Li J., Ji M., Dong J., Wang X. T. Investigations into the association between polymorphisms in the interleukin-10 gene and risk of early-onset preeclampsia. *Genet Mol Res.* 2015, 14 (4), 19323–19328.
3. Sowmya S., K. Sri. Manjari, Ramaiah A., Sunitha T., Nallari P., Jyothy A., Venkateshwari A. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms in women with early-onset preeclampsia. *Clin Exp Immunol.* 2014, 178 (2), 334–341.

## IL-10 PRODUCTION BY PLACENTAL MACROPHAGES IN DEPENDENCE TO IL-10 POLYMORPHISM

© 2019 P. L. Mileyeva, D. N. Voronin\*, Y. L. Boyko, I. N. Fetisova

\*E-mail: niimid.immune@mail.ru

Federal State Budget Establishment «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 02.04.2019

IL-10 polymorphism A-1082G but not A-592C is the significant factor in the regulation of immune reactions at the placental level and it can be used as one of the predictors of the intrauterine growth retardation development.

*Key words:* IL-10, macrophages, placenta, pregnancy, intrauterine fetal growth retardation

### Authors:

**Mileyeva P. L.**, obstetrician-gynecologist of the obstetric physiological department of the inpatient department of the clinic of the FSBE «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Voronin D. N.**, ☒ PhD, senior researcher of the laboratory of clinical immunology, FSBE «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia. **E-mail:** niimid.immune@mail.ru;

**Boyko Y. L.**, MD, senior researcher, Department of Obstetrics and Gynecology, FSBE «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Fetisova I. N.**, MD, Leading Researcher of the Laboratory of Clinical Biochemistry and Genetics, genetic doctor, FSBE «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named V. N. Gorodkova» of the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia

## ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У КРЫСЯТ, РОДИВШИХСЯ ОТ ПАССИВНО КУРИВШИХ САМОК. СООБЩЕНИЕ 2

© 2019 г. И. В. Михайлова\*, А. А. Стадников, Л. А. Пушкарева, А. А. Исенгулова, Н. А. Кузьмичева, О. В. Ширшов, В. В. Тихонов, И. В. Мирошниченко

\*E-mail: [probllab.orenburg@mail.ru](mailto:probllab.orenburg@mail.ru)

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»

Минздрава РФ, Оренбург, Россия

Поступила: 05.03.2019. Принята: 21.03.2019

Установлено, что введение иммуномодулятора КК1 беременным крысам, подвергнутым пассивному курению, приводило к положительной динамике соматического развития и морфологических изменений в лимфоидных органах.

**Ключевые слова:** пассивное курение, крысы, физиология, морфология, иммуномодуляторы

DOI: 10.31857/S102872210006914-0

**Адрес:** 460000 Оренбург, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, кафедра фармацевтической химии. Михайлова Ирина Валерьевна. Тел.: 8 (3532) 500-612.

**E-mail:** [probllab.orenburg@mail.ru](mailto:probllab.orenburg@mail.ru)

**Авторы:**

**Михайлова И. В.**, д.б.н., доцент, заведующая кафедрой фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Стадников А. А.**, д.б.н., профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Пушкарева Л. А.**, ст. лаборант кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Исенгулова А. А.**, к.м.н., доцент, доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Кузьмичева Н. А.**, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Ширшов О. В.**, к.м.н., доцент, доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Тихонов В. В.**, старший преподаватель кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Мирошниченко И. В.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

В ранее проведенных исследованиях было установлено негативное влияние на физиологические параметры крысят, самки которых во время беременности подвергались воздействию пассивного курения [1].

**Целью** настоящей работы была оценка физиологических и морфологических показателей крысят от беременных пассивно куривших крыс на фоне введения иммуномодулятора КК1.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика экспериментальных групп животных с методикой пассивного курения представлена в сообщении 1 в данном журнале. С 1 по 21-е постнатальные сутки определялись индекс соматического развития (ИСР) и индекс сенсомоторного развития (ИСМР) потомства с помощью набора тестов, разработанных в Институте нормальной физиологии им. П. К. Анохина. Морфологический анализ включал изменение гистотопографических функциональных зон органов иммуногенеза и общий анализ клеточного состава на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином Майера и эозином. Связи исследованных показателей определяли с вычислением коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнение изученных физиологических параметров ИСР и ИСМР у потомства от некуривших (1 гр.) и пассивно куривших (3 гр.) крыс выявило снижение данных параметров у опытных крысят. При введении иммуномодулятора КК1 курившим крысам (4 гр.) установлено, что часть показателей сенсомоторного развития крысят этой группы достоверно превышали параметры поведенческого фенотипа животных 3 гр., родившихся от куривших крыс, но не получавших иммуномодулятор. Полученные результаты свидетельствовали о положительном воздействии иммуномодулятора КК1 на развитие потомства самок крыс, перенесших пассивное табакокурение.

Оценивая морфологические параметры лимфоидных органов крысят, родившихся от пассивно куривших самок (3 гр.), необходимо отметить снижение относительной площади субкапсулярной и внутренней зоны коркового вещества тимуса. В корковом веществе долек тимуса определялась картина мозаичности. При этом светлые участки чередовались с темными, имеющими компактное расположение лимфоцитов. Среди них наблюдалось увеличение р53 позитивных клеток, что свидетельствовало о формировании проапоптотической доминанты у тимоцитов крысят. В селезенке опытных крыс (3 гр.) отсутствовала четкая дифференцировка на белую и красную пульпу. Лимфоидные фолликула слабо контурировались, в них при традиционной световой микроскопии трудно различались Т и В зоны. Полученные результаты свидетельствовали о том, что у опытных крысят 3 гр. отмечалась задержка темпов дифференцировки паренхиматозных элементов лимфоидных органов. Введение препарата КК1 беременным опытным самкам приводило к перераспределению относительной площади структурно-функциональных зон долек тимуса в сторону коркового вещества у крысят 4 гр. В корковом веществе уменьшалось количество деструктивно измененных и р53 иммунопозитивных лимфоцитов, возрастало число лимфобластов, пролимфоцитов, макрофагов. Подобные изменения цитоархитектоники долек тимуса можно рассматривать как признак усиления миграции клеток-предшественников

из красного костного мозга, а также активации процессов пролиферации лимфоцитов в тимусе. В селезенке наблюдалась четкая визуализация лимфоидных фолликулов, а также уменьшение в 2,5 раза р53 позитивных лимфоцитов и возрастание Ki-67 (маркера клеточной репродукции) позитивных спленоцитов в их мантийной зоне. Все это свидетельствует об адекватном характере цитодифференцировки лимфоидных органов у крысят 4 гр.

Оценивая корреляционные связи между индексами (ИСР, ИСМР) и иммунологическими параметрами отмечено исчезновение ряда связей, характерных для параметров контрольных животных и формирования новых связей у опытных крысят 3 и 4 гр. Наибольшее число положительных и отрицательных корреляционных связей выявлено у опытных крысят 3 гр. между ИСР и массой тела, тимуса и уровнем тимоцитов и спленоцитов. Максимальное количество положительных связей отмечено у крысят 1 и 2 гр., при этом коэффициенты корреляции более высокие у крысят 2 гр. Напротив, у крысят 3 и 4 гр. большинство корреляционных связей были отрицательными. В основе выявленных отрицательных связей, возможно, лежит перераспределение клеток в лимфоидных органах, связанное с пренатальной реакцией на пассивное курение.

Совокупность полученных данных позволяет расширить представления о механизмах изменений нервной и иммунной систем у потомства крысят от пассивно куривших матерей и свидетельствует о положительном влиянии иммуномодулятора КК1 на нарушения физиологических и морфологических показателей у данных животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Мирошниченко И. В., Михайлова И. В., Исенгулова А. А., Пушкарева Л. А., Тихонов В. В., Ширшов О. В.* Влияние пассивного табакокурения на потомство крыс Вистар: физиологические и иммунологические аспекты *Российский иммунологический журнал*, 2018, 12 (21), 3, 371–374. [*Miroshnichenko I. V., Mikhailova I. V., Isengulova A. A., Pushkareva L. A., Tikhonov V. V., Shirshov O. V.* The influence of passive smoking on the offspring of Wistar rats: physiological and immunological aspects *Russian Immunological Journal*, 2018, 12 (21), 3, 371–374.]

**ESTIMATION OF PHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL  
PARAMETERS IN RATS BORN FROM PASSIVALLY  
SMOKED FEMALES. MESSAGE2**

© 2019 **I. V. Mikhailova\***, **A. A. Stadnikov**, **L. A. Pushkareva**, **A. A. Isengulova**,  
**N. A. Kuzmicheva**, **O. V. Shirshov**, **V. V. Tikhonov**, **I. V. Miroshnichenko**

*\*E-mail: [problab.orenburg@mail.ru](mailto:problab.orenburg@mail.ru)*

*Federal state budgetary educational institution of higher education «Orenburg state medical University»  
of the Ministry of health of the Russian Federation, Orenburg, Russia*

**Received:** 05.03.2019. **Accepted:** 21.03.2019

It was established that the administration of the immunomodulator KK1 to pregnant rats subjected to passive smoking resulted in a positive dynamic of somatic development and morphological changes in the lymphoid organs.

*Key words:* passive smoking, rats, physiology, morphology, immunomodulators

**Authors:**

**Mikhailova I. V.**, ✉ Doctor of Biological Sciences, associate Professor, head of the Department of pharmaceutical chemistry, of the FGBOU OrgMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia. **E-mail:** [problab.orenburg@mail.ru](mailto:problab.orenburg@mail.ru);

**Stadnikov A. A.**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

**Pushkareva L. A.**, Senior laboratory assistant of the Department of Normal Physiology of the FGBOU OrgMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Isengulova A. A.**, Candidate of Medical Science, associate professor, associate professor of the Normal Physiology of the FGBOU OrgMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Kuzmicheva N. A.**, Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry, of the FGBOU OrGMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Shirshov O. V.**, Ph.D., Associate Professor, Associate Professor of the Normal Physiology of the FGBOU OrgMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Tikhonov V. V.**, Senior lecturer of the Department of Normal Physiology, of the FGBOU OrgMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Miroshnichenko I. V.**, MD, professor, head of the Department of Normal Physiology, of the FGBOU OrgMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia.

## МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЕ НАРУШЕНИЯ У ДЕТЕЙ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ И СОЧЕТАННЫМИ ФОРМАМИ АЛЛЕРГИИ

© 2019 г. А. В. Молокова

*E-mail: anjelika@ngs.ru*

*ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»*

*Минздрава РФ, Новосибирск, Россия*

Поступила: 25.02.2019. Принята: 07.03.2019

У всех детей с атопическим дерматитом выявлены полимикроэлементные нарушения – дефицит эссенциальных (в 100% случаев), чаще всего селена, кальция, марганца, железа, меди, цинка; и накопление токсических микроэлементов в 83,6% – преимущественно молибдена, висмута, рублидия, свинца, брома, стронция. У пациентов с сочетанием атопического дерматита и бронхиальной астмы преобладали полимикроэлементные нарушения – недостаточность селена, кальция, меди, никеля, молибдена, железа, цинка и накопление хрома, свинца, никеля, рублидия, брома. В группах больных с изолированным течением атопического дерматита, с сочетанием атопического дерматита и бронхиальной астмы, можно выделить однотипные изменения состава микроэлементов: в обеих группах отмечен дефицит селена, цинка, а также накопление свинца.

**Ключевые слова:** микроэлементозы, цинк, селен, атопический дерматит, бронхиальная астма

DOI: 10.31857/S102872210006915-1

**Адрес:** 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра педиатрии лечебного факультета. Молокова Анжелика Валерьевна  
Тел./факс: +7(383)344-49-66, 8 953 777 73 93 (моб.).

**E-mail:** anjelika@ngs.ru

**Авторы:**

**Молокова А. В.**, д.м.н., доцент кафедры педиатрии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прогрессивный рост распространенности атопического дерматита и сочетанных форм аллергии требует углубленного изучения факторов формирования и течения патологии, основанного на комплексном подходе к проблеме. В экспериментальных и клинических условиях установлена важная роль микроэлементов в регуляции бронхиальной проходимости, сократимости дыхательных мышц, процессов сенсибилизации, интенсивности патохимической и патофизиологической фаз аллергических реакций [1–3].

**Цель исследования** – выявить микроэлементные нарушения у детей с атопическим дерматитом и сочетанными формами аллергии.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Энергодисперсионный рентген-флуоресцентный элементный анализ использовался для определения микроэлементов в ткани волос. Анализ выполнялся на станции центра SR VERP-3 (ФГБУН Институт ядерной физики им. Г. И. Будкера СО РАН). Определяли содержание эссенциальных – Fe, I, Cu, Zn, Co, Cr, Mo, Se, Mn и токсических – As, Br, Ni, Rb, Sr, Zr, Nb, Au, Pb, Hg, Bi микроэлементов, а также макроэлемента Ca. Группы наблюдения – 55 детей с атопическим дерматитом, 63 – с сочетанными формами аллергии. Группу контроля составили 85 детей, не имеющих аллергических и хронических заболеваний в анамнезе. Для обработки результатов измерений использовался метод «внешнего стандарта». Внешним стандартом был выбран сертифицированный образец человеческого волоса NIES-5 (National Institute for Environment Studies, Japan 1996 г.).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех случаях при атопическом дерматите установлен дефицит эссенциальных макро- и микроэлементов; в подавляющем большинстве – четырех-семи МЭ – в 40 (72,7%), реже трех – в 11 (20,0%) и двух – в 4 (7,3%) случаях. По частоте встречаемости микроэлементозов на первом месте зарегистрирован дефицит селена – практически у всех больных – 53 (96,4%), на втором – кальция, йода и марганца (44 (80,0%), 43 (78,2%) и 41 (74,5%), соответственно), на третьем – железа, хрома, меди и цинка (23 (41,8%), 22 (40,0%), 21 (38,2%) и 20 (36,3%), соответственно). У детей с тяжелым течением заболевания среднее значение концентрации кальция в волосах составило  $298,65 \pm 80,47$  мкг/г, селена –  $0,25 \pm 0,06$  мкг/г, цинка –  $98,62 \pm 42,44$  мкг/г, тогда как среди детей с легким течением –  $554,91 \pm 190,63$  мкг/г,  $0,37 \pm 1,07$  мкг/г,  $209,32 \pm 50,86$  мкг/г; среди группы контроля –  $651,33 \pm 277,85$ ;  $0,68 \pm 0,12$ ;  $188,67 \pm 26,48$  мкг/г, соответственно ( $p < 0,05$ ). У детей с тяжелым течением дерматита чаще отмечался дефицит 4-х и более микроэлементов – 42,9% против 8,3% у детей с легким течением заболевания ( $p < 0,01$ ). Накопление токсических и потенциально токсических микроэлементов отмечалось у 46 (83,6%) детей. Преобладало накопление молибдена и висмута (32 (58,2%) и 23 (41,8%)), приблизительно с равной частотой наблюдалось повышение концентрации рубидия, свинца, брома, стронция, галлия (19 (34,5%) – 13 (23,6%)), реже – никеля, ниобия, титана, циркония, мышьяка (11 (20,0%) – 4 (7,3%)). Накопление одного токсического элемента встречалось у 12 (26,1%), двух – у 14 (30,4%), трех – у 13 (28,3%), четырех и более – у 7 (15,2%) детей. В случае тяжелого течения заболевания в ткани волос отмечалась более низкая концентрация кальция, селена, цинка относительно легких форм, с накоплением токсических микроэлементов (мышьяка, хрома, рубидия, стронция, свинца, висмута) и превышением их средних концентраций. Среди всех обследованных детей с сочетанием атопического дерматита и бронхиальной астмы, так же, как в группе детей с изолированным кожным процессом, отмечались микроэлементозы. Наблюдался преимущественный дефицит более четырех микроэлементов (четырёх-семи) – в 50 (79,4%), реже – дефицит трех – в 13 (20,6%) случаях, недостаточности одного или двух элемен-

тов не было выявлено ни в одном случае. Среди всех микроэлементных нарушений преобладал дефицит селена, выявленный в 57 (90,5%) случаях и дефицит кальция – в 54 (85,7%). Достоверно чаще, в сравнении с группой детей с атопическим дерматитом, выявлен гипомикроэлементоз меди (38 (60,3%) и 24 (38,1%), никеля (32 (50,8%) и 12 (19,0%)), соответственно ( $p < 0,05$ ). Дефицит железа и цинка также был значим и среди детей с сочетанными формами и отмечался в 32 (50,8%) и 25 (39,7%) случаев, соответственно. Достоверные отличия средних концентраций микроэлементов от контроля зарегистрированы для кальция и селена –  $457,32 \pm 138,48$  и  $0,42 \pm 0,14$  и  $651,33 \pm 277,85$  мкг/г и  $0,68 \pm 0,12$  мкг/г, соответственно ( $p < 0,05$ ). Накопление токсических и потенциально токсических микроэлементов отмечалось в 51 (80,9%) случае. Превышение биологически допустимой концентрации одного токсического микроэлемента зарегистрировано в 8 (12,6%), двух – в 23 (36,5%), трех – в 23 (36,5%), четырех и более – в 7 (11,1%) случаях. В структуре гипермикроэлементозов преобладали избыток хрома у 26 (41,3%), свинца – 14 (22,2%), никеля – 16 (25,3%), рубидия – 15 (23,8%), брома – у 13 (20,6%) пациентов. Несмотря на широкий диапазон микроэлементных нарушений, в наблюдаемых группах больных (с изолированным течением АД, с сочетанием АД и БА), можно выделить однотипные изменения состава МЭ: в обеих группах отмечен дефицит селена, цинка, а также накопление токсического МЭ – свинца.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Скальный А. В., Демидов В. А. Элементный состав волос как отражение сезонных колебаний обеспеченности организма детей макро- и микроэлементами. Микроэлементы в медицине, 2000, 2(1), С. 36–41. [Skalny A. V., Demidov V. A. Elemental composition of hair as a reflection of seasonal fluctuations in the body of children macro- and microelements. Trace Elements in medicine, 2000, 2(1), 36–41].
2. Авцын А. П., Жаворонков А. А., Ружи М. А., Строчкова Л. С. Микроэлементозы человека. М., Медицина, 1991, 496 с. [Avtsyn A. P., Zhavoronkov A. A., Riga M. A., Strochkova L. S. Human trace Elements. M., Medicine, 1991, 496 p].
3. Шалмина Г. Г., Новоселов Я. Б. Безопасность жизнедеятельности. Эколого-геохимические и эколого-биохимические основы. Новосибирск, 2002, 431 с. [Shalmina G. G., Novoselov Y. B. Safety. Ecological-geochemical and ecological-biochemical bases. Novosibirsk, 2002, 431 P].

## TRACE ELEMENT DISORDERS IN CHILDREN WITH ATOPIC DERMATITIS AND CONCOMITANT FORMS OF ALLERGY

© 2019 A. V. Molokova

*E-mail: anjelika@ngs.ru*

*Novosibirsk state medical University, Novosibirsk, Russia*

**Received:** 25.02.2019. **Accepted:** 07.03.2019

All children with atopic dermatitis were found to have polymicroelement disorders – deficiency of essential (in 100% of cases), most often selenium, calcium, manganese, iron, copper, zinc; and accumulation of toxic trace elements in 83.6% – mainly molybdenum, bismuth, rubidium, lead, bromine, strontium. In patients with a combination of atopic dermatitis and bronchial asthma was dominated by politicalamity disorders – lack of selenium, calcium, copper, Nickel, molybdenum, iron, zinc and accumulation of chromium, lead, Nickel, rubidium, and bromine. In the groups of patients with isolated course of atopic dermatitis, with a combination of atopic dermatitis and bronchial asthma, it is possible to distinguish the same type of changes in the composition of trace elements: in both groups there was a deficiency of selenium, zinc, and the accumulation of lead.

*Key words:* trace elements, zinc, selenium, atopic dermatitis, bronchial asthma

### **Authors:**

**Molokova A. V.**, PhD, Federal state institution “Novosibirsk state medical University”, Department of Pediatrics, Novosibirsk, Russia.

## ПОЛИМОРФИЗМ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ (ГЛУТАТИОН S-ТРАНСФЕРАЗ М1, Т1, Р1) У БОЛЬНЫХ С СОЧЕТАНИЕМ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА И БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

© 2019 г. А. В. Молокова

*E-mail: anjhelika@ngs.ru*

*ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Новосибирск, Россия*

Поступила: 25.02.2019. Принята: 11.03.2019

Изучение полиморфизма глутатион S-трансфераз М1, Т1, Р1 у детей с аллергическими заболеваниями показало преобладание мутантных генотипов ферментов при тяжелом течении atopического дерматита и бронхиальной астмы. Генотипы GSTM1«-», GSTT1«-» являются значимыми для раннего формирования atopического дерматита и бронхиальной астмы. Предрасположенность к сочетанной atopии регистрировалась для гаплотипов М1«+»/Т1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Ile<sub>105</sub> (OR=4,92; 95% CI 0,67–36,53) (p<0,001), М1«+»/Т1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub>, (OR=3,24; 95% CI 1,01–10,92) (p<0,05).

**Ключевые слова:** полиморфизм глутатион S-трансферазы М1, Т1, Р1, atopический дерматит, бронхиальная астма

DOI: 10.31857/S102872210006916-2

**Адрес:** 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра педиатрии лечебного факультета, Молокова Анжелика Валерьевна.

Тел./факс: +7 (383) 344-49-66, 8953 777 73 93 (моб.).

**E-mail:** anjhelika@ngs.ru

**Авторы:**

**Молокова А. В.**, д. м. н., доцент кафедры педиатрии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Известно, что atopический дерматит и бронхиальная астма относятся к экологически обусловленным заболеваниям с многофакторной природой. Почти все внешние агенты и загрязнители воздуха действуют, в первую очередь, на респираторный тракт и кожу, усиливая и утяжеляя симптомы заболеваний. К универсальной биологической системе естественной детоксикации чужеродных соединений относятся ферменты системы биотрансформации ксенобиотиков. Наиболее значимыми ферментами биотрансформации 2-й фазы (реакции конъюгации продуктов окисления) являются глутатион S-трансферазы М1, Т1, Р1 [1].

**Цель исследования** – изучение полиморфизма ферментов глутатион S-трансферазы у детей с atopическими заболеваниями.

### МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 75 детей с atopическим дерматитом и 86 – сочетанием atopического дерматита и бронхиальной астмы. Контрольная группа включала 93 детей с отсутствием проявлений atopических заболеваний в анамнезе. Контрольная группа и группы наблюдения формировались по одним и тем же критериям включения/исключения, были сбалансированы по возрастному-половому составу, включали лиц европеоидной расы.

Нуль-полиморфизм генов GSTM1 и GSTT1 оценивали с помощью полимеразной цепной реакции методами, предложенными S. Zhong и соавт. (1993) [2], и S. Pemble и соавт. (1994) [3], соответственно. Ile<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub>-полиморфизм GSTP1 определяли с помощью полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом по методу L. W. Haggies и соавт. (1997). Исследования выполнены в Структурном подразделении ФИЦ ФТМ – Научно-исследовательском

институте молекулярной биологии и биофизики (НИИМББ), в лаборатории фармакокинетики и метаболизма лекарств (и.о. директора НИИМББ – д.м.н., профессор В.А. Вавилин). Сравнение средних величин проводили однофакторным дисперсионным анализом с помощью Т-критерия Стьюдента и F-критерия Фишера для оценки равенства дисперсий. Для расчетов полиморфизма глутатион S-трансфераз использовали отношение шансов (odds ratio-OR) – показатель, показывающий, во сколько раз вероятность оказаться в группе «случай» (больные) отличается от вероятности оказаться в группе «контроль» (здоровые) для носителя изучаемого генотипа. Величины OR, их 95% доверительный интервал (CI) и значимость различий по критерию  $\chi^2$  с коррекцией Йейтса рассчитывали с использованием программы Epi Info 6.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам генотипирования выявлено, что наблюдаемые частоты генотипов и их аллелей находились в пределах вариабельности этих признаков в популяциях европеоидов [3].

В группах больных атопическим дерматитом и сочетанными формами аллергии наблюдалась более высокая частота встречаемости нуль-генотипов GSTT1 (в 2,6 и 2,9 раз, соответственно) и гомозиготной делеции GSTP1 (в 1,6 раза), в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ). Частота нулевого генотипа GSTM1 в анализируемых группах не имела достоверных отличий от контроля. Величина OR, равная 3,3–3,8, свидетельствовала об ассоциации мутантного генотипа GSTT1 с предрасположенностью к атопическому дерматиту и сочетанным формам аллергии, соответственно ( $p < 0,01$ ). Высокая статистически достоверная ассоциация с предрасположенностью к атопическому дерматиту наблюдалась для гаплотипов M1«-»/T1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Ile<sub>105</sub>, M1«-»/T1«+»/P1Val<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub>, M1«+»/T1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Ile<sub>105</sub>, M1«-»/T1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub>, M1«-»/T1«-»/P1Val<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub> ( $p < 0,01$ ). Выявлено, что гаплотип M1«+»/T1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub> проявлялся фактором риска раннего формирования АД, в возрасте до 3 мес. (OR=2,82; (95% CI 0,62–9,24) ( $p < 0,05$ ), а M1«-»/T1«+»/P1Ile<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub> – тяжелого течения АД (OR=3,60; 95% CI 0,95–6,28) ( $p < 0,05$ ). Фактором устойчивости к непрерывно-рецидивирующему течению дерматита, частым обострениями заболевания служило сочетание нормальных генотипов GSTM1«+», GSTT1«+» и мутантной гетерозиготы GSTP1

(OR=0,03; 95% CI 0,002–3,1) ( $p < 0,01$ ). Предрасположенность к сочетанной атопии регистрировалась для гаплотипов M1«+»/T1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Ile<sub>105</sub> (OR=4,92; 95% CI 0,67–36,53) ( $p < 0,001$ ), M1«+»/T1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub>, (OR=3,24; 95% CI 1,01–10,92) ( $p < 0,05$ ). Анализ позволил выявить факторы риска тяжелого течения АД – M1«+»/T1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub> (OR=3,69; 95% CI 1,47–9,15) ( $p < 0,01$ ) и БА – M1«+»/T1«+»/P1Ile<sub>105</sub>/Ile<sub>105</sub> (OR=4,83; 95% CI 0,87–6,6) ( $p < 0,01$ ), M1«+»/T1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Ile<sub>105</sub> (OR=3,21; 95% CI 1,15–38,32) ( $p < 0,05$ ). В возникновении одновременного обострения кожного и бронхолегочного процессов принадлежала доминирующая роль сочетания мутантных генотипов GSTM1, GSTT1 и гетерозиготы GSTP1 (OR=3,88; 95% CI 0,58–21,62) ( $p < 0,05$ ). Примечательно, что не было выявлено комбинаций генотипов, определяющих риск формирования атопического синдрома в раннем возрасте. Очевидно, отсутствие факторов риска ранних начальных симптомов сочетанной патологии может свидетельствовать преимущественно не о генетическом, а о внешнесредовом воздействии, играющем триггерную роль в стартовой атопии.

Таким образом, у детей с мутантными генотипами глутатион S-трансфераз (GSTM1«-», GSTT1«-», GSTP1Val<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub>), гаплотипами (M1«+»/T1«-»/P1Ile<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub>, M1«-»/T1«+»/P1Ile<sub>105</sub>/Val<sub>105</sub>) атопический дерматит характеризовался ранним началом (в первые 3 мес. жизни), тяжелым течением с диффузным поражением кожных покровов, гипериммуноглобулинемией E и поливалентной сенсибилизацией. Течение сочетанных форм аллергии при мутации ферментов биотрансформации отличалось ранним развитием симптомов поражения кожи (в первые 3 мес. жизни) и респираторного тракта (на первом году жизни), преимущественно с тяжелым течением как АД, так и БА, одновременными обострениями заболеваний

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Warholm M., Rane A., Alexandrie A. K. Genotypic and phenotypic determination of polymorphic glutathione transferase T1 in a Swedish population. *Pharmacogenetics*. 1995; 5, 252–254.
2. Zhong S., Wyllie A. H., Barnes D. Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer. *Carcinogenesis*. 1993; 14, 1821–1824.
3. Pemble S., Schroeder K. R., Spencer S. R. Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem. J.* 1994; 300, Pt. 1, 271–276.

**POLYMORPHISM OF ENZYMES OF BIOTRANSFORMATION  
OF XENOBIOTICS (GLUTATHIONE S-TRANSFERASES M1, T1, P1)  
IN PATIENTS WITH A COMBINATION OF ATOPIC DERMATITIS  
AND BRONCHIAL ASTHMA**

© 2019 A. V. Molokova

*E-mail: anjhelika@ngs.ru*

*Novosibirsk state medical University, Novosibirsk, Russia*

**Received:** 25.02.2019. **Accepted:** 11.03.2019

The study of polymorphism of glutathione S-transferases M1, T1, P1 in children with allergic diseases showed a predominance of mutant enzyme genotypes in severe atopic dermatitis and asthma. Genotypes GSTM1«-», GSTT1«-» are significant for the early formation of atopic dermatitis and bronchial asthma. Predisposition to combined atopy was registered for haplotypes M1«+»/T1«-»/P1ile<sub>105</sub>/Ile<sub>105</sub> (OR=4.92; 95% CI 0.67–36.53) (p<0,05).

*Key words:* polymorphism of glutathiones transferase M1, T1, P1, atopic dermatitis, bronchial asthma

**Authors:**

**Molokova A. V.**, PhD, Federal state institution “Novosibirsk state medical University”, Department of Pediatrics, Novosibirsk, Russia.

## ХАРАКТЕРИСТИКА МИЕЛОИДНЫХ СУПРЕССОРНЫХ КЛЕТОК И МОНОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ВАРИАНТАХ АНКИЛОЗИРУЮЩЕГО СПОНДИЛИТА

© 2019 г. А. Ю. Моренкова\*, М. А. Тихонова, А. Э. Сизиков, О. А. Чумасова, А. Э. Сулутьян, Е. Р. Черных

\*E-mail: morenkovasp@yandex.ru

ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

В работе исследовано относительное количество различных субпопуляций миелоидных супрессорных клеток (МС) и моноцитов у больных анкилозирующим спондилитом (АС). Выявлено снижение доли гранулоцитарных МС, более выраженное у пациентов, не имеющих поражения периферического скелета. Напротив, относительное количество моноцитарных МС у больных было достоверно повышенным. Доля альтернативных моноцитов возрастала у больных АС без внеаксиальных проявлений. Количество альтернативных моноцитов положительно коррелировало с показателями активности АС.

**Ключевые слова:** миелоидные супрессорные клетки (МС), моноциты, анкилозирующий спондилит (АС)

DOI: 10.31857/S102872210006917-3

Адрес: 630091 Новосибирск, ул. Ядринцевская 14 ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клеточной иммунотерапии, Моренкова Анастасия Юрьевна. Тел./факс: +7(383) 228 21 01.

E-mail: morenkovasp@yandex.ru

Авторы:

**Моренкова А. Ю.**, аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Тихонова М. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

**Сизиков А. Э.**, к.м.н., заведующий отделением ревматологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Чумасова О. А.**, к.м.н., врач-ревматолог отделения ревматологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Сулутьян А. Э.**, к.м.н., врач-ревматолог отделения ревматологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Черных Е. Р.**, д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

## ВВЕДЕНИЕ

Анкилозирующий спондилит (АС) – хроническое воспалительное заболевание, имеющее различные клинические фенотипы, в патогенезе которого важная роль отводится клеткам врожденного иммунитета [1]. Миелоидные супрессорные клетки (МС) и моноциты представляют фенотипически и функционально гетерогенные популяции клеток [2, 3], обладающие иммуномодулирующей активностью, однако их роль при аутоиммунной патологии в настоящее время остается неясной.

**Целью работы** явилось исследование количественного содержания различных субпопуляций миелоидных супрессорных клеток и моноцитов при АС.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование был включен 21 пациент с АС, которые получили терапию нестероидными противовоспалительными препаратами в стабильных дозах в течение, как минимум, 2-х недель до начала исследования, синтетическими болезнью-модифицирующими препа-

ратами и генно-инженерными биологическими препаратами в стабильных дозах в течение, как минимум, 12 недель до начала исследования. Мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови выделяли стандартно методом градиентного центрифугирования. Оценка ранних (Lin-HLA-DR-CD33<sup>+</sup>CD66<sup>-</sup>), гранулоцитарных (Lin-HLA-DR-CD33<sup>+</sup>CD66<sup>+</sup>) и моноцитарных (HLA-DR-CD14<sup>+</sup>) МС, а также классических (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>), промежуточных (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) и альтернативных (CD14<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>) моноцитов в популяции МНК проводилась методом проточной цитометрии. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного диапазона (IQR). Корреляционный анализ был проведен с использованием коэффициента корреляции Пирсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнении пациентов со здоровыми донорами содержание ранних МС статистически значимо не отличалось — 55,6% (45,9–67,1)% и 52,4% (48,8–60,2)%, соответственно, ( $pU=0,8$ ). По содержанию гранулоцитарных МС группа пациентов оказалась неоднородной: в подгруппе пациентов, не имеющих внеаксиальных проявлений (подгруппа № 1), относительное количество гранулоцитарных МС было сниженным — 2,4% (1,6–4,3)% против 9,4% (6,0–14,5)%, ( $pU=0,003$ ). Пациенты, имеющие поражение периферического скелета наряду с аксиальным (подгруппа № 2), также демонстрировали снижение количества данной популяции клеток, но различия не достигали значимой разницы — 5,8% (4,3–11,2)% против 9,4% (6,0–14,5)%, ( $pU=0,3$ ). Относительное количество моноцитарных МС было достоверно повышенным как у пациентов подгруппы № 1 — 4,5% (3,1–5,9)% против 2,0% (1,3–5,2)%, ( $pU=0,045$ ); так и пациентов подгруппы № 2 — 4,0% (3,0–7,0)% против 2,0% (1,3–5,2)%, ( $pU=0,047$ ). Проведенный корреляционный анализ не выявил тесной корреляционной связи между количеством субпопуляций МС и индексами активности АС. При анализе субпопуляций моноцитов содержание классических и промежуточных моноцитов у больных значимо не изменялось. В то же время доля альтернативных моноцитов в подгруппе пациентов № 1 была снижена — 0,8% (0,5–2,0)% против

3,0% (1,2–7,1)%, ( $pU=0,03$ ). При этом количество альтернативных моноцитов положительно коррелировало с такими показателями активности АС как СРБ ( $R=0,6$ ;  $p=0,01$ ), СОЭ ( $R=0,6$ ;  $p=0,008$ ), ASDAS-СРБ ( $R=0,5$ ;  $p=0,03$ ).

Данные, характеризующие количественное содержание и роль МС и моноцитов в патогенезе АС немногочисленны и противоречивы. Полученные нами результаты выявили достоверное возрастание доли моноцитарных МС, что согласуется с результатами Liu YF и др. [4] и снижение доли альтернативных моноцитов у больных АС без внеаксиальных проявлений, что согласуется с данными Guła Z и др. [5]. В то же время нами выявлено снижение гранулоцитарных МС, более выраженное у пациентов, не имеющих поражения периферического скелета, что, возможно, объясняется различиями оцениваемых фенотипов гранулоцитарных МС и разными стратегиями гейтирования. При этом нами впервые продемонстрирована положительная корреляция активности АС с относительным содержанием альтернативных моноцитов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Vanaki N., Aslani S., Jamshidi A., Mahmoudi M. Role of innate immune system in the pathogenesis of ankylosing spondylitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018, 105, 130–143.
2. Boyette L. B., Macedo C., Hadi K., Elinoff B. D., Walters J. T., Ramaswami B., Chalasani G., Taboas J. M., Lakkis F. G., Metes D. M. Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets. *PLoS ONE*. 2017, 12(4): e0176460.
3. Bronte V., Brandau S., Chen S. H., Colombo M. P., Frey A. B., Greten T. F., Mandruzzato S., Murray P. J., Ochoa A., Ostrand-Rosenberg S., Rodriguez P. C., Sica A., Umansky V., Vonderheide R. H., Gabrilovich D. I. Recommendations for myeloid-derived suppressor cells nomenclature and characterization standards. *Nat Commun*. 2016, 7: 12150.
4. Liu Y. F., Zhuang K. H., Chen B., Li P. W., Zhou X., Jiang H., Zhong L. M., Liu F. B. Expansion and activation of monocytic-myeloid-derived suppressor cell via STAT3/ arginase-I signaling in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Research & Therapy*. 2018, 20(1):168.
5. Guła Z., Stec M., Rutkowska-Zapała M., Lenart M., Korkosz M., Gąsowski J., Baran J., Baj-Krzyworzeka M., Szatanek R., Czyż J., Siedlar M. The absolute number of circulating nonclassical (CD14 + CD16 ++ ) monocytes negatively correlates with DAS28 and swollen joint count in patients with peripheral spondyloarthritis. *Pilish Archives of internal medicine*. 2017, 127 (12), 846–853.

**CARACTERIZATION OF DISTRIBUTION OF MYELOID-DERIVED SUPPRESSOR CELLS AND MONOCYTES IN DIFFERENT CLINICAL VARIANTS OF ANKYLOSING SPONDYLITIS**

© 2019 A. Yu. Morenkova\*, M. A. Tikhonova, A. E. Sizikov, O. A. Chumasova, A. E. Sulutyan, E. R. Chernykh

\*E-mail: morenkovasp@yandex.ru

*Federal Budget Institution of Science « Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia*

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 28.03.2019

The frequencies of myeloid-derived suppressor cell (MDSC) and monocyte subpopulations in patients with ankylosing spondylitis (AS) have been investigated. AS patients, especially with axial disease, had decreased proportion of granulocytic MDSC. In contrast, the frequencies of monocytic MDSC were significantly increased. The proportion of non-classical monocytes was increased in AS patients without peripheral manifestations. Of note, non-classical monocyte levels positively correlated with disease activity.

*Key words:* Myeloid-derived suppressor cells (MDSC), monocytes, ankylosing spondylitis (AS)

**Authors:**

**Morenkova A. Yu.**, ✉ Postgraduate Student, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** morenkovasp@yandex.ru;

**Tikhonova M. A.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Sizikov A. E.**, PhD, Head of Rheumatology Department, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Chumasova O. A.**, PhD, rheumatologist, rheumatology department, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Sulutyan A. E.**, PhD, rheumatologist, rheumatology department, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Chernykh E. R.**, PhD, MD, Professor (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.

## РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ ПРИ ОСТРОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ОТВЕТом И РАЗВИТИЕМ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

© 2019 г. С. А. Морозов<sup>1\*</sup>, Н. В. Пронкина<sup>1</sup>, Н. М. Старостина<sup>1</sup>,  
О. Ю. Леплина<sup>1</sup>, А. А. Останин<sup>1</sup>, А. А. Штоббе<sup>2</sup>,  
Е. Р. Черных<sup>1</sup>

\*E-mail: el-gorra@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>Городская клиническая больница № 1, Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

В работе продемонстрировано, что в первые 24–48 час после ишемического инсульта (ИИ) у пациентов отмечалось достоверное возрастание в циркуляции относительного содержания регуляторных Т-клеток (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>) и снижение Th1 (CD4<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup>) клеток, а также увеличение лейкоцитов, нейтрофильно-лимфоцитарного индекса и уровня СРБ. Характерно, что у пациентов с развившейся впоследствии инфекцией возрастание CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> Т-клеток и снижение CD4<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup> Т-лимфоцитов было менее выраженным, а уровень воспалительной реакции – достоверно выше, чем в оппоритной группой. Наибольшие различия между анализируемыми группами проявлялись при оценке соотношения CD4<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> Т-клеток. Индекс CD4<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> в группе с инфекцией 3-кратно превышал таковой у пациентов с отсутствием инфекционных осложнений, коррелировал с концентрацией СРБ (R=0,54; p=0,02) и при значении >1,14 позволял прогнозировать развитие инфекции со специфичностью 85,7% и чувствительностью 68,8%.

**Ключевые слова:** CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>, CD4<sup>+</sup>IFNγ<sup>+</sup>, СРБ, ишемический инсульт, инфекционные осложнения

DOI: 10.31857/S102872210006918-4

**Адрес:** 630091 Новосибирск, ул. Ядринцевская 14, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клеточной иммунотерапии, Морозов Сергей Александрович. Тел.: +79139523270

**E-mail:** el-gorra@mail.ru

**Авторы:**

**Морозов С. А.**, аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Пронкина Н. В.**, к.б.н., зав. лабораторией клинической иммунологии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Старостина Н. М.**, к.м.н., зав. отделением иммунологии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» Новосибирск, Россия;

**Леплина О. Ю.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Останин А. А.**, д.м.н., главный научный сотрудник ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Штоббе А. А.**, к.м.н., зав. отделением неврологии МБУЗ «Городская клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия;

**Черных Е. Р.**, д.м.н., зав. лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» Новосибирск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Регуляторные Т-клетки (Трег) играют важную роль в патогенезе ишемического инсульта (ИИ), однако данные об изменении этих клеток в остром периоде заболевания представлены единичными исследованиями, а роль Трег остается неоднозначной. Обладая способностью ингибировать воспалительную реакцию, выработку металлопротеиназ, активность эффекторных Т-клеток и активацию микроглии, Трег могут оказывать нейропротективный эффект [1, 2]. Позитивный эффект Трег так же может быть обусловлен стимулирующим влиянием на нейрогенез [3] и постишемическую неоваскуляризацию [4]. С другой стороны, Трег могут участвовать в индукции иммуносупрессии, являющейся

ведущей причиной инфекционных осложнений и летальности при ИИ [5].

**Целью исследования** явилось изучение взаимосвязи Трег с выраженностью системной воспалительной реакции и Th1 ответа, а также развитием инфекционных осложнений.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было рекрутировано 44 пациента (22 мужчины и 22 женщины в возрасте от 53 до 80 лет) с ИИ > 8 баллов по шкале тяжести инсульта (NIHSS). Обследование проводилось в первые двое суток с момента развития ИИ. Контролем служили 20 сопоставимых по полу и возрасту доноров. Количество Трег ( $CD4^+CD25^{hi}$ ) и  $CD4^+$  Т-клеток, экспрессирующих внутриклеточно интерферон- $\gamma$  ( $CD4^+IFN\gamma^+$ ), исследовали методом проточной цитофлюориметрии с использованием соответствующих моноклональных антител (BD PharMingen, NJ, USA). Лабораторные исследования включали определение СРБ и общий анализ крови. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ Statistica 6.0 и Graph Pad Prism 5.0. Данные представлены в виде среднего значения (М) и стандартной ошибки среднего значения (S.E.M.). Корреляционную связь оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (rs), оценка прогностической значимости – с использованием ROC-анализ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пациенты в остром периоде ИИ характеризовались достоверно повышенным содержанием  $CD4^+CD25^{hi}$  ( $2,1 \pm 0,15$  против  $1,04 \pm 0,1\%$ ;  $p=0,0002$ ) Т-клеток и сниженной долей  $CD4^+IFN\gamma^+$  Т-лимфоцитов ( $5,3 \pm 1,2$  против  $15,7 \pm 4,5\%$ ;  $p=0,005$ ), уровень которых обратно коррелировал с содержанием  $CD4^+CD25^{hi}$  Т-клеток ( $R_s = -0,47$ ;  $p=0,007$ ). Развитие инфекционных осложнений в сроки до 28 дней было зарегистрировано у 19 (43%) пациентов. В 8 случаях диагностировалась пневмония, в 11 – мочевиная инфекция ( $n=11$ ). В 11 из 19 случаев инфекция явилась причиной 28-суточной летальности. Относительное содержание  $CD4^+CD25^{hi}$  Т-клеток у пациентов с инфекционными осложнениями составляло  $1,65 \pm 0,19\%$  и было достоверно ниже, чем у больных с отсутствием инфекции ( $2,64 \pm 0,26\%$ ;  $p = 0,009$ ), тогда как содержание  $CD4^+IFN\gamma^+$  Т-клеток в группе с инфекционными осложнениями было выше, чем в группе без инфекций ( $8,1 \pm 2,2$  против  $3,04 \pm 0,86\%$ ;  $p=0,035$ ).

Соответственно, индекс соотношения  $CD4^+IFN\gamma^+ / CD4^+CD25^{hi}$  в группе с инфекционными осложнениями 3-кратно превышал таковой в группе без инфекций. Пациенты с наличием инфекционных осложнений отличались также от оппозитной группы более высокими показателями лейкоцитоза ( $12,7 \pm 1,2$  против  $9,3 \pm 0,51$ ;  $p=0,016$ ), нейтрофильно-лейкоцитарного индекса ( $10,6 \pm 2,0$  против  $6,95 \pm 1,1$ ;  $p=0,007$ ) и СРБ ( $94,3 \pm 18,4$  против  $32,8 \pm 6,4$  мг/л;  $p=0,0002$ ), отражающих выраженность системной воспалительной реакции. Причем индекс  $CD4^+IFN\gamma^+ / CD4^+CD25^{hi}$  прямо коррелировал с концентрацией СРБ ( $R=0,54$ ;  $p=0,02$ ). Более того, оценка прогностической значимости индекса  $CD4^+IFN\gamma^+ / CD4^+CD25^{high}$  с привлечением ROC-анализа показала, что площадь под ROC-кривой составляла 0,80 (ДИ 0,64–0,96,  $p=0,005$ ), и пороговое значение индекса > 1,14 позволяло прогнозировать развитие инфекции со специфичностью 85,7% и чувствительностью 68,8%.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возрастание  $CD4^+CD25^{high}$  Трег в первые двое суток после ИИ ассоциировано с меньшей выраженностью системного воспалительного ответа, меньшим количеством  $CD4^+IFN\gamma^+$  Т-клеток и меньшим риском развития инфекционных осложнений в последующие 28 суток. Причем индекс  $CD4^+IFN\gamma^+ / CD4^+CD25^{hi}$  Т-клеток в первые 24–48 час после ИИ может быть использован в качестве предиктора развития инфекционных осложнений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Yan J., Read S.J., Henderson R.D., Hull R., O'Sullivan J., McCombe P., Greer J. Frequency and function of regulatory T cells after ischaemic stroke in humans. *Journal of Neuroimmunology*. 2012, 243; 1–2, 89–94.
2. Liesz A., Kleinschnitz C. Regulatory T cells in Post-stroke Immune Homeostasis. *Transl Stroke Res*. 2016, 7; 4, 313–321.
3. Saino O., Taguchi A., Nakagomi T., Nakano-Doi A., Kashiwamura S., Doe N., Nakagomi N., Soma T., Yoshikawa H., Stern D., Okamura H. Immunodeficiency reduces neural stem/progenitor cell apoptosis and enhances neurogenesis in the cerebral cortex after stroke. *J. Neurosci Res*, 2010, 88, 2385–2389.
4. Zouggari Y., Ait-Oufella H., Waeckel L., Vilar J., Loinard C., Cochain C., Recalde A., Duriez M., Levy B., Lutgens E., Silvestre J. Regulatory T cells modulate postischemic neovascularization. *Circulation*. 2009, 120, 1415–1425.
5. Shi K., Wood K., Shi F., Wang X, Liu Q. Stroke-induced immunosuppression and poststroke infection. *Stroke Vasc Neurol*. 2018, 3, 34–41.

**REGULATORY T-CELLS IN ACUTE ISCHEMIC STROKE  
AND THEIR RELATION WITH INFLAMMATORY RESPONSE  
AND DEVELOPMENT OF INFECTIOUS COMPLICATIONS**

© 2019 S. A. Morozov<sup>1\*</sup>, M. A. Tikhonova<sup>1</sup>, N. M. Starostina<sup>1</sup>,  
O. Y. Leplina<sup>1</sup>, E. Y. Shevela<sup>1</sup>, A. A. Ostanin<sup>1</sup>, A. A. Shtobbe<sup>2</sup>,  
E. R. Chernykh<sup>1</sup>

\*E-mail: el-gorra@mail.ru

<sup>1</sup>Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>City Clinical Hospital № 1, Novosibirsk, Russia

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 01.04.2019

The study has demonstrated a significant increase in percentage of circulating CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> regulatory T cells and a decrease in Th1 (CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> N cells), as well as elevated leukocyte count, neutrophil-to-lymphocyte ratio and CRP level during the first 24–48 hours after onset of ischemic stroke (IS). Of note, patients with poststroke infection had less pronounced increase in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> T-cells and the decrease in CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> T lymphocytes, while inflammatory response was significantly higher than in the opposite group. The largest difference between groups was observed when assessing the ratio of CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> T cells. The ratio of CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> in patients with infections was 3 times higher than in the group without infectious complications, correlated with the concentration of CRP (R = 0.54; p = 0.02) and the value of ratio > 1.14 allowed to predict infection with a specificity of 85.7% and a sensitivity of 68.8%.

*Key words:* CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> T cells, CD4<sup>+</sup>IFN $\gamma$ <sup>+</sup> T cells, CRP, ischemic stroke, infectious complications

**Authors:**

**Morozov S. A.**, ☒ post-graduate student, laboratory of cellular immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** el-gorra@mail.ru;

**Pronkina N. V.**, PhD, Head of laboratory of clinical immunology, Researcher Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Starostina N. M.**, PhD, Head of Department of immunology, Researcher Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Leplina O. Yu.**, MD, Leading Researcher, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Ostanin A. A.**, MD, Chief Researcher Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Shtobbe A. A.**, PhD, Head of Department of neurilgy, City Clinical Hospital № 1, Novosibirsk, Russia;

**Chernykh E. R.**, MD, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of laboratory of cellular immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ ПРИ ГЕМОЛИТИКО- УРЕМИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

© 2019 г. О. В. Москалец\*, Т. Е. Панкратенко

\*E-mail: 6816000@mail.ru

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт  
им. М. Ф. Владимирского», Москва, Россия

Поступила: 25.02.2019. Принята: 13.03.2019

В статье приводятся результаты исследования по оценке диагностической и прогностической значимости определения содержания растворимых молекул межклеточной адгезии у детей с типичным и атипичным гемолитико-уремическим синдромом.

**Ключевые слова:** гемолитико-уремический синдром, дети, растворимые молекулы адгезии, комплемент, экулизумаб

DOI: 10.31857/S102872210006919-5

**Адрес:** 129110 Москва, ул. Шепкина, д 61/2, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского» Минздрава МО, научно-исследовательская лаборатория, Москалец Оксана Владимировна. Тел. +7(495)6816000.

**E-mail:** 6816000@mail.ru

**Авторы:**

**Москалец О. В.**, к.м.н., ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского» Минздрава МО, Москва, Россия.

**Панкратенко Т. Е.**, к.м.н., доцент кафедры трансплантологии, нефрологии и искусственных органов факультета усовершенствования врачей ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского» Минздрава МО, Москва, Россия.

Гемолитико-уремический синдром (ГУС) представляет собой редкую, но тяжелую патологию из группы тромботических микроангиопатий, которая характеризуется клинической триадой симптомов: острая почечная недостаточность, тромбоцитопения и неиммунная гемолитическая анемия. В зависимости от этиологии выделяют типичный, или диарея-ассоциированный, ГУС, и атипичный (недиарея-ассоциированный) ГУС. Ведущим фактором патогенеза тГУС является шига-токсин, который продуцируют некоторые штаммы энтерогеморрагической *Escherichia coli*. Развитие аГУС в большинстве случаев связано с неконтролируемой активацией системы ком-

плементы, обусловленной различными генными мутациями или образованием антител к компонентам комплемента [1–3]. В патогенезе многих инфекционных заболеваний важную роль играет дисфункция эндотелия [4]. Не является исключением и тГУС, т.к. повреждение эндотелиальных клеток шига-токсином является пусковым моментом в развитии тромботической микроангиопатии [2]. Вместе с тем, при субклинической активации комплемента, которая может наблюдаться в ремиссии аГУС, тоже может возникать повреждение эндотелия [3].

В связи с относительной редкостью и тяжестью данной патологии, проблема прогнозирования серьезных осложнений и поиска оптимальных методов терапии остается весьма актуальной. Исходя из вышеизложенного, биомаркеры эндотелиальной дисфункции представляют интерес для мониторинга течения болезни и оптимизации терапевтической тактики.

**Цель исследования:** определение содержания растворимых молекул адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 в сыворотке периферической крови у детей с тГУС и аГУС и оценка их прогностической информативности.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 65 детей с ГУС в возрасте от 6 до 128 мес. 1-я группа включала 17 пациентов

с острым тГУС (2-й–4-й день заболевания); 2-я группа включала 10 детей, перенесших тГУС ранее (период ремиссии 6 мес. – 5 лет); в 3-ю группу вошло 22 пациента с ремиссией аГУС, которые получали таргетную терапию экулизумабом (период ремиссии 2–42 мес.); 4-я группа – 16 детей с ремиссией аГУС, не получающие экулизумаб (период ремиссии 1–43 мес.). У всех больных определяли относительное и абсолютное содержание лейкоцитов и тромбоцитов, гемоглобина, креатинина, мочевины, ЛДГ, С3 компонента комплемента. Для оценки уровня sICAM-1 и sVCAM-1 использовали тест-системы Bender Medsystems (Австрия).

### РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнении полученных данных оказалось, что у детей в остром периоде тГУС (группа 1) содержание sICAM-1 было достоверно ниже, а sVCAM-1 – достоверно выше, чем в ремиссии (группа 2): 285 (227–297) против 335 (308–408) пг/мл  $p=0,003$  и 705 (505–1230) против 335 (325–450) пг/мл,  $p=0,003$ , соответственно). Отмечена прямая корреляция уровня sICAM-1 с продолжительностью тромбоцитопении. В то же время, на момент выписки достоверных различий в исходном содержании гемоглобина, ЛДГ, креатинина, мочевины, количестве лейкоцитов и тромбоцитов, а также продолжительности анурии и потребности в диализе между 8 детьми с нормальным уровнем sVCAM-1 (медиана 482, 372–565 пг/мл) и 9 детьми с повышенным уровнем этого маркера (медиана 1230, 1085–1825 пг/мл) не выявлено.

У детей с ремиссией аГУС содержание С3, sICAM-1 и sVCAM-1 были в пределах возрастных норм, но в группе 3 отмечен более высокий уровень sICAM-1, чем в группе 4 ( $478 \pm 102$  пг/мл против  $343 \pm 50$  пг/мл,  $p < 0,05$ ), что, вероятно, было связано с изначально более тяжелым течением заболевания у пациентов, получавших экулизумаб. По остальным показателям достоверных различий между этими группами не выявлено.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В остром периоде тГУС по сравнению с ремиссией выявлены достоверные различия в содержании молекул межклеточной адгезии, причем они были разнонаправленными: более низкое содержание sICAM-1 и более высокое содержание sVCAM-1. Выявленная корреляция содержания sICAM-1 со сроками нормализации тромбоцитов может указывать на связь между степенью активации тромбоцитов и состоянием эндотелия. В то же время, согласно полученным данным, взаимосвязь между уровнем молекул межклеточной адгезии и показателями тяжести почечного повреждения отсутствует, что не позволяет их рассматривать в качестве прогностических маркеров при тГУС.

Нормальные уровни С3, sICAM-1 и sVCAM-1 у детей в ремиссии аГУС означают, что при этой патологии может восстанавливаться нормальное состояние эндотелия. Поскольку тактика назначения экулизумаба является предметом дискуссий [5], динамическую оценку данных показателей можно использовать для определения продолжительности таргетной терапии и прогнозирования обострений.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Talarico V., Aloe M., Monzani A., Miniero R., Bona G.* Hemolytic uremic syndrome in children. *Minerva Pediatr.* 2016; 68(6), 441–445.
2. *Keir L. S., Marks S. D., Kim J. J.* Shigatoxin-associated hemolytic uremic syndrome: current molecular mechanisms and future therapies. *Drug Des Devel Ther.* 2012; 6, 195–208.
3. *Loirat C., Frémeaux-Bacchi V.* Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2011; 6, 60–66.
4. *Москалец О. В.* Молекулы клеточной адгезии ICAM-1 и VCAM-1 при инфекционной патологии. Тихоокеанский медицинский журнал. 2018, 2, 21–25. [*Moskalets O. V.* Molecules of cellular adhesion ICAM-1 and VCAM-1 in infectious pathology. *Pacific Medical Journal*, 2018, 2, 21–25.
5. *Carter S., Hewitt I., Kausman J.* Long-term remission with eculizumab in atypical haemolytic uraemic syndrome. *Nephrology (Carlton)*. 2017; 22 (Suppl.1), 7–10.

## PROGNOSTIC VALUE OF INTRACELLULAR ADHESION MOLECULES IN HEMOLYTIC-UREMIC SYNDROME

© 2019 O. V. Moskalets\*, T. E. Pankratenko

\*E-mail: 6816000@mail.ru

*Moscow Regional Research and Clinical Institute named after M. F. Vladimirovskij,  
Moscow, Russia*

**Received:** 25.02.2019. **Accepted:** 13.03.2019

The article presents the results of a study assessing the diagnostic and prognostic significance of determining the content of soluble intercellular adhesion molecules in children with typical and atypical hemolytic-uremic syndrome.

*Key words:* hemolytic uremic syndrome, children, soluble adhesion molecules, complement, eculizumab

### Authors:

**Moskalets O. V.**, ✉ PhD, Leading Researcher, Research Laboratory, M. F. Vladimirovskiy Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia. **E-mail:** 6816000@mail.ru;

**Pankratenko T. E.**, PhD, Assistant Professor of Department of Transplantology, Nephrology and Artificial Organs, Faculty of Advanced Medical Studies, Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ ИНТРАОКУЛЯРНОЙ ЛИНЗЫ

© 2019 г. О. В. Москалец

E-mail: 6816000@mail.ru

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского»

Поступила: 25.02.2019. Принята: 14.03.2019

Цель: изучить прогностическую ценность ряда лабораторных маркеров (антитела к двуспиральной ДНК, молекулы межклеточной адгезии, неоптерин) у пациентов с экссудативно-воспалительными реакциями, развившимися после имплантации интраокулярных линз. Материалы и методы: в исследование включен 21 пациент, госпитализированных в связи с послеоперационными экссудативно-воспалительными реакциями. Лабораторные исследования проводились дважды: при поступлении и при выписке. Период наблюдения составил 6 месяцев. Результаты. Предварительные данные показывают, что высокие уровни sVCAM, sICAM и антител к двуспиральной ДНК в сыворотке крови, по-видимому, ассоциируются с неблагоприятными исходами (удаление глаза, слепота, удаление интраокулярной линзы). Заключение. Маленькая выборка не позволяет сделать однозначных заключений по поводу прогностической значимости этих маркеров. Исследование необходимо продолжить.

**Ключевые слова:** интраокулярная линза, эндофтальмит, молекулы адгезии, антитела к ДНК, неоптерин

DOI: 10.31857/S102872210006920-7

**Адрес:** 129110 Москва, ул. Щепкина, д 61/2, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского» Минздрава МО, научно-исследовательская лаборатория, Москалец Оксана Владимировна. Тел. +7(495)6816000.

**E-mail:** 6816000@mail.ru

**Авторы:**

**Москалец О. В.**, к.м.н., ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского» Минздрава МО, Москва, Россия.

Несмотря на внедрение малоинвазивных хирургических технологий, применение современных биосовместимых материалов и лекарственных средств, проблема экссудативно-воспалительных реакций (ЭВР) глаза, которые возникают после имплантации интраокулярных линз (ИОЛ), до сих пор актуальна. Их частота колеблется от 3,1% до 13% [1]. Различают инфекционные ЭВР, причиной которых являются разные микроорганизмы, и неинфекционные, обусловленные реакцией тканей на саму хирургическую

травму, ИОЛ или расходные материалы. Сроки развития ЭВР колеблются от нескольких дней до месяца и более после операции. Самым тяжелым проявлением является эндофтальмит, который может закончиться удалением глаза [3]. Прогнозировать течение и исход ЭВР достаточно сложно, поэтому поиск лабораторных маркеров, позволяющих это сделать, представляется достаточно актуальным. К потенциальным кандидатам относятся различные маркеры воспаления, а также аутоантитела [2, 4, 5].

**Целью** настоящего исследования было выявление лабораторных маркеров, характерных для различных вариантов ЭВР при артифакции.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включен 21 больной (9 мужчин и 12 женщин) в возрасте от 17 до 69 лет с ЭВР, развившейся после факоемульсификации с последующей имплантацией ИОЛ. Лабораторные исследования выполнялись при поступлении в стационар и перед выпиской

и включали бактериальные посевы с конъюнктивальных полостей обоих глаз, определение уровня неоптерина, антител к двуспиральной ДНК (АТ к нДНК), растворимых молекул адгезии (sICAM-1, sVCAM-1). В дальнейшем за больными проводилось наблюдение в течение 6 мес. В работе использовались тест-системы фирм IBL (Австрия), Orgentec (Германия), Bender MedSystems (Австрия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

ЭВР возникла у всех больных в разные сроки после операции (от 2 до 14 дней). По степени тяжести ЭВР распределение было следующим: II степень – 8 больных (38,1%), III степень – 11 больных (52,3%), IV степень – 3 больных (14,3%). Исходный уровень АТ к нДНК был повышен у 12 (57,1%) пациентов, неоптерина – у 9 (42,8%), sICAM-1 – у 3 (14,3%), sVCAM-1 – у 5 (23,8%). Достоверных корреляций со сроками развития ЭВР и ее тяжестью не получено. Отмечались большие индивидуальные колебания показателей. При исследовании данных показателей в динамике установлено, что нормализация содержания АТ к нДНК произошла у 6 больных, еще у 5 оно существенно снизилось по сравнению с исходным уровнем. В то же время, у 1 больной с тяжелым послеоперационным эндофтальмитом данный показатель еще больше увеличился, что можно объяснить усилением процессов апоптоза. Нормализация уровня неоптерина произошла у 6 больных, у 2 он сохранялся повышенным. В то же время, у 1 пациента этот показатель перед выпиской из стационара значительно повысился по сравнению с исходным нормальным значением, хотя течение заболевания было благоприятным и никаких осложнений и рецидивов в дальнейшем не отмечалось. Наблюдение за пациентами показало следующее. У 1 пациента с эндофтальмитом оказался самый неблагоприятный исход – удаление глаза. При этом у него был и самый высокий исходный уровень sVCAM-1 (3472 нг/мл), высокий уровень неоптерина (20,6 нмоль/л), причем оба показателя быстро нарастали. У второго пациента с эндофтальмитом был исходно высокий уровень АТ к нДНК, перед выпиской он повысился почти в 5 раз, но при этом остальные показатели практически не превышали нормальных значений. Течение заболевания было затяжным, но в итоге, исход оказался благоприятным. Наконец, у третьего пациента при поступлении отмечались достаточно высокие

уровни АТ к нДНК (93,5 ЕД/мл) и неоптерина (27,7 нг/мл), но к концу лечения они нормализовались, что совпало с положительной клинической динамикой. В дальнейшем рецидивов не отмечено. Потеря зрения как исход острого увеита ассоциировалась с высоким уровнем sICAM-1 (610 нг/мл), умеренным повышением неоптерина и АТ к нДНК при поступлении. При этом в динамике отмечалось умеренное нарастание уровня sVCAM-1. Обращает также на себя внимание случай, когда у больной с острым увеитом, нормальным и благоприятным течением послеоперационного периода через 1,5 мес. развился тяжелый эндофтальмит, потребовавший повторной госпитализации и длительной консервативной терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, антитела к нДНК, sICAM-1, sVCAM-1 и неоптерину являются перспективными лабораторными маркерами для прогнозирования течения ЭВР, которые возникают после имплантации ИОЛ. Высокие исходные уровни sVCAM-1 и неоптерина и их возрастание в процессе лечения могут быть прогностическими маркерами неблагоприятных исходов. Вместе с тем, из-за малого количества наблюдений сделать однозначное заключение о прогностической ценности исследуемых показателей не представляется возможным.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Белоусова Н. Ю. Экссудативно-воспалительная реакция глаза в хирургии катаракты: современный взгляд на проблему. Современные технологии в медицине. 2011, 3, 134–141. [Belousova N. Ju. Exudative-inflammatory reaction of the eye in cataract surgery: a modern view of the problem. Modern technology in medicine. 2011, 3, 134–141].
2. Кричевская Г. И., Лихванцева В. И., Анджелов В. О. Значение аутоиммунных реакций в развитии послеоперационных увеитов у больных с артифакцией. Вестн. Офтальмол. 1996, 5, 27–29. [Krichevskaya G. I., Likhvantseva V. I., Angelov V. O. The value of autoimmune reactions in the development of post-operative uveitis in patients with artifakia. Bulletin of Ophthalmology. 1996, 5, 27–29].
3. Arijeet D. Endophthalmitis after cataract surgery. Ophthalmology. 2010, 117(4), 853–859.
4. Kooij B., Rothava A., Rijkers G., deGroot Mijness J. D. Distinct cytokine and chemokine profiles in the aqueous of patients with uveitis and cystoid macular edema. AM. J. Ophthalmol. 2006, 142(1), 192–194.
5. Lawson C., Wolf S. ICAM-1 signaling in endothelial cells. Pharmacol. Rep. 2009, 61, 22–32.

## CHARACTERISTICS OF INFLAMMATORY RESPONSE IN PATIENTS AFTER INTRAOCULAR LENS SUGERY

© 2019 O. V. Moskalets

*E-mail: 6816000@mail.ru*

*Moscow Regional Research and Clinical Institute named after M. F. Vladimirskiy,  
Moscow, Russia*

**Received:** 25.02.2019. **Accepted:** 14.03.2019

**Aim.** To study prognostic value of some laboratory markers (anti-DNA antibodies, cell adhesive molecules, neopterin) in patients with exudative inflammation after intraocular lens surgery. **Materials and methods:** 21 in-patients with postoperative iridocyclitis and endophthalmitis were included. The assays were taken twice: after admission and before discharging. The follow-up period was 6 months. **Results.** Preliminary data show that high serum levels of sVCAM, sICAM and anti-DNA antibodies, as well as very low levels of anti-DNA antibodies seems to be associated with poor outcomes in those patients (enucleation, blindness, lens extraction). **Conclusion.** Small cohort doesn't allow make strict conclusion about prognostic value of these laboratory markers. The study should be continued.

*Key words:* intraocular lens, endophthalmitis, adhesion molecules, anti-DNA antibodies, neopterin

### **Authors:**

**Moskalets O. V.**, PhD, Leading Researcher, Research Laboratory, Moscow Regional Research Clinical Institute named after M. F. Vladimirskiy, Moscow, Russia.

## ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ В ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

© 2019 г. В. П. Мудров<sup>1,2\*</sup>, Г. А. Демяшкин<sup>2,4</sup>,  
В. Н. Нелюбин<sup>3</sup>, И. С. Фоменков<sup>4</sup>, Е. Ю. Лысюк<sup>5</sup>,  
Е. С. Воробьева<sup>6</sup>, С. Ю. Иванов<sup>4</sup>

\*E-mail: vpmudrov@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «9 Лечебно-диагностический центр» Минобороны России, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО МГМСУ имени А. И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>5</sup>ФГБУН Институт биологии гена Российской академии наук, Москва;

<sup>6</sup>ООО «ДжиЭф Групп», Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 27.03.2019

Заболевания пародонта связаны с прогрессирующей потерей костной и мягкой ткани пародонта. Перспективным представляется применение биодеградируемого гидрогеля с фактором роста эндотелия сосудов (ФРЭС). Обследовано 10 пациентов в отделении челюстно-лицевой хирургии УКБ № 4. Комплексное лечение включало стандартную терапию и препарат на основе карбоксиметилцеллюлозы и ФРЭС. В результате лечения существенно сократилась концентрация патогенной микрофлоры пародонта, обнаружена нормальная гистоархитектоника слизистой десны. Иммуногистохимическими методами отмечено уменьшение внеклеточной секреции ФРЭС, а также построение волокон не только из «молодого» коллагена III типа, но и коллагена I типа. Таким образом, отмечена не только стимуляция регенерации, но и выраженный противовоспалительный эффект гидрогеля с фактором роста эндотелия сосудов, имеющим потенциал стимуляции регенерации тканей пародонта.

**Ключевые слова:** микрофлора пародонта, интерферон  $\gamma$ , фактор роста эндотелия сосудов, коллагена I типа

DOI: 10.31857/S102872210006921-8

**Адрес:** 125284, Москва, ул. Поликарпова 12/13; АОЦТМ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», кафедра иммунологии, Мудров Валерий Павлович.  
Тел.: +7 (495) 945-80-32; +7 (916) 174-44-77 (моб.)

**E-mail:** vpmudrov@yandex.ru

### Авторы:

**Мудров В. П.**, к.м.н., ассистент кафедры иммунологии АОЦТМ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»; врач-лаборант ФГБУ «9 лечебно-диагностический центр» Минобороны РФ, Москва, Россия;

**Демяшкин Г. А.**, к.м.н., врач-гистолог ФГБУ «9 лечебно-диагностический центр» Минобороны РФ, доцент кафедры патологической анатомии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия;

**Фоменков И. С.**, челюстно-лицевой хирург, аспирант кафедры челюстно-лицевой хирургии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия;

**Нелюбин В. Н.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник НИМ-СИ МГМСУ им. А. И. Евдокимова, Москва, Россия;

**Лысюк Е. Ю.**, к.б.н. ФГБУН «Институт биологии гена» Российской академии наук; ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава РФ, Москва Россия;

**Воробьева Е. С.**, к.б.н. ООО «ДжиЭф Групп», Москва, Россия;

**Иванов С. Ю.**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН заведующий кафедры челюстно-лицевой хирургии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Заболевания пародонта, в том числе заболевания десен, гингивит, периодонтит и пародонтит часто связаны с прогрессирующей потерей

костной и мягкой ткани пародонта. Патогенетические процессы деструктивных воспалительных заболеваний пародонта вызываются микрофлорой поддесневого налета [1, 2]. Для диагностики текущего состояния пародонта актуален анализ цитокинов десневой борозды [5].

Исследования говорят об эффективности ростовых факторов, стимулирующих регенерацию соединительной и костной ткани. Ряд цитокинов участвуют в регулировании ангиогенеза, но фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС) действует непосредственно на эндотелий сосудов [3]. Существует широкий выбор методов лечения пародонтита, но перспективным представляется применение фактора роста эндотелия сосудов, способствующих заселению скаффолда фибробластами с формированием зрелой соединительной ткани связки периодонта.

**Цель работы.** Разработка комплексного лечения пародонтита легкой и средней степени тяжести гидрогелем, содержащим ФРЭС.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты (n=10, возраст 53–79 лет) находились на лечении в отделении челюстно-лицевой хирургии УКБ № 4 с жалобами на болезненность, отек и кровоточивость десен. Комплексное лечение включало стандартную терапию и препарат на основе карбоксиметилцеллюлозы и ФРЭС. В пробе зубодесневой жидкости определяли ФРЭС и IFN $\gamma$ , патогенную микрофлору пародонта. Проводили гистологическое и иммуногистохимическое обследование.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате лечения существенно сократилась концентрация *A. actinomycetomcomitans*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia* и *F. nucleatum*. Снижался уровень ФРЭС в зубодесневом кармане после проведенного лечения. До лечения отмечали выраженное хроническое воспаление с преобладанием лимфоцитов и разволокнение стромального компонента. После лечения обнаружили нормальную гистеоархитек-

тонику слизистой десны. Было отмечено уменьшение внеклеточной секреции ФРЭС, а также построение волокон не только из «молодого» коллагена III типа, но и коллагена I типа, что указывает на снижение активности воспаления и активацию пластических процессов волокнистого компонента, приводящих к укреплению структур пародонта на фоне проводимого лечения. Это согласуется с современными исследованиями роли фибробластов в воспалительном процессе, индуцированном патогенной микрофлорой пародонта [4].

## ВЫВОДЫ

Таким образом, отмечена не только стимуляция регенерации, но и выраженный противовоспалительный эффект гидрогеля с фактором роста эндотелия сосудов, имеющим потенциал стимуляции регенерации тканей пародонта и эффект местного противовоспалительного лечения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ebersole J. L., Dawson D.<sup>3rd</sup>, Emecen-Huja P., Nagarajan R., Howard K., Grady M. E., Thompson K., Peyyala R., Al-Attar A., Lethbridge K., Kirakodu S., Gonzalez O. A. The periodontal war: microbes and immunity. *Periodontol* 2000.2017 Oct;75(1):52–115. doi: 10.1111/prd.12222.
2. Herrero E. R., Fernandes S., Verspecht T., Ugarte-Berzal E., Boon N., Proost P., Bernaerts K., Quirynen M., Teughels W. Dysbiotic Biofilms Deregulate the Periodontal Inflammatory Response. *Journal of Dental Research* 2018, Vol. 97(5) 547–555.
3. Padma R., Sreedhara A., Indeevar P., Sarkar I., Kumar C. S. Vascular Endothelial Growth Factor Levels in Gingival Crevicular Fluid Before and after. Vol-8(11): ZC75-ZC79.
4. Kang W., Hu Z., Ge S. Healthy and Inflamed Gingival Fibroblasts Differ in Their Inflammatory Response to *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide. *Inflammation* 2016 Oct;39(5):1842–52.
5. Zekeridou A., Giannopoulou C., Cancela J., Courvoisier D., Mombelli A. Effect of initial periodontal therapy on gingival crevicular fluid cytokine profile in subjects with chronic periodontitis. *Clin Exp Dent Res*. 2017;3:62–68.

## THE VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN THE TREATMENT OF CHRONIC INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASES

© 2019 V. P. Mudrov<sup>1,2\*</sup>, G. A. Demyashkin<sup>2,4</sup>, V. N. Nelyubin<sup>3</sup>,  
I. S. Fomenkov<sup>4</sup>, E. Y. Lysjuk<sup>5</sup>, E. S. Vorobieva<sup>6</sup>, S. Y. Ivanov<sup>4</sup>

\*E-mail: vpmudrov@yandex.ru

<sup>1</sup>FSBEI PGE “Russian medical Academy continuous professional education” Ministry of Healthcare of Russia, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>FSBI “9 diagnostic and treatment center” Ministry of Defense of Russia, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>FSBEI of the Higher Education “Moscow State University of Medicine and Dentistry A. I. Yevdokimov” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>FSBEI First Moscow state medical University named after I. M. Sechenov of Ministry of Healthcare of Russia, Moscow, Russia;

<sup>5</sup>FSBIS “Institute of gene biology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow;

<sup>6</sup>Ltd. “GF group”, Moscow, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 27.03.2019

Periodontal disease is associated with progressive loss of bone and soft periodontal tissue. The use of biodegradable hydrogel with vascular endothelial growth factor (VEGF) contributing to the settlement of scaffold by fibroblasts with the subsequent formation of Mature connective tissue of the periodontal ligament is promising. Examined and treated 10 patients in the Department of maxillofacial surgery UKH № 4. Comprehensive treatment included standard drug therapy and based on carboxymethylcellulose and VEGF. As a result of treatment, the concentration of pathogenic microflora of periodontium was significantly reduced. The concentration of VEGF in the periodontal pocket decreases after the treatment and normal histoarchitectonics of the gingival mucosa was found. Immunohistochemical methods showed a decrease in extracellular secretion of VEGF, as well as the construction of fibers not only from “young” collagen type III, but also collagen type I. This indicates a decrease in the activity of inflammation and activation of the plastic processes of the fibrous component, leading to the strengthening of the periodontal structures on the background of the treatment. Thus, not only stimulation of regeneration was noted, but also a pronounced anti-inflammatory effect of hydrogel with a vascular endothelial growth factor having the potential to stimulate regeneration of periodontal tissues.

*Key words:* periodontal microflora, interferon  $\gamma$ , vascular endothelial growth factor, type I collagen

### Authors:

**Mudrov V. P.**, ☒ PhD, Department of immunology “Russian medical Academy continuous professional education” Ministry of Healthcare of Russia; doctor of clinical laboratory diagnostics FSBI “9 diagnostic and treatment center” Ministry of Defense of Russia, Moscow, Russia. E-mail: vpmudrov@yandex.ru;

**Demyashkin G. A.**, PhD, associate Professor of pathological anatomy Department FSBEI First Moscow state medical University named I. M. Sechenov of Ministry of Healthcare of Russia; doctor histologist FSBI “9 diagnostic and treatment center” Ministry of Defense, Moscow, Russia;

**Nelyubin V. N.**, MD, leading researcher FSBEI “Moscow State University of Medicine and Dentistry A. I. Yevdokimov” of the Ministry of Healthcare of the Russia, Moscow, Russia;

**Fomenkov I. S.**, FSBEI First Moscow state medical University I. M. Sechenov of Ministry of Healthcare of Russia, Moscow, Russia;

**Lysjuk E. Y.**, PhD, leading researcher FSBIS “Institute of gene biology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow;

**Vorobieva E. S.**, Ltd. “GF group”, Moscow, Russia;

**Ivanov S. Y.**, MD, Professor, corresponding member of the RAS head of the Department of maxillofacial surgery, FSBEI First Moscow state medical University I. M. Sechenov of Ministry of Healthcare, Moscow, Russia.

## ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФИТОФЛАВANOИДОВ У ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ

© 2019 г. Н. С. Нарзуллаева<sup>1</sup>, Д. А. Мусаходжаева<sup>2\*</sup>, М. М. Абдурахманов<sup>1</sup>, Г. А. Ихтиярова<sup>1</sup>

\*E-mail: [dilym@mail.ru](mailto:dilym@mail.ru)

<sup>1</sup>Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан;

<sup>2</sup>Институт иммунологии и геномики человека АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Поступила: 11.02.2019. Принята: 26.02.2019

Проведено исследование по изучению эффективности применения растительного препарата Биофлазид у 28 женщин с простой формой миомы матки. При этом изучены уровни про- (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18 и ФНО $\alpha$ ) и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов в сыворотке крови. Была выявлена положительная динамика как клинических показателей, так и уровней изученных цитокинов.

**Ключевые слова:** миома матки, цитокины, лечение, Биофлазид

DOI: 10.31857/S102872210006922-9

**Адрес:** 100060 Ташкент, ул. Я. Гулямова, д. 74, Институт иммунологии и геномики человека АН РУз, лаборатория иммунологии репродукции. Мусаходжаева Дилорам Абдуллаевна. Тел./факс: +(99871) 2330855, +998931801510 (моб.).

**E-mail:** [dilym@mail.ru](mailto:dilym@mail.ru)

**Авторы:**

**Нарзуллаева Н. С.**, асс. каф. акушерства и гинекологии Бухарского государственного института имени Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан;

**Абдурахманов М. М.**, д.м.н., профессор Бухарского государственного института имени Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан;

**Ихтиярова Г. А.**, к.м.н. доцент каф. акушерства и гинекологии Бухарского государственного института имени Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан;

**Мусаходжаева Д. А.**, д.б.н., зав. лаб. иммунологии репродукции Института иммунологии и геномики человека АН РУз, Ташкент, Узбекистан.

Несмотря на то, что основным методом лечения больных с миомой матки остается хирургический, учеными всего мира продолжается поиск консервативных методов терапии при этом заболевании [1, 2].

В литературе описаны ряд фитофлаваноидов, которые обладают выраженными противоопухолевыми свойствами за счет воздействия на каскады вторичных мессенджеров (внутриклеточные сигнальные молекулы), которые способствуют росту и развитию миомы матки. Одним из таких

растительных соединений является генистеин — изофлавоноид, содержащийся в диких злаках Щучка дернистая (*Deschampsia cespitosa*) и Вейник наземный (*Calamagrostis epigeios*). А. Miyake и соавт. [3] в ходе экспериментов на крысиных клетках миомы пришли к выводу, что противоопухолевый эффект этого флаваноида связан не только с ингибированием тирозинкиназ, но также с угнетением ядерных рецепторов — пероксисомных пролифераторов (PPAR $\gamma$ ), активирующих клеточную пролиферацию. В исследовании X. Di и соавт. [4] было установлено, что генистеин при высоких концентрациях вызывает даунрегуляцию (снижение выработки) активина-А и Smad3 в культуре клеток миомы матки человека, что также вносит существенный вклад в противоопухолевый эффект данного вещества [1].

Безусловно, большое значение имеет состояние иммунной системы при росте и развитии миомы матки, в основном Т-клеточного звена иммунитета, снижение которого приводит к дефекту защитных механизмов и дисрегуляции системы цитокинов.

**Цель исследования** — определение взаимосвязи показателей цитокиновой регуляции и течения заболевания при консервативном лечении больных миомой матки.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 28 женщин с простой формой миомой матки, находившихся в отделении гинекологии областного стационара в г. Бухара. Возраст больных был от 20 до 37 лет и в среднем составлял  $25,8 \pm 2,3$  года. В процессе обследования использовалось ультразвуковое сканирование (трансабдоминальное и трансвагинальное), позволяющие оценить исходные размеры матки, величину, расположение и структура миоматозных узлов. Лечение проводили препаратом Протекфлазид (по 7 капель  $\times$  3 раза в день в течение 3-х месяцев). Контрольную группу составили 18 практически здоровых женщин репродуктивного возраста. Иммунологические исследования проводили изучением уровня провоспалительных (ИЛ-6 и ФНО $\alpha$ ) и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов в сыворотке крови методом ИФА до и после лечения (тест-система ЗАО Вектор-Бест, РФ). Статистический анализ полученных данных выполнялся с использованием методов вариационной статистики. Различия считали статистически достоверным при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что у 19 (67,8%) пациенток через 3 месяца от начала лечения объем матки уменьшился на 1/2 объема первоначальной величины; у 10 пациенток, продолжавших прием препарата в течение еще месяца — на 2/3 объема, по сравнению с исходными данными. Последующее ультразвуковое исследование было выполнено 11-ти пациенткам через 4 месяца после отмены препарата и 18-ти — через 3 месяца. У 4 пациенток (14,3%) был получен недостаточно выраженный эффект. Отсутствие эффекта от лечения у пациенток в репродуктивном возрасте (29, 31, 37 и 40 лет) послужило основанием для оперативного лечения. Учитывая стремление пациенток сохранить репродуктивную функцию, им была выполнена консервативная миомэктомия лапароскопическим доступом.

По данным ультразвукового исследования толщина эндометрия после лечения Биофлазидом в течение 3 месяцев колебалась в пределах 0,3–0,6 см. А к шестому месяцу у 80% пациенток толщина эндометрии находилась в диапазоне 0,7–0,9 см, а у 20% не превышала 0,7 см. Следует указать на хорошую переносимость препарата. После лечения Биофлазидом ни

в одном случае не наблюдалось возобновления роста миоматозных узлов. С помощью иммуноферментного анализа нами был изучен сыровоточный уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18 и ФНО- $\alpha$ , а также противовоспалительного цитокина ИЛ-10 до и после лечения Биофлазидом в течение 3-х месяцев. Результаты исследования показали, что у женщин с ММ достоверных различий в содержании ИЛ-6 по отношению к данным контрольной группы не наблюдалось ( $21,7 \pm 0,9$  пкг/мл против  $20,8 \pm 0,6$  пкг/мл в контроле), в то время как уровень ИЛ-8 был в 3,5 раза выше значений контрольной группы ( $95,4 \pm 5,6$  пкг/мл против  $26,8 \pm 1,5$  пкг/мл,  $P < 0,05$ ). Уровень ИЛ-18 и ФНО $\alpha$  у женщин с ММ был повышенным 1,2 ( $P < 0,05$ ) и в 3,1 ( $P < 0,01$ ) раза, соответственно, по сравнению с данными контрольной группы. Концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в 2,7 раза превышала показатели контрольной группы ( $29,8 \pm 5,6$  пкг/мл против  $10,9 \pm 0,8$  пкг/мл,  $P < 0,01$ ).

Как показали полученные данные, использование Биофлазида приводит к торможению и существенному регрессу опухоли. Следует отметить, что после лечения Биофлазидом наблюдалась положительная динамика в синтезе, как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов. Препарат обладает иммуностимулирующим эффектом за счет активации клеток моноцитарно-макрофагальной системы, а также обладает детоксицирующим, антиоксидантным, мембранопротекторным действием. Таким образом, приведенные данные свидетельствуют об определенных достижениях Биофлазида в лечении миомы матки. Полученные результаты можно считать обнадеживающими не только в иммунологическом плане, но и в отношении улучшения клинического течения простой формы миомы матки. Следует также отметить снижение частоты рецидивов миомы при проспективном наблюдении в течение двух лет от момента лечения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Буянова С. Н., Шукина Н. А., Бабунашвили Е. Л. Биологическая роль, терапевтический потенциал флавоноидов, витамина D в лечении больных с миомой матки и другие перспективные фармакологические направления // Ж. Российский вестник акушера-гинеколога., 2018;18(5)., С. 36–42. [Buyanova S. N., Schukina N. A., Babunashvili E. L. The biological role, the therapeutic potential of phytoflavonoids, vitamin D in the treatment of patients with

- uterine myoma and other promising pharmacological directions // J. Russian Bulletin of the obstetrician-gynecologist. 2018;18(5)., С. 36–42.]
2. Shushan A., Ben-Bassat H., Mishani E., Laufer N., Klein B. Y., Rojansky N. Inhibition of leiomyoma cell proliferation in vitro by genistein and the protein tyrosine kinase inhibitor TKS050. *Fertility and Sterility*. 2007; 87: 1: 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.05.056>
  3. Miyake A., Takeda T., Isobe A., Wakabayashi A., Nishimoto F., Morishige K.I., Kimura T. Repressive effect of the phytoestrogen genistein on estradiol-induced uterine leiomyoma cell proliferation. *Gynecological Endocrinology*. 2009; 25: 6: 403–409. <https://doi.org/10.1080/09513590902730804>
  4. Di X., Andrews D. M., Tucker C. J., Yu L., Moore A. B., Zheng X., Dixon D. A high concentration of genistein down-regulates activin A, Smad3 and other TGF- $\beta$  pathway genes in human uterine leiomyoma cells. *Experimental and Molecular Medicine*. 2012; 44: 4: 281–292. <https://doi.org/10.1007/s12277-012-9244-4>
  5. Castro L., Gao X., Moore A. B., Yu L., Di X., Kissling G. E., Dixon D. High Concentration of Genistein Induces Cell Death in Human Uterine Leiomyoma Cells by Autophagy. *Expert Opin Environ Biol*. 2016; 5: Suppl 1. <https://dx.doi.org/10.4172/2325-9655.S1-003>

## CYTOKINE DYNAMICS AS A RESULT OF PHYTO-FLAVANOID EXPOSURE IN WOMEN WITH UTERINE MYOMA

© 2019 N. S. Narzullaeva<sup>1</sup>, D. A. Musakhodzhaeva<sup>2\*</sup>, M. M. Abdurakhmanov<sup>1</sup>,  
G. A. Ikhtiyarova<sup>1</sup>

*E-mail: dilym@mail.Ru*

<sup>1</sup>*Bukhara Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino, Bukhara, Uzbekistan;*

<sup>2</sup>*Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences  
of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan*

**Received:** 11.02.2019. **Accepted:** 26.02.2019

A study was conducted to study the effectiveness of the use of the herbal preparation Bioflazid in 28 women with a simple form of uterine fibroids. The levels of pro- (IL-6, IL-8, IL-18, and TNF $\alpha$ ) and anti-inflammatory (IL-10) cytokines in serum were studied. Positive dynamics of both clinical parameters and levels of studied cytokines was revealed.

*Key words:* uterine myoma, cytokines, treatment, Bioflazid

### Authors:

**Narzullaeva N. S.**, ass. of Department of Obstetrics and Gynecology, Bukhara Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino, Bukhara, Uzbekistan;

**Abdurakhmanov M. M.**, DSc., professor Bukhara Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino Bukhara, Uzbekistan;

**Ikhtiyarova G. A.**, PhD, Department of Obstetrics and Gynecology, Bukhara Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino, Bukhara, Uzbekistan;

**Musakhodzhaeva D. A.**, ✉ DSc, Head of the Laboratory of Immunology of Reproduction of Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan. **E-mail:** dilym@mail.ru

## ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЕ ПОДХОДЫ К ТАРГЕНТНОЙ ИНТЕРФЕРОНО- И ИММУНОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ АТИПИЧНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗЫВАЕМОЙ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР

© 2019 г. И. В. Нестерова<sup>1,5\*</sup>, Е. О. Халтурина<sup>2,5</sup>, О. Г. Степанов<sup>3</sup>,  
В. В. Малиновская<sup>4</sup>

\*E-mail: inesterova1@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый московский медицинский университет им. И. М. Сеченова  
(Сеченовский Университет), Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора РФ, Москва, Россия;

<sup>4</sup>Федеральный научный центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, Москва, Россия;

<sup>5</sup>Академия МЕДСИ, Москва, Россия

Поступила: 19.02.2019. Принята: 05.03.2019

Проблема эффективной терапии атипичной хронической активной ВЭБ инфекции (АХА-ВЭБИ), ассоциированной с синдромом хронической усталости, является чрезвычайно актуальной в настоящее время. Проведенное исследование позволило выявить особенности дефектного функционирования системы противовирусной иммунной защиты, а также нарушения в системе интерферонов у пациентов, страдающих АХА-ВЭБИ. Определены основные клинические синдромы, ассоциированные с АХА-ВЭБИ, уточнены иммунопатогенетические особенности, на фоне которых возникло и прогрессирует заболевание, разработаны алгоритмы комплексной диагностики, в том числе иммунодиагностики и терапии. Разработана и апробирована концепция дифференцированной, комплексной, иммунопатогенетической терапии.

**Ключевые слова:** герпесвирусная инфекция, противовирусная защита, интерферон, иммуно-терапия

DOI: 10.31857/S102872210006923-0

Адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов Минздрава РФ, Нестерова Ирина Вадимовна. Тел. : 8 916 187-73-41.

E-mail: inesterova1@yandex.ru

Авторы:

**Нестерова И. В.**, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической иммунологии и аллергологии Академии МЕДСИ, Москва, Россия; профессор кафедры аллергологии и иммунологии, ФГАБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки России, Москва, Россия;

**Халтурина Е. О.**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый московский медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия; доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии Академии МЕДСИ, Москва, Россия;

**Степанов О. Г.**, старший научный сотрудник Лаборатории иммунологии и биотехнологии ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора РФ, Москва, Россия

**Малиновская В. В.**, заведующая лабораторией Онтогенеза интерферонов, Федеральный научный центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, Москва, Россия.

## ВВЕДЕНИЕ

Атипичная хроническая активная вирусная инфекция, вызываемая вирусом Эпштейн-Барр (АХА-ВЭБИ) и часто сопровождаемая развитием синдрома хронической усталости (СХУ) является мультифакториальным состоянием, приводящим к развитию выраженной ко-морбидности. В настоящее время инфекции, вызываемые персистирующими вирусами, и в частности вирусами, относящимися семейству герпес-вирусов, представляют одну из наиболее сложных и актуальных проблем современной медицины, что связано с их широким распространением, атипичным течением и особенностями иммунопатогенеза. В основе развития хронических, атипичных форм ВЭБ инфекции лежит нарушение функционирования системы противовирусной иммунной защиты, которое может

носить как врожденный, так и приобретенный характер и часто связано с поражением как клеточного, так и гуморального звеньев иммунной системы в различных сочетаниях и дефектами системы интерферонов. Сложности диагностики, связанные с наличием активных атипичных форм этой инфекции, малая осведомленность врачей всех специальностей о наличии подобных атипичных форм хронической активной ВЭБ инфекции, а также отсутствие обоснованных, дифференцированных иммунопатогенетических подходов к их терапии и профилактике, приводят к несвоевременной постановке диагноза и зачастую к развитию тяжелых форм этой инфекции, сопровождающихся ко-инфекциями бактериально-вирусной этиологии, аутоиммунной патологией, развитием лимфопролиферативных заболеваний, ведущих к значительному снижению качества жизни пациентов, а зачастую и к инвалидизации.

**Целью исследования** явилось создание программ дифференцированной интерфероно- и иммунотерапии АХА-ВЭБИ, разработанных с учетом особенностей вариантов нарушений механизмов иммунной противовирусной защиты.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находились 88 пациентов, обоого пола, в возрасте от 23 до 60 лет, страдающих хроническими моно- и микст-герпесвирусными инфекциями. Исследование одобрено комиссией по вопросам этики, у всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) и на обработку персональных данных. В комплекс исследований помимо традиционных методов (сбор анамнеза, методы физикального обследования, ОАК и пр.) для детекции герпес-вирусных инфекций использовались методы серодиагностики (IgM VCA EBV, IgG VCA EBV, IgM CMV, IgG CMV IgM HSV1/2, IgG HSV1/2) и метод ПЦР real time для обнаружения генома вирусов в биоматериалах (кровь, слюна, моча, соскоб с миндалин и задней стенки глотки). Для оценки функционирования основных механизмов противовирусного иммунитета и системы интерферонов использовались методы проточной цитофлуориметрии и ИФА. Статистический анализ произведен при помощи программного пакета Microsoft Excel 2010.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных продемонстрировал, что среди всех моно-герпес-вирусных инфекций, моно-ВЭБ-инфекцией страдает 55.5%. Отмечено доминирование ВЭБ в 48.1% случаев у пациентов с микст-герпес-вирусными инфекциями, которые были выявлены в 63.7% от всего числа наблюдений. У всех исследуемых пациентов имели место клинические критерии, характерные для АХА ВЭБИ, более выраженные при микст-герпетической инфекции, к которым относятся: длительное ощущение выраженной слабости, хроническая усталость, потливость, непостоянные боли в горле, в мышцах и суставах, головные боли, субфебрильная температура, лимфоаденопатия, нарушение сна, снижение памяти, внимания, интеллекта, реже – психогенная депрессия. Кроме того, у всех пациентов отмечались возвратные респираторные инфекции в виде повторных эпизодов ОРВИ, хронические рецидивирующие герпес-вирусные инфекции (ВПГ1, ВПГ2), хронические ЦМВ и ВЧГ6 инфекции в стадии репликации вируса, хронические бактериальные и грибковые инфекции. Анализ имеющихся сопутствующих заболеваний позволил выделить 5 основных синдромов, ассоциированных с АХА-ВЭБИ: синдром хронической усталости (СХУ), инфекционный, аллергический, аутоиммунный и дисбиотический синдромы.

Среди группы пациентов, страдающих моно-герпесвирусными инфекциями лидирующее положение занимает аллергический синдром (55%), в то время как в структуре заболеваемости пациентов с микст-герпесвирусными инфекциями преобладают синдром хронической усталости (85%) и инфекционный синдром (68%).

В зависимости от вида нарушений в иммунной системе и в системе интерферонов были разработаны 2 различные программы интерфероно- и иммунотерапии для 2 групп пациентов с АХА-ВЭБИ.

У пациентов первой группы (71 пациент) были выявлены дефицит  $CD3^+CD8^+$  Т лимфоцитов и дефекты активации  $CD3^+CD8^+$ : дефицит или неадекватный ответ на вирусную инфекцию  $CD3^+CD8^+CD25^+$  и/или  $CD3^+CD8^+HLA-DR$ , нейтропения, нарушение индуцированной продукции ИФН альфа и ИФН гамма в 100% случаев. Разработанная для первой группы пациентов программа дифференцированной терапии включала: использование синтетических противовирусных препаратов прерывистыми 10-ти

дневными курсами 1 раз в месяц (Фамциклоvir или Валциклоvir), для коррекции нейтропении – иммуномодулирующую терапию глюкозаминилмурамилдипептидом (GMDP) – Ликопид 3 мг/сутки, прерывистыми 10-ти дневными курсами 1 раз в месяц, ежемесячно; для восстановления системы ИФН проводилась локальная (обработка слизистых носоглотки, миндалин гелем Виферон) и системная пролонгированная терапия рекомбинантным  $INF\alpha 2$  в комбинации с антиоксидантами в градуированном режиме с постепенным снижением дозы, длительностью 3 месяца.

У пациентов второй группы (17 пациентов) были выявлены: преобладающий дефицит количества естественных «киллерных» клеток  $CD3^+CD16^+CD56^+$  и/или  $CD3^+CD16^+CD56^-$  и их функциональной активности (дефицит ИФН гамма), дефицит ЕКТ- $CD3^+CD56^+$ , дефицит Тц- $CD3^+CD8^+$  лимфоцитов, дефицит IgG, дефицит индуцированной продукции ИФН альфа в 100% случаев. Разработанная программа интерфероно- и иммунотерапии для этой группы пациентов включала: 0.005% раствор Имунофана – гексапептид – аналог гормона тимуса, таргетное действие которого направлено на коррекцию ЕКТ и Тц – 10-дневные курсы х 1 раз в месяц в течение 3 месяцев; для коррекции ЕКК и подавления репликации герпесвирусов – гроприносин- изопринозин из расчета 50 мг/кг/мг/сутки – 10-дневные курсы х 1 раз в месяц, в чередовании с Имунофаном; для восстановления системы ИФН проводилась локальная (обработка слизистых носоглотки, миндалин гелем Виферон) и системная пролонгированная терапия рекомбинантным  $INF\alpha 2$  в комбинации с антиоксидантами в градуированном режиме с постепенным снижением дозы, длительностью 3 месяца.

На фоне проведения дифференцированной таргетной интерфероно- и иммунотерапии в обе-

их исследуемых группах в 100% случаев были получены позитивные клинические эффекты: достигнута полная регрессия СХУ, восстановилась работоспособность, нормализовался сон, регрессировали боли в горле, восстановилась память, процессы запоминания, значительно улучшилось настроение и качество жизни пациентов. Результатом проведенной дифференцированной таргетной интерфероно- и иммунотерапии, базирующейся на выявленных особенностях иммунопатогенеза АХА-ВЭБИ, явилось восстановление нормального функционирования нарушенных до лечения основных механизмов иммунной противовирусной защиты и системы интерферонов. Через 3 месяца после окончания интерфероно- и иммунотерапии проведен контроль репликативной активности ВЭБ (ПЦР real time) в крови, в соскобе с миндалин и в слюне – ВЭБ не был выявлен.

Таким образом, использование разработанных нами дифференцированных программ интерфероно- и иммунотерапии позволило восстановить контроль иммунной системы над ВЭБ инфекцией, достичь прекращения репликативной активности ВЭБ, результатом чего явился регресс клинических проявлений болезни, улучшение качества жизни пациентов и значительное снижение степени риска развития возможных аутоиммунных и онкологических заболеваний.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Nesterova I.V., Nguen T.D.L., Khalturina E.O., Malinovskaya V.V.* Phenotypical Transformations of  $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4^+$  Subpopulation of Neutrophilic Granulocytes in Chronic Herpes-viral Infections and their Experimental Modulation by Recombinant  $IFN\alpha 2b$  Asthma, COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: Innovative Technologies Volume 10–2018 P. 277–285.
2. *Levin L., Munger K., O'Reilly E., Falk K., Ascherio A.* // Primary infection with Epstein-Barr virus and risk of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2010. 67: 824–830.

**DIFFERENTIATED APPROACHES TO TARGETED INTERFERON  
AND IMMUNOTHERAPY OF ATYPICAL CHRONIC ACTIVE INFECTION  
CAUSED BY EPSTEIN-BARR VIRUS**

© 2019 I. V. Nesterova<sup>1,5\*</sup>, E. O. Khalturina<sup>2,5</sup>, O. G. Stepanov<sup>3</sup>,  
V. V. Malinovskaya<sup>4</sup>

\*E-mail: inesterova1@yandex.ru

<sup>1</sup>The Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow (Sechenov University), Moscow, Russia;

<sup>3</sup>The state Institution of science "Central research Institute for Epidemiology"  
of Rospotrebnadzor RF, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>Federal scientific center of epidemiology and Microbiology. N. F. Gamalei, Moscow, Russia

<sup>5</sup>The MEDSI Academy, Moscow, Russia

**Received:** 19.02.2019. **Accepted:** 05.03.2019

The problem of effective therapy of atypical chronic active EBV infection associated with chronic fatigue syndrome (AHA-VEBI) is extremely relevant at the present time. The study revealed the features of the defective functioning of the system of antiviral immune protection, as well as violations in the interferon system in patients suffering from AHA-WEBI. The main clinical syndromes associated with AHA-WEBI were determined, immunopathogenetic features were clarified, the disease arose and progressed against the background, algorithms of complex diagnostics, including immunodiagnosis, and therapy were developed. The concept of differentiated, complex, etio- and immunopathogenetic therapy was developed and tested.

*Key words:* herpes virus infection, antiviral defense, interferon, immunotherapy

**Authors:**

**Nesterova I. V.**, ✉ Doctor of Medical Sciences (MD), Professor, Professor of the Department of Allergology and Immunology, Federal Budget Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Peoples' Friendship University of Russia» of Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russia; Head of the Department of clinical immunology and allergology of MEDSI Academy, Moscow, Russia. **E-mail:** inesterova1@yandex.ru;

**Khalturina E. O.**, Ph.D. (Medical Science), Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow (Sechenov University), Moscow, Russia; the doctor allergologist – immunologist, the leading specialist in Clinical and diagnostic center "MEDSI on Belorusskaya», Moscow, Russia;

**Stepanov O. G.**, Researcher, Central Research Laboratory of immunology and biotechnology of the Central research INSTITUTE of Epidemiology «Rospotrebnadzor», Moscow, Russia;

**Malinovskaya V. V.**, head of the laboratory of ontogenesis of interferons Federal scientific center of epidemiology and Microbiology N. F. Gamalei, Moscow, Russia.

## ДИСФУНКЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЦЕРВИЦИТЕ ГОНОКОККОВОЙ ЭТИОЛОГИИ

© 2019 г. Ю. В. Нефедьева\*, О. Р. Зиганшин

\*E-mail: women200681@mail.ru

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

Поступила: 13.03.2019. Принята: 26.03.2019

В работе установлен характер иммунных нарушений на системном и локальном уровнях у женщин с хронической гонококковой инфекцией.

**Ключевые слова:** гонококковая инфекция, иммунные нарушения

DOI: 10.31857/S102872210006924-1

Адрес: 454092, Челябинск, ул. Воровского, д. 64, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра дерматовенерологии. Нефедьева Юлия Владимировна.

Тел./факс: +7(351) 2320013, 89124729360 (моб.).

E-mail: women200681@mail.ru

**Авторы:**

**Нефедьева Ю. В.**, к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия;

**Зиганшин О. Р.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой дерматовенерологии «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск, Россия.

Несмотря на снижение заболеваемости в Челябинской области на 40,9%, в 2017 г. (230 случаев на 100 000 населения), в сравнении с 2016 г. (389 случаев на 100 000 населения), гонококковая инфекция остается социально значимой, в связи с неблагоприятным влиянием на репродуктивное здоровье населения [1, 2]. Инвазия гонококков сопровождается как гуморальной, так и клеточной иммунными реакциями, что способствует развитию вторичного иммунодефицита, преимущественно выражающегося в снижении напряженности клеточного звена иммунитета, неспецифических факторов защиты, в том числе активности фагоцитоза [3].

**Цель исследования:** оценить показатели периферической крови и цервикальной слизи у женщин при хронических цервицитах гонококковой этиологии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено краткосрочное, проспективное, рандомизированное исследование у 90 женщин от 18 до 45 лет (средний возраст  $26,27 \pm 0,13$ ), больных гонококковой инфекцией нижних отделов мочеполового тракта без абсцедирования парауретральных и придаточных желез. Женщины с соматической патологией, с другими инфекциями, передаваемыми половым путем, больные, использовавшие иммунопрепараты или антибактериальные препараты в течение последних шести месяцев, участвующие в других испытаниях не вошли в число обследуемых. Для диагностики заболевания применяли бактериоскопический и бактериологический методы (микроскопия препарата, окрашенного по Граму, культуральное исследование). Контрольную группу составили 30 здоровых женщин без урогенитальных инфекций. В периферической крови определялся уровень различных субпопуляций лимфоцитов, активность, интенсивность фагоцитоза, НСТ-тест, иммуноглобулины А, М, G, цитокины. В цервикальной слизи оценивали общее количество лейкоцитов, абсолютное и относительное содержание жизнеспособных клеток в 1 л секрета, функциональную активность нейтрофилов. Также определялась концентрация цитокинов (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, РАИЛ-1, ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ ) в цервикальной слизи и периферической крови. Использован

дискриминантный анализ для выявления наиболее информативных иммунологических показателей периферической крови и цервикальной слизи у женщин с хронической гонококковой инфекцией.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В процессе исследования было установлено, что в цервикальной слизи инфицированных женщин по сравнению с показателями здоровых женщин, увеличивалось абсолютное количество лейкоцитов, увеличивалась НСТ-спонтанная и НСТ-индуцированная активность нейтрофилов, а функциональный резерв нейтрофилов достоверно снижался. В ходе исследования достоверно отмечено снижение активности и интенсивности фагоцитоза в цервикальной слизи у женщин с хроническими цервицитами гонококковой этиологии. Обнаружено достоверное снижение содержания ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в исследуемом секрете и возникновение их относительного дефицита, что, возможно, связано с повышенным потреблением провоспалительных цитокинов в очаге воспалительного процесса. Содержание рецепторного антагониста ИЛ-1 в группах женщин с гонококковой инфекцией, было достоверно повышенным. У всех инфицированных женщин, концентрации ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$  в цервикальном секрете были снижены, а уровень ИЛ-8 был достоверно выше показателя здоровых женщин. При оценке показателей клеточного и гуморального иммунитета в периферической крови у здоровых женщин и больных с хронической гонококковой инфекцией установлено, что у пациенток с хроническими гонорейными цервицитами достоверно увеличивалось содержание нейтрофилов, моноцитов, иммуноглобулинов класса А, ЦИК, CD95<sup>+</sup> лимфоцитов, РАИЛ-1, ИЛ-8, повышалась спонтанная НСТ активность нейтрофилов, лизосомальная активность. При этом достоверно снижалось общее количество лейкоцитов, процентное содержание лимфоцитов, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, соотношение CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, а также активность и интенсивность фагоцитоза, С3 компонент комплемента, ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ .

Пошаговый метод дискриминантного анализа выявил 12 наиболее информативных показателей: палочкоядерные нейтрофилы, CD8<sup>+</sup> лимфоциты, CD20<sup>+</sup> лимфоциты, HLA-DR лимфоциты, интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, НСТ спонтанный индекс, общий IgM, С3 компонент

комплемента, РАИЛ-1 периферической крови; НСТ-тест спонтанный Нф интенсивный цервикальной слизи, количество лейкоцитов во влагалище, гнойные выделения. Именно эти показатели были включены в математическую модель. Результатом дискриминантного анализа явилась дискриминирующая функция вида:  $F(x) = -23,36 + 0,499 \times \text{количество палочкоядерных нейтрофилов} - 0,279 \times \text{количество CD8 лимфоцитов} + 0,265 \times \text{количество CD20 лимфоцитов} - 0,109 \times \text{HLA-DR} + 4,972 \times \text{интенсивность фагоцитоза нейтрофилов} + 12,009 \times \text{НСТ спонтанный индекс} - 9,012 \times \text{общий IgM} + 4,286 \times \text{С3 компонент комплемента} + 89,405 \times \text{РАИЛ-1} - 14,379 \times \text{НСТ-тест спонтанный нейтрофилов интенсивный цервикальной слизи} - 0,08 \times \text{количество лейкоцитов во влагалище} + 1,487 \times \text{выделения гнойные}$ . Цель дальнейшей программной обработки результатов заключалась в вычислении параметров дискриминантной функции, определяющей работоспособность модели. Для изучаемой группы женщин полученное значение лямбда-Уилкса составило 0,152, при уровне значимости  $p < 0,001$ . В данной модели процент правильно классифицированных случаев составил 97,8%.

Таким образом, наиболее информативными показателями, свидетельствующими о дисфункции иммунной системы при хроническом цервиците гонококковой этиологии, являются общее количество Нф, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, HLA-DR лимфоцитов, интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, индекс НСТ спонтанного, содержание IgM, С3 компонента комплемента, РАИЛ-1 в периферической крови; НСТ-тест спонтанный Нф в цервикальной слизи, количество лейкоцитов во влагалище, гнойные выделения. Разработанная с помощью дискриминантного анализа диагностическая модель, позволяет на основании исследования иммунологических показателей поставить диагноз хронической гонококковой инфекции у женщин с точностью 97,8%.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. – 5-е изд., перераб. и доп. 2016; 228–234. [Federal clinical recommendations. Dermatovenereology of 2015: Skin diseases. Infections, sexually transmitted. – the 5th prod., reslave. and additional 2016; 664–678.]
2. Зиганшин О. Р., Безпалько Ю. В., Ковалев Ю. Н. Эффективность применения препарата витапрост у пациентов с бесплодием, развившемся на фоне

- хронического простатита. Урология. 2010, 6; 50–54. [Ziganshin O. R., Bezpal'ko Yu. V., Kovalev Yu. N. Vitaprost efficacy in patients with infertility caused by chronic prostatitis. Urology. 2010, 6; 50–54].
3. Безпалько Ю. В., Зиганшин О. Р., Рышков В. Л., Колобов А. А., Симбирцев А. С. Бестим и Беталейкин в комплексной терапии хронической гонокок-

ковой инфекции мочеполовых органов у женщин. Цитокины и воспаление. 2008, 7 (4), 58–62. [Bezpal'ko U. V., Ziganshin O. R., Dolgoushin I. I., Ryshkov V. L., Kolobov A. A., Simbirtsev A. S. Bestim and Betaleukin efficiency in the combination therapy of chronic urogenital gonococcal infection in women. Cytokines and inflammation. 2008, 7 (4), 58–62].

## DYSFUNCTION OF THE IMMUNE SYSTEM VALUES IN CHRONIC CERVICITIS GONOCOCCAL ETIOLOGY

© 2019 J. V. Nefed'eva\*, O. R. Ziganshin

\*E-mail: women200681@mail.ru

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Received: 13.03.2019. Accepted: 26.03.2019

In work character immune disturbances at system and local levels at sick of women with gonococcal infection.

*Key words:* gonococcal infection, immune disturbances

### Authors:

Nefed'eva J. V., ✉ PhD, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. E-mail: women200681@mail.ru;  
Ziganshin O. R., PhD, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia.

## ИММУНОЭНДОКРИННЫЕ И ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВОМ АДАПТАЦИИ С ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНОЙ СИМПТОМАТИКОЙ

© 2019 г. В. Б. Никитина\*, О. А. Лобачева, М. Ф. Белокрылова, В. А. Рудницкий, Е. М. Епанчинцева

\*E-mail: valentina08@sibmail.com

НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского  
медицинского центра Российской академии наук», Томск, Россия

Поступила: 13.03.2019. Принята: 29.03.2019

По результатам психологического и иммуноэндокринного обследования пациентов с расстройством адаптации до начала лечения можно прогнозировать эффективность стандартной психофармакотерапии. Высокий уровень реактивной, личностной тревожности и концентрации пролактина, низкие значения количества натуральных клеток-киллеров и фагоцитарного индекса нейтрофилов можно рассматривать в качестве прогностических критериев малоэффективного лечения расстройств адаптации.

**Ключевые слова:** расстройства адаптации, натуральные клетки-киллеры, фагоцитарный индекс нейтрофилов, пролактин, реактивная и личностная тревожность, эффективность терапии

DOI: 10.31857/S102872210006925-2

Адрес: 634014 Томск, ул. Алеутская, д. 4, НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, лаборатория клинической психонейроиммунологии и нейробиологии. Никитина Валентина Борисовна.

Тел.: +7(3822)72-44-15, +7906 95401 14 (моб.).

E-mail: valentina08@sibmail.com

**Авторы:**

**Никитина В. Б.**, д.м.н., заведующая лабораторией клинической психонейроиммунологии и нейробиологии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Лобачева О. А.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Белокрылова М. Ф.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения пограничных состояний НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Рудницкий В. А.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения пограничных состояний НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Епанчинцева Е. М.**, к.м.н., заведующая первым клиническим психиатрическим отделением клиники НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Успешная персонализированная терапия больных с непсихотическими психическими

расстройствами базируется на данных клинико-психопатологического обследования с использованием объективных параклинических прогностических критериев, тесно связанных с патогенетическими механизмами выявленной патологии. При формировании психических расстройств нарушения функции иммунитета и психонейроиммуноэндокринного взаимодействия утяжеляют клиническую картину заболевания, нередко обуславливают терапевтическую резистентность, нежелательные побочные явления психофармакотерапии, снижают эффективность лечения пациентов [1, 2]. Комплекс информативных психологических и иммунологических критериев, отражающих состояние регуляторных систем организма, позволяет повысить контроль за качеством оказания специализированной медицинской помощи больным психическими расстройствами: объективизировать диагностику психической дезадаптации, уточнить прогноз течения заболевания, своевременно выявить предикторы неэффективного лечения и определить выбор терапевтической тактики.

**Цель исследования** — разработка критериев прогноза эффективности лечения больных расстройством адаптации с тревожно-депрессивной симптоматикой до начала лечения, что позволит оптимизировать существующие реабилитационные программы при данных расстройствах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено клинико-иммунобиологическое и психологическое обследование 87 женщин (средний возраст  $44,5 \pm 10,0$  лет), проходивших курс лечения в клинике НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. Диагностическую оценку и клиническую верификацию проводили согласно критериям МКБ-10 в рамках рубрик F43.22 (Расстройство адаптации: смешанная тревожная и депрессивная реакция) и F43.23 (Расстройство адаптации с преобладанием нарушения других эмоций) с ведущей тревожно-депрессивной симптоматикой.

Пациентам проводилась комплексная психотерапевтическая терапия. Динамика состояния в ходе лечения оценивалась с использованием «Шкалы оценки эффективности терапии» CGI (подшкала CGI-C: «Общая оценка динамики психического состояния»), согласно которой пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа (53 человека) — с существенным улучшением психического состояния; 2-я группа (34 человека) — с незначительным улучшением психического состояния. Уровень личностной и реактивной тревожности определяли по «Шкале самооценки» Спилбергера-Ханиным.

Имунобиологическое исследование включало: фенотипирование лимфоцитов и их субпопуляций методом проточной цитометрии на цитометре FACSCalibur (BD, США) с использованием набора реактивов MultiTEST IMK Kit Reagent (BD, США); определение фагоцитарной активности лейкоцитов; концентрацию кортизола, пролактина, тиреотропного гормона (ТТГ) и свободных фракций гормонов щитовидной железы Т3 и Т4 определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов ИФА-БЕСТ (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). В качестве контроля приняты данные 68 здоровых женщин.

Статистический анализ проводили с использованием пакета STATISTICA версия 12.0 для Windows, применяли U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости принимался равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнительной характеристике психологических и иммунобиологических показателей выявлены достоверные изменения в обследованных группах пациентов по отношению к контролю: повышение балльных значений реактивной и личностной тревожности; снижение содержания параметров Т-клеточного звена иммунитета; высокая концентрация кортизола и пролактина, снижение концентрации ТТГ. Наиболее значимыми особенностями во второй группе пациентов (незначительное улучшение и отсутствие эффекта) по сравнению с пациентами первой группы (с существенным улучшением психического состояния) являются более высокие значения реактивной ( $58,40 \pm 1,50$  и  $44,48 \pm 0,81$  баллов,  $p=0,000022$ ) и личностной ( $54,98 \pm 1,25$  и  $47,78 \pm 1,03$  баллов,  $p=0,000001$ ) тревожности, концентрации пролактина ( $667,56 \pm 64,97$  и  $426,84 \pm 46,21$  мМЕ/л,  $p=0,009863$ ), более низкие значения количества натуральных клеток-киллеров (CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) ( $9,24 \pm 0,55$  и  $12,98 \pm 0,71\%$ ,  $p=0,000297$ ) и фагоцитарного индекса нейтрофилов ( $51,32 \pm 2,32$  и  $64,05 \pm 2,30\%$ ,  $p=0,000318$ ).

Выбор уровня реактивной и личностной тревожности, концентрации пролактина, количества НК-клеток и фагоцитарного индекса нейтрофилов основан на роли психологических, биологических и социальных факторов в развитии невротических, связанных со стрессом расстройств, их взаимодействии в процессе возникновения и дальнейшего развития заболевания. Реактивная тревожность — это показатель интенсивности переживаний, которые возникают по отношению к типичным событиям. Личностная тревожность — базовая черта личности, которая формируется и закрепляется в раннем детстве и представляет собой готовность человека к переживанию страха и волнений по поводу широкого круга субъективно значимых явлений. Иммуномодулирующее действие пролактина и биологическая роль увеличения секреции гормона при стрессе связана с его участием в предотвращении негативного действия других стресс-реализующих факторов на организм [3]. Натуральные киллеры охарактеризованы как лимфоциты врожденного иммунитета, вовлечены в широкий спектр биологических процессов в организме, продуцируя большое количество цитокинов и хемокинов, участвуют в регуляции адаптивного иммунного ответа [4]. Система фагоцитоза также относится к показателям врожденного иммунитета. Нейтрофильные гра-

нулоциты совместно с моноцитами формируют неспецифическую резистентность организма, исполняя функцию «первой линии обороны» в борьбе с чужеродными агентами. Все проявления приобретенного иммунитета реализуются в полном объеме с участием фагоцитов [5].

Полученные данные позволяют рассматривать вышеуказанные психологические и иммунобиологические показатели в качестве критериев прогноза эффективности терапии пациентов с расстройством адаптации с тревожно-депрессивной симптоматикой. На основе этих исследований нами предложен способ прогнозирования эффективности терапии расстройства адаптации с тревожно-депрессивной симптоматикой у пациентов до начала лечения, на который получен патент РФ на изобретение № 2677867.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. McEwen B.S. From serendipity to clinical relevance: How clinical psychology and neuroscience converged to illuminate psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*. 2018, S0306–4530(18), 30580–30588.
2. Никитина В. Б., Лобачева О. А., Ветлугина Т. П., Аксенов М. М., Лебедева В. Ф. Нейроиммуноэндокринные нарушения при психических расстройствах и болезнях зависимости. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2018, 2(99), 45–55. [Nikitina V. B., Lobacheva O. A., Vetlugina T. P., Aksenov M. M., Lebedeva V. F. Neuroimmunoendocrine dysfunction in mental disorders and addictions. *Siberian Journal of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2018, 2(99), 45–55.]
3. Labad J., Stojanovic-Pérez A., Montalvo I., Solé M., Cabezas Á., Ortega L., Moreno I., Vilella E., Martorell L., Reynolds R. M., Gutiérrez-Zotes A. Stress biomarkers as predictors of transition to psychosis in at-risk mental states: roles for cortisol, prolactin and albumin. *J. Psychiatr Res*. 2015, 60, 163–169.
4. Абакушина Е. В., Кузьмина Е. Г., Коваленко Е. И. Основные свойства и функции НК-клеток человека. *Иммунология*. 2012., 4, 220–225. [Abakushina E. V., Kuzmina E. G., Kovalenko E. I. Basic properties and functions of human NK-cells. *Immunology*. 2012, 4, 220–225.]
5. Адо А. Д., Маянский А. Н. Современное состояние учения о фагоцитозе. *Иммунология*. 1983, 1, 20–26. [Ado A. D., Mayansky A. N. The current state of the study of phagocytosis. *Immunology*. 1983, 1, 20–26.]

### IMMUNOENDOCRINE AND PSYCHOLOGICAL CRITERIA OF PREDICTING THE EFFICIENCY OF THERAPY IN PATIENTS SUFFERING FROM ADJUSTMENT DISORDER WITH ANXIETY-DEPRESSIVE SYMPTOMS

© 2019 V. B. Nikitina\*, O. A. Lobacheva, M. F. Belokrylova, V. A. Rudnitsky, E. M. Epanchintseva

\*E-mail: valentina08@sibmail.com

Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

Received: 13.03.2019. Accepted: 29.03.2019

According to the results of psychological and immunoendocrine examination of patients with adjustment disorder prior to treatment, it is possible to predict the efficiency of standard psychopharmacotherapy. A high level of state, trait anxiety and prolactin concentration, low values of the number of natural killer cells and the phagocytic index of neutrophils can be considered as predictors for an ineffective treatment of adjustment disorders.

*Key words:* adjustment disorders, natural killer cells, phagocytic index of neutrophils, prolactin, state and trait anxiety, efficiency of therapy

#### Authors:

**Nikitina V. B.**, ✉ MD, Head of the Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Mental Health Research Institute of TNRMC, Tomsk, Russia. E-mail: valentina08@sibmail.com;

**Lobacheva O. A.**, MD, lead researcher of the Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Mental Health Research Institute of TNRMC, Tomsk, Russia;

**Belokrylova M. F.**, MD, lead researcher of the Borderline States Department, Mental Health Research Institute of TNRMC, Tomsk, Russia;

**Rudnitsky V. A.**, MD, lead researcher of the Borderline States Department, Mental Health Research Institute of TNRMC, Tomsk, Russia;

**Epanchintseva E. M.**, PhD, Head of the 1st Clinical Psychiatric Unit, Mental Health Research Institute of TNRMC, Tomsk, Russia.

## СИСТЕМА ИНТЕРФЕРОНОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В ПРОЦЕССЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

© 2019 г. Т. П. Оспельникова<sup>1\*</sup>, О. В. Морозова<sup>2</sup>, Н. А. Михайлова<sup>1</sup>, Ф. И. Ершов<sup>2</sup>

\*E-mail: ospelnikovat@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Проведен анализ интерферонов (IFN) I ( $\alpha$ ,  $\beta$ ), II ( $\gamma$ ) и III ( $\lambda$ ) типов методами ОТ-ПЦР-РВ, ИФА, определение биологической активности IFN в динамике лечения хронических иммуноопосредованных заболеваний иммуномодулирующими препаратами. Разной степени выраженности сниженная биологическая активность IFN I и II типов при хронических урогенитальных инфекциях и бронхиальной астме (БА) корригировалась применением в базисной терапии индукторов IFN. У больных БА выявлен дисбаланс РНК IFN I и III типов. Включение циклоферона уменьшало в 2,5 раза частоты обострений БА в течение года. В результате лечения больных рассеянным склерозом (РС) рекомбинантным IFN $\beta$ -1a более 12 мес. происходило снижение повышенной экспрессии генов IFN I и белков IFN II типов, стабилизация неврологического состояния. Таким образом, при хронических инфекциях и БА дефицит и дисбаланс IFN компенсируется введением индукторов IFN. Напротив, снижение повышенных уровней РНК IFN при РС достигается при длительном введении рекомбинантного препарата IFN $\beta$ -1a, действующего, возможно, по принципу обратной регуляции.

**Ключевые слова:** хронические заболевания, урогенитальные инфекции, бронхиальная астма, рассеянный склероз, интерфероны I, II, III типов

DOI: 10.31857/S102872210006926-3

**Адрес:** 105064 Москва, Малый Казённый пер., д. 5А, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», лаборатория интерферонов. Оспельникова Татьяна Петровна. Тел. 89035213260 (моб).  
**E-mail:** ospelnikovat@mail.ru

### Авторы:

**Оспельникова Т. П.**, к.м.н., зав. лаб. интерферонов ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия; orcid.org/0000-0002-1580-6096;

**Морозова О. В.**, д.б.н., в.н.с. лаб. иммунологии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, Москва, Россия; orcid.org/0000-0001-9630-0777;

**Михайлова Н. А.**, д.м.н., проф., рук. научного направления Института по иммунобиотехнологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

**Ершов Ф. И.**, академик РАН, д.м.н., проф., главный научный сотрудник ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, Москва, Россия; orcid.org/0000-0002-4780-7560.

### ВВЕДЕНИЕ

Более 300 цитокинов вместе с нервной и эндокринной системами участвуют в регуляции

физиологических функций и защитных реакций организма [1]. Интерфероны (IFN), открытые первыми из цитокинов [2], обладают противовирусными, иммунорегуляторными и гормоноподобными свойствами. IFN представлены тремя типами: I ( $\alpha/\beta$ ), II ( $\gamma$ ), III ( $\lambda$ ). Полиэтиологичность действия IFN позволяет применять их для лечения инфекционных, аллергических, аутоиммунных, онкологических и других заболеваний.

**Цель работы:** сравнение трёх типов IFN при мониторинге лечения хронических инфекционных, аллергических и аутоиммунных заболеваний индукторами IFN и рекомбинантным препаратом IFN $\beta$ -1a.

### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в 3-х основных группах пациентов, среди них 66 женщин с хроническими гинекологическими заболеваниями

(ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции», Москва), которые принимали лечение амиксином по 2 таблетки (0,250 г) 2 раза в неделю в течение 2-х недель или циклофероном в/м по 250 мг (2 мл) 1 раз в день на 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18-сутки на курс 10 инъекций на фоне базисной терапии. Обследовали также 30 пациентов с атопической БА и длительностью заболевания 6,4±2,2 лет. (ГКБ № 57, Москва), 15 из которых получили в дополнение к базисной терапии лечение циклофероном по схеме: циклоферон 0,15 г 2 т. × 1 р/день согласно инструкции к препарату в курсовой дозе 3 г. В группу исследования вошли также 18 пациентов с ремитирующей формой РС, среднего возраста 35,7±9,5 лет и длительностью заболевания от 3-х до 11 лет, находящихся на лечении в отделении неврологии МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского (Москва). Лечение больных РС проводили рекомбинантным препаратом IFN «Генфаксон (IFNβ-1a)», 3 раза в неделю п/к. Группу контроля составили 33 здоровых донора соответствующего возраста и 15 больных БА на фоне базисной терапии.

Экспрессию генов IFN α, β, γ, λ в мононуклеарных клетках крови больных и здоровых доноров анализировали методом ОТ-ПЦР-РВ [3], определение белков IFNα, β, γ, λ в сыворотке крови – методом ИФА. Биологическую активность IFNα/β, γ определяли методом «IFN статус» [4].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. При хронических урогенитальных инфекциях обнаружено снижение биологической активности (в ед/мл) IFN I (264,7±38,8) и II (20,4±6,5) типов в сравнении с данными в контроле (960±320 и 96±32). После терапии с амиксином выявлен рост активности IFN I типа до средних значений (706,7±84,4), IFN II типа – до (73,3±14,0); с циклофероном – (672±124,2) и (56,9±5,1), соответственно. Рост активности IFN приводил к улучшению клинического состояния пациенток;

2. У больных БА анализ экспрессии генов IFN показал дисбаланс РНК IFN I и III типов при отсутствии РНК IFNβ, детекции РНК IFNα в 58,3% и РНК IFNλ в 42,9% образцов. При этом достоверных изменений белков IFNγ (в пг/мл) до лечения (58,75±14) и после лечения через 2 мес. (60,69±13,8) и 6 мес. (62±19,6) не отмечено. В процессе лечения с циклофероном через 2 мес. отмечено повышение биологической

активности IFNα/β с 135,3±43,5 до 342,6±53,4, IFNγ – с 10,2±2,17 до 38,66±7,46. В результате применения циклоферона зарегистрировано уменьшение частоты обострений заболевания в течение года в 2,5 раза;

3. Для аутоиммунных заболеваний, включая РС, характерна aberrантная активация иммунной системы с каскадом патологических реакций. Методами ОТ-ПЦР-РВ и ИФА обнаружены повышенные уровни экспрессии генов IFN I и III типов у больных РС по сравнению с группой контроля: в среднем,  $2,2 \times 10^3$  геном-эквивалентов (г-э) РНК IFNβ в 1 мл крови и 37,3 пг/мл белка IFNβ у 90% пациентов с РС по сравнению со здоровыми донорами ( $2,7 \times 10^2$  г-э/мл и 11,7 пг/мл, соответственно) ( $p < 0,01$ ). Лечение больных РС препаратом «IFNβ-1a» вызывало снижение количеств РНК IFNβ через 6 мес. и после 1 года – до нормальных значений  $3,6 \times 10^2$  г-э/мл. Применение препарата IFNβ также сопровождалось снижением экспрессии гена IFNα. Однако, для IFNγ и IFNλ существенных изменений исходных уровней не обнаружено. В результате лечения пациенты РС в течение более 1 года находились в фазе ремиссии заболевания с сохранением неврологического статуса. Таким образом, при персистирующих инфекциях и аллергических заболеваниях дефицит и дисбаланс IFN α, β и γ, соответственно, компенсируется индукторами IFN – амиксином или циклофероном. Для аутоиммунного РС характерна активация экспрессии генов IFN I и III типов, но не IFNγ. Снижение уровней IFN достигается через 6–12 месяцев инъекций рекомбинантного IFNβ, что обеспечивает стабилизацию неврологических показателей у больных РС.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Fietta P., Costa E., Delsante G.* Interleukins, a fascinating family of cytokines. Part II: ILs from IL-20 to IL-38. *TheorBiol Forum.* 2015; 108(1–2):19–40.
2. *Isaacs A., Lindenmann J.* Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc Lond B BiolSci* (1957) 147:258–67.10.1098/rspb.1957.0048
3. *Морозова О. В., Оспельникова Т. П.* «Тест-система для определения РНК интерферона λ, интерлейкина IL-23 и противовирусного белка МхА». Патент на изобретение РФ № 2627179 от 28.07.2016, опубликован: 03.08.2017. [*Morozova O. V., Ospelnikova T. P.* Test system for determining RNA interferon λ, interleukin 23 and antiviralprotein Mx A. Patent № 2627179].
4. *Оспельникова Т. П., Колодяжная Л. В., Табаков В. Ю., Ершов Ф. И.* «Способ определения продукции ин-

терферонов как параметров врожденного иммунитета». Патент на изобретение РФ № 2657808 от 10.07.2017, опубликован: 15.06.2018. [Ospelnikova

va T. P., Kolodyaznaya L. V., Tabakov V. Yu., Ershov F. I. The method for determining the production of interferon as parameters of innate immunity. Patent № 2657808].

## INTERFERON SYSTEM IN PATIENTS WITH CHRONIC DISEASES DURING IMMUNOMODULATING THERAPY

© 2019 T. P. Ospelnikova<sup>1\*</sup>, O. V. Morozova<sup>2</sup>, N. A. Mikhailova<sup>1</sup>, F. I. Ershov<sup>2</sup>

\*E-mail: ospelnikovat@mail.ru

<sup>1</sup>I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>National Research Center of Epidemiology and Microbiology of N. F. Gamaleya of the Russian Ministry of Health, Moscow, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 26.03.2019

The analysis of interferon (IFN) I ( $\alpha$ ,  $\beta$ ), II ( $\gamma$ ) and III ( $\lambda$ ) types by RT-PCR-RV, ELISA, the determination of the biological activity of IFN in the dynamics of the treatment of chronic immuno-mediated diseases with immunomodulating drugs. Different degrees of severity, reduced biological activity of IFN type I and II in chronic urogenital infections and bronchial asthma (BA) was corrected by using IFN inducers in basic therapy. In patients with asthma, an imbalance of RNA of IFN types I and III was detected. The inclusion of cycloferon reduced by 2.5 times the frequency of BA exacerbations during the year. As a result of treatment of patients with multiple sclerosis (MS) with recombinant IFN $\beta$ -1a for more than 12 months, there was a decrease in increased expression of IFN I genes and IFN II type proteins, stabilization of the neurological state. Thus, in chronic infections and BA, the deficiency and imbalance of IFN is compensated by the introduction of IFN inducers. In contrast, a decrease in elevated levels of IFN RNA in MS is achieved with prolonged administration of the recombinant drug IFN $\beta$ -1a, acting, possibly, on the basis of reverse regulation.

**Key words:** chronic diseases, urogenital infections, bronchial asthma, multiple sclerosis, IFN of I, II, III types

### Authors:

**Ospelnikova T. P.**, ✉ PhD, Head of the Laboratory of Interferons of I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; orcid.org/0000-0002-1580-6096; **E-mail:** ospelnikovat@mail.ru

**Morozova O. V.**, BD, Leading Researcher, Laboratory of Immunology of National Research Center of Epidemiology and Microbiology of N. F. Gamaleya of the Russian Ministry of Health, Moscow, Russia; orcid.org/0000-0001-9630-0777;

**Mikhailova N. A.**, MD, Professor, Head of the Institute of Immunobiotechnology of I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

**Ershov F. I.**, Academician of RAS, MD, Professor, Chief Researcher of National Research Center of Epidemiology and Microbiology of N. F. Gamaleya of the Russian Ministry of Health, Moscow, Russia; orcid.org/0000-0002-4780-7560.

## АУТОАНТИТЕЛА К ОСНОВНОМУ БЕЛКУ МИЕЛИНА У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ ОБЛАДАЮТ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© 2019 г. Д. А. Паршукова<sup>1</sup>, В. Н. Бунева<sup>2</sup>, Е. Г. Корнетова<sup>1</sup>,  
Д. В. Казанцева<sup>3</sup>, А. Р. Васильева<sup>3</sup>, С. А. Иванова<sup>1</sup>,  
Л. П. Смирнова<sup>1\*</sup>

\*E-mail: lpsmirnova@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»  
НИИ психического здоровья, Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет»  
Минздрава Российской Федерации, Томск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 02.04.2019

Работа посвящена изучению связи активности ОБМ-гидролизующих IgG с уровнем антител к ОБМ у больных шизофренией. У пациентов обнаружена высокая удельная протеолитическая активность антител (АТ) и двукратное увеличение уровня АТ к ОБМ. Между изучаемыми показателями была выявлена достоверная положительная корреляция средней силы ( $r = 0.48$ ;  $p = 0.026$ ).

**Ключевые слова:** каталитические антитела, шизофрения, основной белок миеллина

DOI: 10.31857/S102872210006927-4

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, д. 4, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт психического здоровья, лаборатория молекулярной генетики и биохимии. Смирнова Людмила Павловна. Тел./факс: +7(3822)-72-38-29, 89138722160 (моб.).

E-mail: lpsmirnova@yandex.ru

Авторы:

**Паршукова Д. А.**, м.н.с. лаборатории молекулярной генетики и биохимии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томск, Россия;

**Бунева В. Н.**, д.б.н., проф., г.н.с. лаборатории ферментов репарации ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия;

**Корнетова Е. Г.** д.м.н., в.н.с. отделения эндогенных расстройств ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томск, Россия;

**Казанцева Д. В.**, студент ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Томск, Россия;

**Васильева А. Р.**, студент ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Томск, Россия;

**Иванова С. А.**, д.м.н., проф., заместитель директора по научной работе НИИ психического здоровья Томского НИМЦ,

заведующая лабораторией молекулярной генетики и биохимии Научно-исследовательского института психического здоровья, Томск, Россия;

**Смирнова Л. П.**, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Природные антитела (АТ) представлены широким спектром циркулирующих иммуноглобулинов, наделенных разнообразными функциями, представления о которых значительно расширились за последние десятилетия. Установлено, что АТ участвуют в клиренсе продуктов деградации эндогенных молекул, регуляции воспалительного ответа, влияют на процессы пролиферации и дифференцировки и обладают каталитическими свойствами [1, 2]. Изменение иммунного гомеостаза, обусловленное снижением регулирующей функции системы Т-лимфоцитов супрессоров, приводит к активации гуморального иммунитета при шизофрении [3]. Основным белком миеллина (ОБМ) является одним

из высоко иммуногенных субстратов, а формирование АТ к нему отражает процессы деструкции в миелиновой оболочке аксонов, что подтверждается высоким титром АТ при таких заболеваниях, как рассеянный склероз и системная красная волчанка. Для шизофрении также характерно повышение уровня АТ к ОБМ. Была обнаружена корреляция снижения уровня АТ к ОБМ с образованием стабильной ремиссии, а увеличение титра АТ, напротив, является неблагоприятным прогностическим фактором [4]. Ранее нами было показано, что титры аутоантител против ОБМ у пациентов с шизофренией в 1,8 раза выше, чем у здоровых людей, но в 5,0 раз ниже, чем у пациентов с рассеянным склерозом [5]. Однако, в литературе не представлено данных относительно содержания АТ к ОБМ при различных клинических характеристиках шизофрении, кроме того не проводилась оценка содержания АТ к ОБМ с уровнем протеолитической активности IgG у пациентов с шизофренией.

**Целью** данной работы было исследование связи содержания антител к ОБМ с протеолитической активностью ОБМ-гидролизующих IgG у пациентов с шизофренией.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 32 пациента с шизофренией в возрасте от 21,9 до 50 лет. Продолжительность болезни составляла от 5 до 17 лет. В качестве группы контроля были обследованы 14 психически и соматически здоровых лиц. Пациенты были сгруппированы в зависимости от ведущей симптоматики (продуктивная, дефицитарная) и длительности болезни (2–5 лет, 6–12 лет, более 13 лет). Поликлональные препараты IgG были выделены из сыворотки крови методом аффинной хроматографии на хроматографе АКТА purifier GE Healthcare на колонке с Protein-G Sepharose. Анализ уровня АТ к ОБМ проводился в очищенных препаратах IgG методом твердофазного ИФА. Относительное содержание анти-ОБМ АТ было выражено в единицах оптического поглощения окрашенного продукта реакции при длине волны 450 нм (ед. А450; среднее значение двух измерений). Скрининг протеолитической активности IgG проводился методом электрофореза в 12,5% ПААГ, ингибиторный анализ этой активности проводился методом тонкослойной хроматографии. Активность протеолиза оценивалась по убыли субстрата (ОБМ) после инкубации с препаратами IgG и выражалась в удельных единицах мг ОБМ/мг IgG/ч.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для всех пациентов, включенных в исследование, был проведен скрининг протеолитической активности IgG к ОБМ. На основании проверки строгих критериев (гомогенность полученных образцов, разделение иммунных комплексов при хроматографии при рН 2,6 «рН-шок анализ») было показано, что изучаемая протеолитическая активность является собственным свойством АТ. В результате исследования обнаружено, что IgG, выделенные из сыворотки крови больных шизофренией, гидролизуют ОБМ. Удельная протеолитическая активность IgG пациентов варьировала 0,747 (0,00; 1,76) мг ОБМ/мг IgG/ч. В то время как для здоровых лиц эта активность была минимальной 0,00 (0,00; 0,37) мг ОБМ/мг IgG/ч. Ингибиторный анализ выявил снижение уровня протеолитической активности при использовании таких ингибиторов как PMSF и ЭДТА, чем показал, что АТ катализируют реакции протеолиза подобно протеазам серинового типа и маталлопротеазам. Уровень АТ к ОБМ у здоровых доноров составил  $0,04 \pm 0,017$  ед. А450, а для больных шизофренией  $0,08 \pm 0,039$  ед. А450. Таким образом, уровень содержания АТ к ОБМ у пациентов с шизофренией в 2 раза превышал уровень АТ у здоровых лиц ( $p=0,0014$ ).

В дальнейшем пациенты были сгруппированы в зависимости от преобладающей клинической симптоматики шизофрении (продуктивной или дефицитарной). Анализ уровня титра антител в этих группах показал достоверные отличия между группой контроля и группой пациентов с ведущей продуктивной симптоматикой ( $p=0,0002$ ), и с группой с ведущей дефицитарной симптоматикой ( $p=0,015$ ). Пациенты с ведущей дефицитарной симптоматикой продемонстрировали более высокие значения — 0,083 ед. А450, чем пациенты с ведущей позитивной симптоматикой — 0,074 ед. А450, но отличия не были достоверными. Была обнаружена статистическая тенденция ( $p=0,052$ ) к увеличению титра АТ к ОБМ у больных шизофренией в группах с продолжительностью болезни 2–5 лет и более 13 лет. При анализе корреляционной связи протеолитической активности антител, способных к гидролизу ОБМ, и уровня содержания IgG к ОБМ в сыворотке пациентов с шизофренией была выявлена достоверная положительная корреляция средней силы ( $r=0,48$ ;  $p=0,026$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Повышение уровня АТ к ОБМ были обнаружены в спинномозговой жидкости (СМЖ) и сыворотке пациентов с шизофренией во многих работах. В экспериментальных исследованиях было показано, что аутоАТ, связывающие нейроантигены на ранних стадиях онтогенеза, способствуют образованию различных структурных аномалий в нервной системе и впоследствии приводят к нарушению поведения молодых животных [4]. Повышенные уровни антител часто интерпретируются как нарушение иммунной толерантности, вызывающее аутоиммунный ответ. Но, в то же время, это может отражать гиперактивность иммунной системы, на фоне повышенного содержания провоспалительных цитокинов, которое было продемонстрировано в группах пациентов с острым психозом и хронической шизофренией. Таким образом, учитывая литературные данные об увеличении уровня антител к нейрогенным субстратам (в том числе ОБМ) накануне обострения клинической симптоматики шизофрении и о снижении титров этих антител в периоды ремиссии [4], можно предположить, что увеличение активности абзимов-протеаз наблюдается на фоне вероятной активации гуморального иммунитета в периоды обострения шизофрении и имеет прогностическое значение.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-15-00053 «Поиск периферических маркеров ассоциированных с нарушением миелинизации головного мозга и патогенезом заболевания при шизофрении» 2018–2020 гг.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Васильев А. Г., Чурилов Л. П., Трашков А. П., Утехин В. И. Эволюция иммунной системы и регуляторные эффекты антител. Цитология. 2018. 60 № 2. [Vasiliev A. G., Churilov L. P., Trashkov A. P., Utekhin V. I. Evolution of the immune system and regulatory effects of antibodies. Cytology. 2018. 60 no. 2].
2. Невинский Г. А., Канышкова Т. Г., Семенов Д. В., Бунева В. Н. Каталитически активные антитела и их возможная биологическая функция. Вестн. РАМН 2011, № 2, 38–45. [Nevinskij G. A., Kanyshkova T. G., Semenov D. V., Buneva V. N. Catalytically active antibodies and their possible biological function. Bulletin of the RAMS2011, No 2, 38–45].
3. Лобачева О. А., Ветлугина Т. П., Семке А. В. Иммунологические критерии прогноза эффективности антипсихотической терапии больных шизофренией. Сиб. вестн. псих. и наркол. 2013, № 1 (76), 66–70. [Lobacheva O. A., Vetlugina T. P., Semke A. V. Immunological criteria for predicting the effectiveness of antipsychotic therapy for patients with schizophrenia. Sib. notable psycho. and Narkol. 2013, № 1 (76), 66–70].
4. Ключник Т. П., Козловская Г. В., Калинина М. А., Сарманова З. В., Отман И. Н. Динамика содержания антител к нейроантигенам в сыворотке крови больных шизофренией в процессе терапии. Журнал невр. и псих. им. С. С. Корсакова. 2008, Т. 108, № 8, 61–65. [Klyushnik T. P., Kozlovskaya G. V., Kalinina M. A., Sarmanova Z. V., Otman I. N. The dynamics of the content of antibodies to neuroantigens in the serum of patients with schizophrenia during therapy. Journal of Neurology and psychiatry them. S. S. Korsakov 2008, T. 108, No. 8, 61–65].
5. Parshukova D., Smirnova L. P., Ermakov E. A., Bokhan N. A., Semke A. V., Ivanova S. A., Buneva V. N., Nevinsky G. A. Autoimmunity and immune system dysregulation in schizophrenia: IgGs from sera of patients hydrolyze myelin basic protein. J Mol Recognit., 2019, 32.2: e2759.

## AUTOANTIBODIES TO THE MYELIN BASIC PROTEIN IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA HAVE PROTEOLYTIC ACTIVITY

© 2019 D. A. Parshukova<sup>1</sup>, V. N. Buneva<sup>2</sup>, E. G. Kornetova<sup>1</sup>, D. V. Kazantseva<sup>3</sup>, A. R. Vasileva<sup>3</sup>, S. A. Ivanova<sup>1</sup>, L. P. Smirnova<sup>1\*</sup>

\*E-mail: lpsmirnova@yandex.ru

<sup>1</sup>Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Siberian Division of Russian Academy of Sciences, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup>Siberian State Medical University, SSMU, Tomsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 02.04.2019

This work is devoted to the study of the association of MBP-hydrolyzing IgG activity with the level of antibodies to MBP in patients with schizophrenia. In the group of patients, a high level of specific proteolytic activity of antibodies (AT) and a twofold increase in the level of antibodies to MBP were found. A significant positive correlation ( $r=0,48$ ;  $p=0,026$ ) was found between the studied parameters.

*Key words:* catalytic antibodies, schizophrenia, myelin basic protein

**Authors:**

**Parshukova D. A.**, Junior scientist of Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia;

**Buneva V. N.**, Ph D., Professor, Principal Researcher Laboratory of Reparation Enzymes, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Division of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

**Kornetova E. G.**, Ph D., Leading Researcher Departments of endogenous disorders, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia

**Kazantseva D. V.**, Student, Siberian State Medical University, SSMU, Tomsk, Russia;

**Vasileva A. R.**, Student, Siberian State Medical University, SSMU, Tomsk, Russia;

**Ivanova S. A.**, PhD, Professor, Deputy Director (Scientific Director) of Mental Health Research Institute of Tomsk National Research Medical Center the Russian Academy of Sciences; Head of Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory of Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia;

**Smirnova L. P.**, ✉ PhD, Senior Researcher of Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia. **E-mail:** lpsmirnova@yandex.ru

## ВЛИЯНИЕ ОЧАГОВ ФОКАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ДЕРМАТОЗАМИ

© 2019 г. А. В. Патрушев\*, А. В. Сухарев, В. Ю. Никитин,  
А. М. Иванов, И. А. Сухина, О. П. Гумилевская

\*E-mail: alexpat2@yandex.ru

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ,  
Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 10.03.2019. Принята: 22.03.2019

Целью исследования явилась оценка влияния очагов хронической инфекции (ОХИ) на цитокиновый профиль больных псориазом, красным плоским лишаем (КПЛ) и атопическим дерматитом (АтД). Больные были разделены на две группы: имеющие ОХИ в организме (псориаз – 19 человек, АтД – 13 человек, КПЛ – 14 человек) и не имеющие ОХИ (псориаз – 17 человек, АтД – 11 человек, КПЛ – 13 человек). Также обследована группа контроля – 15 практически здоровых лиц. Иммуноферментным методом проведено определение следующих цитокинов в сыворотке крови пациентов: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ8, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$ . Показано, что на фоне наличия ОХИ, значимо повышается содержание в сыворотке крови ИЛ-8 (в 89,5% случаев у больных псориазом, в 76,6% у больных КПЛ и в 100% у больных АтД).

**Ключевые слова:** цитокины, очаги фокальной инфекции, псориаз, атопический дерматит, красный плоский лишай, хронические дерматозы

DOI: 10.31857/S102872210006928-5

Адрес: 194044 Санкт-Петербург, ул. Лебедева, д. 6, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, кафедра кожных и венерических болезней. Патрушев Александр Владимирович.  
Тел./факс: +7(812) 2718701, 89119982264 (моб.).  
E-mail: alexpat2@yandex.ru

### Авторы:

**Патрушев А. В.**, к.м.н., ассистент кафедры кожных и венерических болезней ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Сухарев А. В.**, д.м.н., профессор кафедры кожных и венерических болезней ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Никитин В. Ю.**, д.м.н., заведующий иммунологической лабораторией центра клинической лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Иванов А. М.**, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Сухина И. А.**, к.б.н., преподаватель кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Гумилевская О. П.**, д.м.н., начальник центра клинической лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Влияние очаговой (фокальной) инфекции различной локализации на развитие общих заболеваний признается значимым во всех странах мира [1]. Многочисленные клинические наблюдения позволяют сделать предположение об ухудшении течения кожных заболеваний на фоне наличия очага хронической инфекции (ОХИ), однако серьезных исследований посвященных данному вопросу явно недостаточно. На кафедре кожных и венерических болезней Военно-медицинской академии было проведено ретроспективное эпидемиологическое исследование (анализ 1299 архивных историй болезни за 2010–2014 гг.) по оценке распространенности ОХИ у больных иммуноопосредованными дерматозами, которое показало, что для целого ряда нозологий отдельные очаги инфекции являются значимыми и должны рассматриваться как возможные факторы риска развития и обострения заболевания. Так, при псориазе, атопическом дерматите, гнездной алопеции необходимо исключать хронический тонзиллит, при

экземе — хронический гранулематозный периодонтит, а при красном плоском лишае — хронический тонзиллит и хронический гранулематозный периодонтит [2].

Одним из основных патогенетических механизмов, приводящих к поражению кожи в случаях сочетания дерматоза и ОХИ, может являться выделение провоспалительных цитокинов в кровь из очагов фокальной инфекции. В связи с этим, **целью** нашего исследования явилось изучение профиля основных цитокинов в сыворотке крови больных хроническими дерматозами и сопоставление полученных данных с наличием ОХИ в организме.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 87 человек, страдающих псориазом (36 пациентов), атопическим дерматитом (24 пациента) и красным плоским лишаем (27 пациентов). Все больные проходили стационарное обследование в клинике кожных и венерических болезней в 2017–18 годах. Пациенты участвовали на добровольной основе, подписав информационный листок пациента с формой информированного согласия.

На основании комплексного обследования (рентгенография придаточных пазух носа, ортопантограмма, УЗИ органов брюшной полости и малого таза, консультаций отоларингологом, стоматологом, терапевтом, урологом, гинекологом) пациенты каждой нозологии были разделены на две группы: 1 группа — имеющие ОХИ (псориаз — 19 человек, АтД — 13 человек, КПЛ — 14 человек), 2 группа — не имеющие ОХИ (псориаз — 17 человек, АтД — 11 человек, КПЛ — 13 человек). Основными диагностированными ОХИ были хронический тонзиллит, хронический гранулематозный периодонтит и хронический синусит. Третью группу (контрольную) составили 15 практически здоровых лиц, обратившихся в клинику для удаления доброкачественных новообразований кожи.

В работе мы провели определение следующих цитокинов в сыворотке крови пациентов: ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ8, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$ . Использовали отдельные наборы (для каждого цитокина) компании «Вектор-Бест», Россия. Использовался трехстадийный «сэндвич» вариант твердофазного иммуноферментного анализа с применением моно- и поликлональных антител к соответствующим цитокинам.

Статистический анализ. Сравнение групп проводили с применением непараметрического критерия Манна-Уитни. Вывод о значимом различии между группами делали при значении уровня статистической значимости ( $p$ ) менее 0,05.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

У больных псориазом, АтД и КПЛ, а также практически здоровых лиц, ИЛ-4 и ИНФ- $\gamma$  не определялись в сыворотке крови. Уровень ИЛ-2 находился в пределах нормальных значений у пациентов двух групп каждой нозологической формы и значимо не отличался от показателей в контрольной группе.

Уровень ИЛ-1 $\beta$  в первой группе больных псориазом был повышен у 2 человек, больных АтД у 1 человека, в то время как во вторых группах пациентов псориазом и АтД, а также всех больных КПЛ и контрольной группе находился в пределах нормы. Статистически значимых различий между группами выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

Концентрация ИЛ-6 у больных псориазом в первой группе была повышена в 21,1% случаев (4/19), в то время как во второй и контрольной группах концентрация этого цитокина не превышала референсных значений. При этом группа больных, имеющая ОХИ, значимо отличалась по данному показателю от контрольной группы (медиана значений 1,9 пг/мл против 0 пг/мл,  $p = 0,007$ ). У больных КПЛ уровень ИЛ-6 был повышен только у 1 пациента первой группы, у больных АтД не выходил за пределы нормальных значений.

Уровень ИЛ-8 оказался повышенным у 89,5% (17/19) больных псориазом первой группы, в то время как у больных второй группы — у 58,8% (11/17), у пациентов контрольной группы — у 26,7% (4/15). Различия между 1 и 2 группами, а также между 1 из 3 группами оказались статистически значимыми ( $p = 0,034$  и  $p = 0,004$  соответственно). Показатели в группе КПЛ: повышение уровня у 76,6% (11/14) больных 1 группы и у 61,5% (8/13) второй группы. Различия между 1 и 2 группами, а также между 1 из 3 группами были статистически значимыми ( $p = 0,017$  и  $p = 0,024$  соответственно). В группе больных АтД наблюдалась аналогичная ситуация: повышение концентрации цитокина в 100% случаев в первой группе и у 72,7% больных второй группы (9/11). Различия между 1 и 2 группами, а также между 1 из 3 группами также оказались статистически значимыми ( $p = 0,014$  и  $p = 0,015$  соответственно).

Концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в группе больных псориазом находилась в пределах референсных значений у всех пациентов 1 и 2 групп, в группе практически здоровых лиц его удалось определить только у 6 человек (интерквартильный размах значений составил от 0 до 4,3 пг/мл). Уровень ИЛ-10 был повышен у 1 пациента во вторых группах больных КПЛ и АтД, вместе с тем обе группы больных статистически значимо различались по сравнению с практически здоровыми лицами ( $p < 0,05$ ).

Содержание ИНФ- $\alpha$  оказалось повышено у 10,5% (2/19) больных псориазом, имеющих ОХИ, против 5,9% (1/17) без ОХИ. В контрольной группе концентрация ИНФ- $\alpha$  находилась в пределах нормальных значений. Статистически значимых различий между всеми группами выявлено не было ( $p > 0,05$ ). У больных КПЛ ИНФ- $\alpha$  был повышен у 21,4% (3/14) больных первой группы и у 15,4% (2/13) второй группы, однако различий как между собой, так и с контрольной группой выявлено не было ( $p > 0,05$ ). У больных АтД ИНФ- $\alpha$  был повышен у 30,8% (4/13) пациентов первой группы и у 27,3% (3/11) второй группы, при этом выявлены статистически значимые различия между обеими группами больных АтД и практически здоровыми лицами ( $p = 0,005$  и  $p = 0,032$  соответственно).

ФНО- $\alpha$  играет важную роль в патогенезе воспалительных дерматозов, поэтому было интересно оценить его концентрацию в крови данной категории больных. У больных псориазом уровень ФНО- $\alpha$  был повышен у 10 человек первой группы (52,6%), 8 человек второй группы (47,1%) и 6 человек контрольной группы (40,0%). Статистически значимых различий между группами зафиксировано не было ( $p > 0,05$ ). Концентрация ФНО- $\alpha$  у больных КПЛ была повышена у 10 пациентов первой группы (71,4%), а также у 8 человек второй группы (61,5%), значимых различий между опытными и контрольной группами выявлено не было ( $p > 0,05$ ). Провоспалительный цитокин ФНО- $\alpha$  был повышен у всех больных АтД, имеющими ОХИ, а также у 90,9% больных АтД без ОХИ, при этом определялись значимые различия между первой и третьей и второй и третьей группами ( $p = 0,0008$  и  $p = 0,003$  соответственно).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка цитокинового профиля у больных хроническими дерматозами показала, что целый ряд сигнальных пептидов, таких как ИЛ-1 $\beta$ ,

ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, ИНФ- $\gamma$ , а также ИЛ-6 у больных КПЛ и АтД или не определялись, или их концентрация не выходила за пределы референсных значений во всех сравниваемых группах.

У больных псориазом, имеющих ОХИ, в 21,1% случаев был значимо повышен в сравнении с контрольной группой уровень ИЛ-6. В 10,5% оказался повышенным ИНФ- $\alpha$ , а в 52,6% ФНО- $\alpha$ , однако статистически значимых различий между группами выявлено не было. У больных КПЛ, имеющих ОХИ, выявлено повышение уровней ИНФ- $\alpha$  и ФНО- $\alpha$  у 21,4% и 71,4% больных соответственно, но при этом различий, как с группой без ОХИ, так и с практически здоровыми лицами не отмечалось. У больных АтД выявлено существенное повышение концентрации ИНФ- $\alpha$  (у 30,8% пациентов с наличием ОХИ и у 27,3% без ОХИ) и ФНО- $\alpha$  (у 100% пациентов с наличием ОХИ и у 90,9% без ОХИ), которое не зависело от наличия ОХИ в организме, и значимо отличалось от показателей в контрольной группе. Поэтому можно констатировать, что ИНФ- $\alpha$  и ФНО- $\alpha$  играют важную роль в развитии АтД.

Единственным цитокином, который был значительно повышен при всех хронических дерматозах в группах с наличием ОХИ (в 89,5% больных псориазом, в 76,6% КПЛ и в 100% АтД), а его концентрация значимо отличалась как от групп без ОХИ, так и контрольной группы, был ИЛ-8. В связи с этим высокий уровень этого цитокина может считаться дополнительным маркером наличия ОХИ в организме и влиять на патогенез кожных заболеваний.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Фисун А. Я., Черкашин Д. В., Макиев Р. Г., Кириченко П. Ю. «Очаговая инфекция» — фактор риска или патогенетическая основа возникновения заболеваний системы кровообращения. Вестник Российской военно-медицинской академии. 2015, 3(51), 7–16. [Fisun A. Ya., Cherkashin D. V., Makiyev R. G., Kirichenko P. Yu. «Focal infection» — risk factor or pathogenetic basis of developing cardiovascular diseases. Vestnik Rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii. 2015, 3(51), 7–16].
2. Патрушев А. В., Самцов А. В., Иванов А. М., Сухарев А. В., Асфендиаров Д. Д. Распространенность очагов хронической инфекции у больных Т-клеточноопосредованными дерматозами. Вестник дерматологии и венерологии. 2018, 94(3), 30–38. [Patrushev A. V., Samcov A. V., Ivanov A. M., Suharev A. V., Asfendiarov D. D. Prevalence of chronic infection foci in patients with T-cell-mediated dermatoses. Vestnik dermatologii i venerologii. 2018, 94(3), 30–38].

## INFLUENCE OF FOCAL INFECTION ON THE CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH CHRONIC DERMATOSIS

© 2019 г. А. В. Патрушев\*, А. В. Сухарев, В. Ю. Никитин, А. М. Иванов,  
И. А. Сухина, О. П. Гумилевская

\*E-mail: alexpat2@yandex.ru

Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Received: 10.03.2019. Accepted: 22.03.2019

The aim of the study was to assess the impact of focal infection foci (FI) on the cytokine profile of patients with psoriasis, lichen planus (LP) and atopic dermatitis (AD). The patients were divided into two groups: those with FI (psoriasis – 19 people, AD – 13 people, LP – 14 people) and those without FI (psoriasis – 17 people, AD – 11 people, LP – 13 people). The control group was also examined – 15 healthy individuals. Immunoenzyme method was used to determine the following cytokines in the blood serum of patients: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL8, IL-10, TNF- $\alpha$ , INF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ . It was shown that on the background of the presence of FI, the content of IL-8 in blood serum significantly increased (in 89,5% of cases in patients with psoriasis, in 76,6% in LP patients and in 100% in patients with AD).

*Key words:* cytokines, focal infection, psoriasis, atopic dermatitis, lichen planus, chronic dermatosis

### Authors:

**Patrushev A. V.**, ☒ PhD, Assistant, Department of skin and venereal diseases, Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia.

**E-mail:** alexpat2@yandex.ru;

**Sukharev A. V.**, MD, Professor, Department of skin and venereal diseases, Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;

**Nikitin V. Yu.**, MD, Head of the immunological laboratory of the center for clinical laboratory diagnostics, Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;

**Ivanov A. M.**, MD, Professor, Head of Department of clinical biochemistry and laboratory diagnostics, Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;

**Sukhina I. A.**, PhD, Department of clinical biochemistry and laboratory diagnostics, Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia;

**Gumilevskaya O. P.**, MD, Head of the center for clinical laboratory diagnostics, Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛЯРИЗОВАННЫХ ФОРМ МОНОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2019 г. М. Р. Патышева<sup>1\*</sup>, М. Н. Стахеева<sup>1,2</sup>, А. А. Федоров<sup>3</sup>,  
Н. А. Тарабановская<sup>1</sup>, Е. С. Григорьева<sup>1</sup>, Е. М. Слонимская<sup>1</sup>,  
Ю. Г. Кжышкова<sup>2</sup>, Н. В. Чердынцева<sup>1,2</sup>

\*E-mail: starin5@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ онкологии «Томский НИМЦ РАН», Томск, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Томск, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 15.03.2019

В работе охарактеризованы фенотипические маркеры про- и противоопухолевой поляризации (M2 и M1) моноцитов крови у пациенток с трижды негативным раком молочной железы. Субпопуляционный состав моноцитов периферической крови у этих пациенток существенно отличался по содержанию моноцитов с фенотипом M2 (CD163<sup>+</sup>, стабиллин-1<sup>+</sup>) и M1 (HLA-DR<sup>+</sup>) по сравнению с пациентами с люминальным B и Her2<sup>+</sup> подтипами. Выявленные различия могут быть использованы в качестве дополнительного неинвазивного дифференциального диагностического признака для трижды негативного подтипа рака молочной железы.

**Ключевые слова:** моноциты, про- и противоопухолевая поляризация, трижды негативный подтип рака молочной железы

DOI: 10.31857/S102872210006929-6

Адрес: 6340409 Томск, пер. Кооперативный, 5. ФГБУ НИИ онкологии «Томский НИМЦ РАН», Томск, Россия, лаборатория молекулярной онкологии иммунологии. Патышева Марина Ринатовна.  
Тел./факс: +7(832) 282676, 89234073135 (моб.).

E-mail: starin5@yandex.ru

Авторы:

**Патышева М. Р.**, врач клд лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Стахеева М. Н.**, д.м.н., в.н.с. лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия; с.н.с. лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины Томского государственного университета, Томск, Россия;

**Федоров А. А.**, студент медико-биологического факультета Сибирского государственного медицинского университета, Томск, Россия;

**Тарабановская Н. А.**, к.м.н., н.с. отделения общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Григорьева Е. С.**, к.м.н., м.н.с. лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Слонимская Е. М.**, д.м.н., заведующая отделением общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Кжышкова Ю. Г.**, д.б.н., профессор, заведующая лабораторией трансляционной клеточной и молекулярной биоме-

дицины Томского государственного университета, Томск, Россия;

**Чердынцева Н. В.**, д.б.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия, в.н.с. лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины Томского государственного университета, Томск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) характеризуется отсутствием точки приложения имеющихся на сегодняшний день видов лечения и при этом отличается агрессивным течением и неблагоприятным прогнозом. Современными исследованиями показано вовлечение иммунологических механизмов в патогенез ТНРМЖ, включая опухолевую прогрессию и ответ на лекарственную терапию [1]. В этой связи оценка ключевых иммунологических факторов, вносящих вклад в развитие злокачественного процесса, может быть полезной для прогноза течения заболевания.

Моноциты периферической крови являются предшественниками опухолеассоциированных макрофагов (ОАМ), в существенной мере определяющих биологическое поведение опухоли и прогноз заболевания. Полагают, что циркулирующие в системном кровотоке моноциты могут иметь фенотипические и функциональные особенности, индуцированные опухолевым процессом, и влиять на опухолевую прогрессию при дифференцировке в ОАМ. Моноциты представляют собой перспективный объект как для разработки новых терапевтических стратегий, так и для внедрения критериев диагностики и мониторинга клинического течения онкологических заболеваний. Показано, что при злокачественных новообразованиях патогенетическую значимость имеют основные популяции моноцитов (классическая, промежуточная и неклассическая) и минорные субпопуляции, которые демонстрируют фенотипические особенности, характерные для ОАМ с про- и противоопухолевой направленностью. По данным Zang с соавт. поляризованные формы моноцитов могут иметь диагностическое значение при люминальных подтипах рака молочной железы (РМЖ) [2]. Однако данных об особенностях фенотипического состава моноцитов при ТНРМЖ в литературе практически нет.

**Целью** данной работы была оценка фенотипических маркеров про- и противоопухолевой поляризации моноцитов крови у пациенток с ТНРМЖ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 32 пациентки с РМЖ в возрасте 36–73 лет. У 14 больных был диагностирован ТНРМЖ, у 18 – выявлен люминальный В и Her2<sup>+</sup> подтипы. В качестве контрольной группы в исследование были включены 15 здоровых женщин. У пациенток и здоровых женщин в периферической крови методом прочной цитофлуориметрии были определены маркеры основных популяций моноцитов CD14 и CD16 и маркеры проопухолевой (M2): CD163, стабиллин-1 и противоопухолевой (M1): HLA-DR поляризации моноцитов. Полученные данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (P25–P75). Для сравнения исследуемых показателей в двух группах применялся критерий Манна-Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Было показано, что в общем пуле моноцитов у больных ТНРМЖ количество клеток, экспрес-

сирующих маркер проопухолевой поляризации клеток моноцитарно-макрофагального ряда стабиллин-1, статистически значимо выше, чем у пациенток с другими молекулярными подтипами: 43,35 (25,85–66,85)% и 9,60 (0,10–19,10)% соответственно. Количество моноцитов, экспрессирующих другой маркер проопухолевой поляризации – CD163<sup>+</sup>, также было выше при ТНРМЖ по сравнению с группой пациенток с другими молекулярными подтипами: 5,70 (3,30–9,90) и 1,45 (0,65–4,10)% (p<0,1). При этом доля CD163<sup>+</sup> CD14<sup>+</sup> CD16-популяции значительно ниже у всех больных РМЖ по сравнению со здоровыми, вне зависимости от принадлежности к молекулярному подтипу (39,41 (0,26–89,19)% против 99,97 (92,73–100), (p<0,1).

Больные ТНРМЖ характеризовались более выраженной противоопухолевой поляризацией циркулирующих моноцитов. Это проявлялось в наличии при ТНРМЖ клеток неклассической популяции CD14-CD16<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, составивших 13,12 (1,24–25,00)%, в то время как у пациенток с другими молекулярными подтипами РМЖ данные клетки отсутствовали 0 (0–0)% (p<0,1).

Таким образом, были обнаружены характерные особенности популяционной структуры пула моноцитов крови у больных ТНРМЖ по сравнению с пациентами с люминальным В и Her2<sup>+</sup> подтипами, что очевидно определяется биологическими особенностями опухолевых клеток при ТНРМЖ и их способностью коммитировать моноциты еще до поступления в ткань опухоли. Выявленные фенотипические отличия моноцитов могут быть использованы для разработки дополнительных неинвазивных критериев для дифференциальной диагностики ТНРМЖ среди прочих подтипов. Дальнейшее изучение механизмов связи моноцитов крови с ОАМ позволит выявить точки приложения для новых иммунотерапевтических подходов в отношении этого молекулярного подтипа РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-29-06037).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Bianchini G., Balko J. M., Mayer I. A., Sanders M. E., Gianni L. Triple-negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016 Nov; 13(11):674–690.
2. Zhang B., Cao M., He Y., Liu Y., Zhang G., Yang C., Du Y., Xu J., Hu J., Gao F. Increased circulating M2-like monocytes in patients with breast cancer. *Tumour Biol.* 2017; 39(6):1010428317711571.

## FEATURES CIRCULATING PRO- AND ANTITUMOR MONOCYTES IN PATIENTS WITH TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER

© 2019 M. R. Patysheva<sup>1\*</sup>, M. N. Stakheyeva<sup>1,2</sup>, A. A. Fedorov<sup>3</sup>,  
N. A. Tarabanovskaya<sup>1</sup>, E. S. Grigorieva<sup>1</sup>, E. M. Slonimskaya<sup>1</sup>,  
J. G. Kzhyshkowska<sup>2</sup>, N. V. Cherdyntseva<sup>1,2</sup>

\*E-mail: starin5@yandex.ru

<sup>1</sup>Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center  
of the Russian Academy of Sciences Tomsk, Russia;

<sup>2</sup>Tomsk State University, Tomsk, Russia;

<sup>3</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 15.03.2019

Phenotypic markers of pro- and antitumor polarization of blood monocytes in patients with a triple negative breast cancer were characterized in this work. This molecular subtype differed from the luminal B and Her2<sup>+</sup> subtypes in the content of CD163<sup>+</sup>, stabilized-1<sup>+</sup> and HLA-DR<sup>+</sup> circulating monocytes. The identified differences can be used as a differential diagnostic marker for a triple negative breast cancer subtype.

*Key words:* monocytes, pro- and antitumor polarization, triple negative breast cancer

### Authors:

**Patysheva M. R.**, ✉ MD, Clinical Laboratory Scientist of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre of the RAS, Tomsk, Russia. E-mail: starin5@yandex.ru;

**Stakheyeva M. N.**, PhD, Leading Researcher of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre of the RAS, Tomsk, Russia;

**Fedorov A. A.**, student of Siberian State Medical University, Tomsk, Russia;

**Tarabanovskaya N. A.**, MD, PhD, Researcher of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre of the RAS, Tomsk, Russia;

**Grigorieva E. S.**, PhD, Junior Researcher of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre of the RAS, Tomsk, Russia;

**Slonimskaya E. M.**, MD, PhD, Head of the general oncology of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre of the RAS, Tomsk, Russia;

**Kzhyshkowska J. G.**, PhD, Professor of Tomsk State University, the Head of the laboratory of translational cellular and molecular biomedicine, Tomsk State University, Tomsk, Russia;

**Cherdyntseva N. V.**, PhD, Head of the laboratory of molecular oncology and immunology of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre of the RAS, Tomsk, Russia. The Leading Researcher of laboratory of translational cellular and molecular biomedicine, Tomsk State University, Tomsk, Russia.

## ВЛИЯНИЕ КАРБОПЛАТИНА С КУКУРБИТ[7]УРИЛОМ НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ И ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ *IN VITRO*

© 2019 г. Е. А. Пашкина<sup>1,2\*</sup>, А. А. Актанова<sup>2</sup>, А. А. Ермаков<sup>2</sup>,  
Н. Ю. Кнауэр<sup>1</sup>, И. В. Мирзаева<sup>3</sup>, Е. А. Коваленко<sup>3</sup>

\*E-mail: pashkina.e.a@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной  
и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск Россия,

<sup>3</sup>Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 26.03.2019

Известно, что использование систем доставки может позволить снизить токсичность соединений платины без утраты высокого терапевтического эффекта. В работе исследовалось иммуноотоксическое действие карбоплатина при совместном добавлении с кукурбит[7]урилом, в том числе влияние на субпопуляционный состав лимфоцитов и их пролиферативную активность в условиях *in vitro*.

**Ключевые слова:** кукурбит[7]урил, карбоплатин, противоопухолевая терапия, лимфоциты

DOI: 10.31857/S102872210006930-8

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клинической иммунопатологии. Пашкина Екатерина Александровна, Тел.: +7(383)2270135.

E-mail: pashkina.e.a@yandex.ru

Авторы:

**Пашкина Е. А.**, к.б.н., н.с. лаборатории клинической иммунопатологии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия, ассистент кафедры клинической иммунологии лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия

**Актанова А. А.**, студент шестого курса медико-профилактического факультета специальности медицинская биофизика, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия;

**Ермаков А. А.**, студент шестого курса медико-профилактического факультета специальности медицинская биофизика, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия;

**Кнауэр Н. Ю.**, аспирант лаборатории клинической иммунопатологии, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

**Мирзаева И. В.**, к.ф.-м.н., н.с. лаборатории физической химии конденсированных сред, Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

**Коваленко Е. А.**, к.х.н., н.с. лаборатории химии кластерных и супрамолекулярных соединений, Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Известно, что использование кукурбит[7]урила (СВ[7]) в качестве молекулы-переносчика может приводить к уменьшению токсичности, а также к снижению биодegradации препаратов, в том числе и соединений платины (II) [1]. Ранее нами было показано, что СВ[7] не образует стабильного комплекса включения с карбоплатином, однако комплексообразование может происходить с продуктами его гидролиза – цис- $PtL_2(NH_3)_2$  ( $L=H_2O$  или  $OH^-$ ) [2]. Нами было продемонстрировано, что добавление СВ[7] способно влиять на биологические свойства карбоплатина, усиливая цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам [3], и не изменяя цитотоксичность по отношению к иммунокомпетентным клеткам. Следовательно, представляет интерес сравнение иммуносупрессивных свойств карбоплатина и карбоплатина с СВ[7].

**Цель.** Провести оценку влияния карбоплатина с СВ[7] на субпопуляционный состав и пролиферативную активность лимфоцитов здоровых доноров в условиях *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили мононуклеарные клетки крови (МНК ПК) 8 доноров (средний возраст  $32,9 \pm 4,25$  лет) выделенные стандартным образом путем центрифугирования образцов крови в градиенте плотности фикоколл-урографина (1,078 г/мл). Клетки культивировали в 24-луночных планшетах в питательной среде RPMI-1640, содержащей 0,3% L-глутамин, 50 мкг/мл гентамицина, 25 мкг/мл тиенама и 10% инактивированной сыворотки FCS, в присутствии исследуемых соединений в течение 72 часов. В качестве активаторов использовались анти-CD3 антитела (1 мкг/мл) и рекомбинантный интерлейкин-2 человека (100 ед/мл). Пролиферативная активность различных субпопуляций лимфоцитов оценивалась при помощи проточной цитометрии, фенотипирование клеток осуществлялось по поверхностным маркерам (CD45, CD3, CD19, CD4). Для оценки пролиферативной активности клетки предварительно окрашивали CFSE. Статистическую обработку данных проводили в пакете программ Statistica 6.0 (StatSoft). Достоверность изменения параметров в процессе культивирования МНК ПК оценивали с помощью критерия Вилкоксона. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При культивировании МНК ПК было показано, что сам СВ[7] не подавлял пролиферацию МНК ПК, а также не приводил к изменению субпопуляционного состава при культивировании клеток в течение 72 часов в присутствии данного соединения. Карбоплатин как отдельно, так и при совместном добавлении с СВ[7] в соотношении 1:1 не влиял на спонтанную пролиферативную активность клеток, но при этом подавлял индуцированный анти-CD3 пролиферативный ответ, что говорит о иммуносупрессивном действии по отношению к активированным лимфоцитам. Несмотря на то, что подобная

индукция воздействует прицельно на Т-лимфоциты, В-лимфоциты также могут пролиферировать под воздействием факторов, выделяемых активированными Т-лимфоцитами. В случае карбоплатина и карбоплатина с СВ[7] в стимулированной культуре пролиферативный ответ В-лимфоцитов также снижен. Достоверных различий между действием карбоплатина и карбоплатина с СВ[7] не обнаружено. Интересно, что присутствие карбоплатина с СВ[7] приводило к повышению относительного числа  $CD3^+CD4^+$  лимфоцитов (Т-хелперов) как в неактивированных, так и в активированных культурах по сравнению с контролем. Подобное изменение в процентном соотношении клеток нельзя объяснить действием СВ[7], поскольку в МНК ПК, культивированных только в присутствии СВ[7], относительное количество Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов было сопоставимо с таковым в контроле.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами было продемонстрировано, что добавление СВ[7] не влияет на способность карбоплатина подавлять пролиферативную активность лимфоцитов, но при этом вызывает повышение относительного количества Т-хелперов в культуре МНК ПК.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-00158.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Wheate N. J.* Improving platinum (II)-based anticancer drug delivery using cucurbit [n] urils. *Journal of inorganicbiochemistry.* 2008, 102, 2060–2066.
2. *Mirzaeva I. V., Moroz N. K., Andrienko I. V., Kovalenko E. A.* Interaction between carboplatin and cucurbit[7]uril studied by means of multinuclear NMR spectroscopy and DFT calculations *J. Mol. Struct.* 2018, 1163, 68–76.
3. *Актанова А. А., Ермаков А. А., Пашкина Е. А.* Сравнительный анализ противоопухолевого и иммуноотоксического действия комплекса кукурбит[7]урила с карбоплатином. *Российский иммунологический журнал.* 2018, 12(21), 595–597. [*Aktanova A., Ermakov A., Pashkina E.* Analysis of antitumor and immunotoxic effects of the complex of carboplatin and cucurbit[7]uril. *Russian Journal of Immunology.* 2018, 4, 595–597.]

**EFFECTS OF CARBOPLATIN WITH CUCURBIT[7]URIL  
ON SUBPOPULATION COMPOSITION AND PROLIFERATIVE  
ACTIVITY OF LYMPHOCYTES *IN VITRO***

© 2019 E. A. Pashkina<sup>1,2\*</sup>, A. A. Aktanova<sup>2</sup>, A. A. Ermakov<sup>2</sup>,  
N. Yu. Knauer<sup>1</sup>, I. V. Mirzaeva<sup>3</sup>, E. A. Kovalenko<sup>3</sup>

\*E-mail: pashkina.e.a@yandex.ru

<sup>1</sup>FSBSI "Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology", Novosibirsk, Russia;

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

<sup>3</sup>Institute of Inorganic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy  
of Sciences, Novosibirsk, Russia

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

It is known that the use of delivery systems can reduce the toxicity of platinum compounds without losing a high therapeutic effect. In this work, the immunotoxic effect of carboplatin when co-added with cucurbit[7]uril was investigated, including the effect on the subpopulation composition of lymphocytes and their proliferative activity *in vitro*.

*Key words:* cucurbit[7]uril, carboplatin, antitumor therapy, lymphocytes

**Authors:**

**Pashkina E. A.**, ✉ PhD, Researcher, Clinical Immunopathology Laboratory of FSBSI Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia, Assistant of the Department of Clinical Immunology at the Medical Faculty, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** pashkina.e.a@yandex.ru;

**Aktanova A. A.**, six-year student of the Faculty of Medicine and Prevention of the specialty of Medical Biophysics, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

**Ermakov A. A.**, six-year student of the Faculty of Medicine and Prevention of the specialty of Medical Biophysics, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

**Knauer N. Yu.**, PhD student, Clinical Immunopathology Laboratory of FSBSI Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Mirzaeva I. V.**, PhD, Researcher, Laboratory of Condensed Matter Physical Chemistry, Institute of Inorganic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

**Kovalenko E. A.**, PhD, Researcher, Laboratory of cluster and supramolecular chemistry, Institute of Inorganic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

## СПОНТАННОЕ И СТИМУЛИРОВАННОЕ КОЛИЧЕСТВО РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК И АКТИВИРОВАННЫХ Т-ХЕЛПЕРОВ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ЮВЕНИЛЬНОГО ИДИОПАТИЧЕСКОГО АРТРИТА

© 2019 г. И. А. Пашнина<sup>1,2</sup>

E-mail: irina\_pashnina@list.ru

<sup>1</sup>Государственное автономное учреждение здравоохранения «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Поступила: 04.03.2019. Принята: 19.03.2019

Обследованы дети 6–17 лет с ювенильным идиопатическим артритом: 42 больных в стадии активности заболевания, 11 пациентов с медикаментозной ремиссией, 10 детей – со стойкой ремиссией (без лечения) и 27 здоровых детей (контроль). Методом проточной цитометрии выявлено, что после 24-часовой инкубации (37 °С, 5% CO<sub>2</sub>) спонтанное и стимулированное фитогемагглютинином количество регуляторных Т-клеток (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low/neg</sup>) у всех пациентов с ЮИА было снижено по сравнению с контролем. Количество активированных Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup>) не различалось.

**Ключевые слова:** ювенильный артрит, регуляторные Т-клетки, дети

DOI: 10.31857/S102872210006931-9

**Адрес:** 620149 Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 32, ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», клиничко-диагностическая лаборатория, Пашнина Ирина Александровна. Тел.: 8(343) 272-91-39, +79226004686 (моб.).

E-mail: irina\_pashnina@list.ru

**Автор:**

**Пашнина И. А.**, д.б.н., заведующая клиничко-диагностической лабораторией ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург, Россия; с.н.с. лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, Екатеринбург, Россия.

Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) – одно из наиболее часто встречающихся аутоиммунных-аутовоспалительных заболеваний у детей [1]. Оценка активности воспаления и эффективности терапии при аутоиммунной патологии в целом, и при ЮИА в частности, представляет значительную сложность. Лабораторные методы, используемые для этих целей, включая определение скорости оседания эритроцитов и концентрации С-реактивного белка, не всегда коррелируют с клинической картиной заболевания. Одной из возможных альтернатив может служить исследование субпопуляций активированных и супрессорных лимфоцитов

периферической крови. Снижение количества или функциональной активности регуляторных Т-клеток (Treg), основной ролью которых является подавление и ограничение иммунного ответа, наблюдается при различных аутоиммунных заболеваниях [2].

**Целью** работы явилась оценка спонтанного и стимулированного в условиях *in vitro* количества регуляторных Т-клеток и активированных Т-хелперов у детей с различной активностью ювенильного идиопатического артрита.

Обследованы дети 6–17 лет с ювенильным идиопатическим артритом: 42 больных в стадии активности заболевания (ЮИА-а) и 11 пациентов в стадии ремиссии (медикаментозная ремиссия, ЮИА-мр) получали болезнь-модифицирующую терапию (метотрексат и/или сульфасалазин и/или циклоспорин А); пациенты со стойкой ремиссией (10 детей, ЮИА-р) не принимали лекарственных препаратов. В качестве контрольной группы обследовано 27 условно здоровых детей. Образцы цельной периферической крови разводили глутаминсодержащей средой RPMI-1640 (Пан-Эко, Россия) в соотношении

1:9 и инкубировали в течение 24-х часов (37 °С, 5% CO<sub>2</sub>) без стимулятора и при стимуляции фитогемагглютинином (ФГА, Sigma) в конечной концентрации 20 мкг/мл. Оценку спонтанного и индуцированного количества Treg (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low/neg</sup>) и активированных Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup>) проводили методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA). Данные анализировали с помощью ковариационного анализа в рамках теории общих линейных моделей.

Спонтанное количество Treg у клинически здоровых детей составило 11,01%, во всех группах с ЮИА среднее значение не превышало 7% и было значимо ниже, чем в контроле (p<0,001). После стимуляции ФГА во всех исследованных группах число Treg увеличилось, наибольшее значение наблюдалось у здоровых детей: 57,76%. В группе с ЮИА-а число этих клеток достигло 36,21% (различия с контролем: p<0,01), в группе с ЮИА-мр — 41,21%, в группе с ЮИА-р — 28,23 (p<0,05). Как спонтанное, так и стимулированное количество CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup> во всех исследованных группах было менее 2% и не различалось.

Следует отметить, что количество регуляторных Т-клеток в периферической крови (без инкубации и стимуляции) у обследованных нами детей с ЮИА также было ниже контрольного при любой активности заболевания [3]. С.-М. Wei с соавт. в своем исследовании также выявили, что у детей с неактивной формой ювенильного идиопатического артрита количество регуляторных Т-клеток было снижено по сравнению со здоровыми детьми соответствующего возраста [4].

Таким образом, снижение числа Treg является стойким изменением в функционировании иммунной системы при ЮИА и не нормализуется даже в ремиссии заболевания. Дефицит су-

прессорных клеток, очевидно, является одним из ключевых механизмов развития ювенильного идиопатического артрита. Отсутствие восстановления количества регуляторных Т-клеток при ремиссии ЮИА может служить обоснованием длительного наблюдения за детьми со стойкой ремиссией заболевания. При этом целесообразно контролировать численность этой субпопуляции. Проведение длительных катamnестических наблюдений у пациентов со стойкой ремиссией должно дать ответ на вопрос, может ли количество Treg восстановиться до нормальных величин.

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (Регистрационный номер НИОКТР № АААА-А18-118020590108-7).

Автор искренне благодарит врачей Областной детской клинической больницы (г. Екатеринбург) Козлову Е. С., Скоробогатову О. В. за подбор пациентов для исследования.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Rypdal V., Arnstad E. D., Aalto K., Berntson L., Ekelund M., Fasth A., Glerup M., Herlin T., Nielsen S., Peltoniemi S., Zak M., Rygg M., Rypdal M., Nordal E. Predicting unfavorable long-term outcome in juvenile idiopathic arthritis: results from the Nordic cohort study. *Arthritis Research & Therapy* 2018, 20:91.
2. Sakaguchi S. Regulatory T Cells: History and Perspective. *Methods in Molecular Biology* 2011, 707, 3–17.
3. Пашина И. А. Субпопуляции Т-лимфоцитов у детей с различной активностью ювенильного идиопатического артрита. *Российский иммунологический журнал*. 2018, 12(21), 3, 391–395. [Pashina I. A. Subpopulation structure of T-Lymphocytes in children with different activity of juvenile idiopathic arthritis. *Russian Journal of Immunology*. 2018, 12(21), 3, 391–395.]
4. Wei C.-M., Lee J.-H., Wang L.-C., Yang Y.-H., Chang L.-Y., Chiang B.-L. Frequency and phenotypic analysis of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in children with juvenile idiopathic arthritis. *Journal of microbiology, immunology and infection* 2008, 41, 1, 78–87.

## SPONTANEOUS AND STIMULATED AMOUNT OF REGULATORY T-CELLS AND ACTIVATED T-HELPERS IN CHILDREN WITH DIFFERENT ACTIVITY OF JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

© 2019 I. A. Pashnina<sup>1,2</sup>

*E-mail: irina\_pashnina@list.ru*

<sup>1</sup>*Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russia;*

<sup>2</sup>*Institute of Immunology and Physiology, Urals Branch of the Russian Acad. Sci., Yekaterinburg, Russia*

**Received:** 04.03.2019. **Accepted:** 19.03.2019

Children of 6–17 years old with different activity of juvenile idiopathic arthritis were examined: 42 with active arthritis, 11 with remission (with therapy), 10 children with persistent remission (without therapy) and 27 apparently healthy children. It was revealed by flow cytometry that after 24-hours incubation (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>) the spontaneous and phytohemagglutinin-stimulated amount of regulatory T-cells (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low/neg</sup>) in all groups with juvenile idiopathic arthritis was decreased in comparison with healthy children. The number of activated T-helpers (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup>) in all groups was the same.

*Key words:* juvenile idiopathic arthritis, regulatory T-cells, children

**Author:**

**Pashnina I. A.**, PhD, Chief of Clinical Diagnostics Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation. Researcher of Laboratory of Immunology of Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Yekaterinburg, Russian.

## ДЕФЕНСИНЫ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

© 2019 г. Л. П. Пивоварова, И. В. Осипова\*, О. Б. Арискина, Е. А. Гоголева

\*E-mail: ivosipova@yandex.ru

ГБУ СПб НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе,  
Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 28.03.2019

Остается актуальным вопрос о значении воспалительных и иммунных механизмов повреждения мозга при цереброваскулярной патологии. Цель нашего исследования состояла в оценке уровня воспаления и антибактериального потенциала нейтрофильных гранулоцитов (НГ) у пациентов с ишемическим инсультом (ИИ). Материалы и методы. Обследовали 17 человек с ИИ в возрасте 68,5 (67;79) лет и 15 волонтеров в возрасте 65,0 (62,0;66,5) лет. Неврологический статус пациентов оценивали с помощью шкал NIHSS и Рэнкин, индекса мобильности Ривермид. Определяли содержание ИЛ-6, СРБ, кортизола, фибриногена, растворимых дефензинов (sDef) в крови на 1, 3 и 10 сутки после ИИ.  $\alpha$ -Дефензины в НГ (деф<sup>+</sup> НГ) оценивали с использованием МКА HNP1–3 (NCL-Defensin). Для оценки фагоцитарной активности НГ определяли фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ). Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием программ STATISTIKA 6.0. Основные результаты. Признаки системного воспаления наблюдали у пациентов с ИИ по увеличению содержания в крови НГ, ИЛ-6, СРБ, кортизола. Выявлена связь соматического статуса пациентов, размера очага поражения мозговой ткани, тяжести ИИ, степени инвалидизации, исхода ИИ с содержанием НГ и деф<sup>+</sup> НГ. Угнетение фагоцитоза у умерших было ассоциировано со степенью инвалидизации. Выявлена положительная связь деф<sup>+</sup> НГ с НГ ( $r=0.659$ ,  $p<0,001$ ), ИЛ-6 ( $r=0.659$ ,  $p<0,001$ ), кортизолом ( $r=0.573$ ,  $p<0,001$ ), фибриногеном ( $r=0.369$ ,  $p<0,05$ ). Полученные данные свидетельствуют о развитии системного воспаления и дисбалансе функциональной активности НГ у пациентов с ИИ, которые ассоциированы с тяжестью церебрального инсульта и создают риск развития инфекционных осложнений.

**Ключевые слова:**  $\alpha$ -дефензины, нейтрофильные гранулоциты, фагоцитоз, кортизол, интерлейкин-6, ишемический инсульт

DOI: 10.31857/S102872210006932-0

**Адрес:** 192242 Санкт-Петербург, ул. Будапештская, д. 3/5, ГБУ СПбНИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе, отдел лабораторной диагностики. Осипова Ирина Викторовна. Тел./факс: 8(812) 3844668; 8 921 963 79 48 (моб.).

**E-mail:** ivosipova@yandex.ru

**Авторы:**

**Пивоварова Л. П.**, д.м.н., руководитель отдела лабораторной диагностики ГБУ СПбНИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе, Санкт-Петербург, Россия;

**Осипова И. В.**, к.м.н., с.н.с. отдела лабораторной диагностики ГБУ СПбНИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе, Санкт-Петербург, Россия;

**Арискина О. Б.**, к.б.н., н.с.отдела лабораторной диагностики ГБУ СПбНИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе, Санкт-Петербург, Россия;

**Гоголева Е. А.**, к.м.н., заведующая неврологическим отделением для больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения ГБУ СПбНИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе, Санкт-Петербург, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Остается дискуссионным вопрос о значении воспалительных и иммунных механизмов в развитии цереброваскулярных заболеваний [1]. Нарушение функций мозговых центров при ишемии мозга и воспаление могут способствовать возникновению инфекционных осложнений у пациентов, перенесших инсульт [2]. Бактерицидный потенциал нейтрофильных гранулоцитов в значительной степени ассоциирован с антимикробными пептидами, в том числе и  $\alpha$ -дефенсинами (human neutrophil peptides, HNP), специфическими маркерами этих клеток [3].

**Цель** нашего исследования состояла в оценке уровня воспаления и антибактериального потенциала НГ у пациентов с ИИ.

## МЕТОДЫ

Обследовали 17 человек с ИИ в возрасте 68,5 (67; 79) лет и 15 волонтеров в возрасте 65,0 (62,0; 66,5) лет. Состояние пациентов соответствовало локализации и размеру очага церебральной ишемии, наличию сопутствующих заболеваний. Неврологический статус пациентов оценивали с помощью шкалы тяжести инсульта NIHSS, модифицированной шкалы инвалидизации Рэнкин, индекса мобильности Ривермид. Активность воспаления оценивали, определяя содержание СРБ (C-Reactive Protein, Roche), ИЛ-6, кортизола (ИФА, Вектор-Бест, Россия), фибриногена (StaCompact, Stago) в крови на 1, 3 и 10 сутки после ИИ. Бактерицидный потенциал НГ оценивали, выявляя HNP 1–3 в НГ (деф<sup>+</sup> НГ) с использованием МКА, NCL-Defensin (система визуализации NCL(UK) и измеряя концентрацию растворимых дефенсинов (sДеф) (Human HNP 1–3, HucultBiotech) в сыворотке крови. Для оценки фагоцитарной активности НГ определяли фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ) по степени поглощения частиц зимозана (Sigma). Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием программ STATISTIKA 6.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Признаки системного воспаления наблюдали у пациентов с ИИ, о чем свидетельствовало увеличение содержания в крови ИЛ-6, СРБ, кортизола во все сроки наблюдения. В 87% случаев отмечен нейтрофильный гранулоцитоз и умеренная лимфоцитопения. Гранулоцитоз сохранялся до 10 суток наблюдения у пациентов с летальным исходом (8,9 (8,4; 9,3)·10<sup>9</sup>/л), в то время как у пациентов с благоприятным исходом этот показатель нормализовался (4,0 (3,2; 5,2)·10<sup>9</sup>/л). Содержание деф<sup>+</sup> НГ у умерших на

1 и 3 сутки наблюдения превышало значение нормы в 2,5 и 2 раза соответственно. Выявлена положительная связь соматического статуса пациентов, размера очага поражения, тяжести ИИ, степени инвалидизации, исхода ИИ с содержанием НГ и деф<sup>+</sup> НГ. Количество лимфоцитов находилось в отрицательной связи с исходом ИИ ( $r = -0.404$ ,  $p < 0,01$ ), размером очага ( $r = -0.369$ ,  $p < 0,05$ ), NIHSS ( $r = -0.412$ ,  $p < 0,05$ ), шкалой Рэнкин ( $r = -0.543$ ,  $p < 0,001$ ) и положительно коррелировало с индексом мобильности ( $r = 0.623$ ,  $p < 0,001$ ). Угнетение фагоцитоза у пациентов с летальным исходом на 3 и 10 сутки было ассоциировано со степенью инвалидизации ( $r = -0.329$ ,  $p < 0,05$ ). Снижение способности НГ к фагоцитозу сочеталось с увеличенным содержанием в крови деф<sup>+</sup> НГ и sДеф. Отмечена отрицательная корреляция между деф<sup>+</sup> НГ и ФИ ( $r = -0.346$ ,  $p < 0,05$ ), ФЧ ( $r = -0.405$ ,  $p < 0,05$ ). Выявлена положительная связь деф<sup>+</sup> НГ с НГ ( $r = 0.659$ ,  $p < 0,001$ ), ИЛ-6 ( $r = 0.659$ ,  $p < 0,001$ ), кортизолом ( $r = 0.573$ ,  $p < 0,001$ ), фибриногеном ( $r = 0.369$ ,  $p < 0,05$ ). Полученные данные свидетельствуют о развитии системного воспалительного ответа и дисбалансе функциональной активности фагоцитов у пациентов с ИИ, которые ассоциированы с тяжестью церебрального инсульта и риском развития инфекционных осложнений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Chamorro A., Urra X., Planas A. M. Infection after acute ischemic stroke: a manifestation of brain-induced immunodepression. *Stroke*. 2007; 38:1097–1103.
2. Ruhnau J., Schulze K., Gaida B., Langner S., Kessler C., Bröker B., Dressel A., Vogelgesang A. Stroke alters respiratory burst in neutrophils and monocytes. *Stroke*. 2014; Mar; 45(3):794–800.
3. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2003; Sep; 3 (9):710–20.

## DEFENSINES IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE

© 2019 L. P. Pivovarova, I. V. Osipova\*, O. B. Ariskina, E. A. Gogoleva

\*E-mail: ivosipova@yandex.ru

Saint-Petersburg I. I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine,  
Saint-Petersburg, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 28.03.2019

The question of the importance of inflammatory and immune mechanisms of brain damage in cerebrovascular disease remains relevant. The aim of our study was to assess the level of inflammation and the anti-bacterial potential of neutrophilic granulocytes (NG) in patients with ischemic stroke (IS). Surveyed 17 people with IS aged 68.5 (67; 79) years and 15 volunteers aged 65.0 (62.0; 66.5) years. The neurological status of the patients was assessed using the NIHSS and Rankin scales, Rivermid Mobility Index. Blood IL-6, CRP, cortisol, fibrinogen, soluble defensins (s Def) levels at 1, 3 and 10 days after IS was determined.  $\alpha$ -Defensins in NG (def<sup>+</sup> NG) were evaluated usingm Abs HNP 1–3 (NCL-Defensin). To assess the phagocytic activity of NG, the phagocytic index (PI) and phagocytic number (PN) were determined. Statistical processing of the research results was carried out using STATISTIKA 6.0. Main results. Signs of systemic inflammation were observed in patients with IS blood levels of NG, IL-6, CRP and cortisol. The relationship of the somatic status of patients, the size of the lesion of the brain tissue, the severity of IS, the degree of disability, the outcome of IS with the content of NG and def<sup>+</sup> NG was revealed. Phagocytosis inhibition in the dead was associated with a degree of disability. A positive association between def<sup>+</sup> NG and NG ( $r = 0.659$ ,  $p < 0.001$ ), IL-6 ( $r = 0.659$ ,  $p < 0.001$ ), cortisol ( $r = 0.573$ ,  $p < 0.001$ ), fibrinogen ( $r = 0.369$ ,  $p < 0.05$ ). The data obtained indicate the development of systemic inflammation and an imbalance of the functional activity of NG in patients with IS, which are associated with the severity of cerebral stroke and create the risk of developing infectious complications.

*Key words:*  $\alpha$ -defensins, neutrophilic granulocytes, phagocytosis, interleukin-6, cortisol, ischemic stroke.

**Authors:**

**Pivovarova L. P.**, ✉ doctor of medical sciences, head of the laboratory diagnostics department of Saint-Petersburg I. I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint-Petersburg, Russia. **E-mail:** ivosipova@yandex.ru

**Osipova I. V.**, PhD, Senior Researcher, Laboratory Diagnostics Department of Saint-Petersburg I. I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint-Petersburg, Russia

**Ariskina O. B.**, PhD in Biology, Research Assistant of the Laboratory Diagnostics Department of Saint-Petersburg I. I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint-Petersburg, Russia

**Gogoleva E. A.**, Ph.D., Head of the Neurology Department for Patients with Acute Cerebral Circulation Disorders of Saint-Petersburg I. I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint-Petersburg, Russia

## КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

© 2019 г. Д. В. Поляков\*, Е. Н. Конопля

\*E-mail: [dima-polaykov@mail.ru](mailto:dima-polaykov@mail.ru)

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»

Минздрава РФ, Курск, Россия

Поступила: 12.02.2019. Принята: 25.02.2019

Проблема адекватного ведения больных внебольничной пневмонией требует нахождения новых методов ее решения. Проведенное обследование больных внебольничной бактериальной пневмонией средней степени тяжести показало, что назначение стандартной терапии не позволило нормализовать большинство параметров отражающих состояние системы комплемента и цитокинов. В группе обследуемых, где традиционная терапия сопровождалась подключением Дерината, Мексикора и Эссенциале форте Н произошло существенное снижение уровня большего числа маркеров иммунного воспаления. Дополнительное применение иммуномодулирующей, антиоксидантной и мембранопротекторной терапии является иммунологически обоснованным.

**Ключевые слова:** внебольничная пневмония, иммунное воспаление, иммуномодулирующая, антиоксидантная и мембранопротекторная терапия

DOI: 10.31857/S102872210006933-1

Адрес: 305041, Курск, ул. Карла Маркса, д.3, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ Поляков Дмитрий Викторович.  
Тел.: 89102134162 (моб.).

E-mail: [dima-polaykov@mail.ru](mailto:dima-polaykov@mail.ru)

Авторы:

**Поляков Д. В.**, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия;  
**Конопля Е. Н.**, д.м.н., заведующая кафедрой пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия

Инфекции нижних дыхательных путей являются одними из наиболее распространенных заболеваний человека и занимают главенствующее место в структуре заболеваемости и развития фатальных осложнений от инфекционных болезней [1].

Цитокины являются наиболее важной и универсальной в функциональном отношении группой гуморальных факторов системы иммунитета, играют важную роль в нормальном функционировании эндотелия, опосредуют межклеточные взаимодействия при кроветворении, воспалении, иммунных процессах и межсистемных коммуникациях. Система комплемента взаимодействует с другими гуморальными системами, активируемые при воспалительных процессах и способ-

ствует вовлечению этих систем в реакцию иммунного воспаления. Отложение компонентов комплемента в составе иммунных комплексов на биологических мембранах инициирует развитие иммунопатологии в результате привлечения в очаг поражения макрофагов и других эффекторов иммунного воспаления [2].

**Целью исследования** стало изучение состояния системы цитокинов и комплемента, а также возможности фармакологической коррекции выявленных нарушений при ВП средней тяжести.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В результате проведенного скрининга в обследование было включено 26 мужчин и 30 женщин (средний возраст составил  $48,04 \pm 3,4$  лет) проходивших стационарное лечение по поводу впервые выявленной внебольничной бактериальной пневмонии. Продолжительность заболевания на амбулаторном этапе составила  $8,1 \pm 1,09$  дней и в данный период 24 (42,9%) пациента использовали антибактериальную терапию. У 46 больных проводилось стандартное антибактериальное лечение. В схему терапии 10 пациентов, кроме традиционной терапии, использовали Деринат, Мексикор и Эссенциале форте Н. Содержание цитокинов, компонен-

тов комплемента и их ингибиторов определяли в плазме крови. При определении ингибиторов системы комплемента концентрацию фактора Н устанавливали диагностическим набором ООО «Цитокин» (Россия) с использованием двух принципов: гемолитического метода учета активации СК и ИФА-метода детекции терминального комплекса, выявляемого специфическими антителами, а активность  $C_1$ -ингибитора выявляли хромогенным методом по способности ингибировать  $C_1$ -эстеразу. Регистрация всех результатов ИФА осуществлялась при помощи микропланшетного фотометра «Sunrise», Тесап (Австрия). Кроме того, изучены иммунологические и метаболические показатели в образцах плазмы и эритроцитах периферической крови 18 здоровых доноров ( $38,2 \pm 4,5$  года), сформировавших контрольную группу.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первоначально изучено влияние общепринятого лечения на состояние системы комплемента и цитокинов у пациентов ВП. В плазме крови таких больных до начала лечения установлено повышение провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17 и IL-18) и снижение противовоспалительных (IL-4, IL-10 и IL-1RA). Содержание IFN $\gamma$ , IL-2 и ростового фактора G-CSF оказалось выше параметров здоровых доноров. После проведенного лечения концентрации IL-4 и IL-10 нормализовались, уровень IL-17 и IFN $\gamma$  не изменялся, а содержание остальных исследованных цитокинов корректировалось в сторону значения здоровых доноров, но не до их значений. На момент поступления в клинику у пациентов с ВП из других параметров иммунного статуса выявлено снижение содержания  $C_3$ ,  $C_{3a}$ ,  $C_4$ ,  $C_5$ -компонентов комплемента и  $C_1$ -ингибитора, повышение  $C_{5a}$ , а уровень ингибитора фактора Н остался в пределах нормы. После проведенного общепринятого лечения концентрации  $C_1$ -ингибитора нормализовались, содержание  $C_{3a}$ ,  $C_4$ ,  $C_{5a}$  и IgA корректировалось в сторону значения здоровых доноров, уровень  $C_3$ ,  $C_5$ -компонентов комплемента и фактора Н не изменялись. Таким образом, из 19 исследованных параметров, характеризующих состояние системы комплемента и цитокинов, 94,7% оказались измененными от значений здоровых доноров. Проведенный курс общепринятого лечения, не нормализовал 83,3% таких показателей. В связи с этим нами проведено корректирующая фармакотерапия с использованием препаратов с иммуномодели-

рующим (Деринат), антиоксидантным (Мексикор) и мембранопротекторным (Эссенциале форте Н) действием. Установлено, что использование данной комбинации фармакологических средств, в дополнение к общепринятому лечению по сравнению с таковым, нормализует содержание в плазме крови IL-6, IL-8, IL-18, и  $C_{5a}$ -компонента комплемента, компенсаторно увеличивает концентрацию ингибитора системы комплемента фактора Н и приближает до уровня здоровых доноров, но не до их значений, все остальные исследованные параметры системы цитокинов и комплемента. Таким образом, нами установлено прямое участие системы комплемента и цитокинов в иммунном воспалении у пациентов с ВП, о чем свидетельствует повышенный в плазме крови уровень провоспалительных (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-18, IL-17) с компенсаторным снижением противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10 и IL-1RA), повышением содержания IFN $\gamma$ , освобождающихся при активации системы комплемента фрагмента  $C_{5a}$ , который является активным хемотаксическим и сосудорасширяющим фактором, обладающим анафилактической активностью и участвующим в реакциях воспаления и гиперчувствительности), отсутствие компенсаторного повышения ингибитора (фактор Н), снижение  $C_1$ -инг. Использование в общепринятом лечении комбинации Дерината, Эссенциале Н и Мексикора эффективно снижает уровень маркеров иммунного воспаления при ВП.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Чучалин А. Г., Синопальников А. И., Козлов Р. С., Тюрин И. Е., Рачина С. А. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. Пособие для врачей.— М.: РРО, МАКМАХ, 2010.— 106 с. [Chuchalin A. G., Sinopal'nikov A. I., Kozlov R. S., Tyurin I. E., Rachina S. A. Community-acquired pneumonia in adults: practical recommendations for the diagnosis, treatment and prevention. Manual for doctors. M.: RRO, MAKMAKH; 2010: 106]
2. Конопля Е. Н., Поляков Д. В. Иммунологические и метаболические параметры плазмы крови и эритроцитов у больных внебольничной пневмонией на фоне стандартного лечения // Человек и его здоровье.— 2018.— № 3.— С. 38–46.— DOI: 10.21626/vestnik/2018-3/06. [Konoplya E. N., Polyakov D. V. Immune and metabolic parameters of blood plasma and erythrocytes in patients with community-acquired pneumonia on the back of standard treatment. Kursk scientific and practical bulletin «Man and his health». 2018; 3: 38–46].

## CORRECTION OF IMMUNE ALTERATIONS IN PATIENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

© 2019 D. V. Polyakov\*, E. N. Konoplya

\*E-mail: [dima-polaykov@mail.ru](mailto:dima-polaykov@mail.ru)

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kursk State Medical University»  
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Kursk, Russia

Received: 12.02.2019. Accepted: 25.02.2019

The problem of suitable management of the patients with community-acquired pneumonia requires new methods for solving. The conducted examination of the patients with moderate severity community-acquired bacterial pneumonia has showed that assignment of standard therapy did not allow to normalize most of the parameters reflecting condition of the system complement and cytokines. In the group of patients, where traditional therapy was followed by addition of Derinat, Mexicor and Essentiale Forte H, was a significant decrease of more markers of immune inflammation. The additional use of immunomodulatory, antioxidant and membrane-protective therapy is immunologically reasonable.

*Key words:* community-acquired pneumonia, immune inflammation, immunomodulating, antioxidant and membrane-protective therapy

### Authors:

**Polyakov D. V.**, ✉ PhD, associate professor of the department of Propaedeutics of Internal Diseases of Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kursk State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Kursk, Russia. **E-mail:** [dima-polaykov@mail.ru](mailto:dima-polaykov@mail.ru);

**Konoplya E. N.**, MD, Head of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases of Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kursk State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Kursk, Russia.

## АНТИЦИТОКИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ *E. COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МОЧИ ПРИ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ

© 2019 г. Л. П. Попова<sup>1</sup>, Т. М. Пашкова<sup>1</sup>, Н. В. Морозова<sup>1</sup>,  
М. Д. Кузьмин<sup>1,2</sup>, О. Л. Карташова<sup>1\*</sup>

\*E-mail: labpersist@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

<sup>2</sup>ГБУЗ Оренбургская областная клиническая больница, Оренбург, Россия

Поступила: 13.03.2019. Принята: 26.03.2019

Установлен высокий уровень распространенности и выраженности антицитокиновой активности у *E. coli*, изолированных из мочи больных МКБ с послеоперационными воспалительными осложнениями, разработан алгоритм прогнозирования риска их развития с использованием полученных данных.

**Ключевые слова:** мочекаменная болезнь, *Escherichia coli*, антицитокиновая активность

DOI: 10.31857/S102872210006935-3

Адрес: 460000 Оренбург, ул. Пионерская, д. 11, ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, лаборатория персистенции и симбиоза микроорганизмов. Карташова Ольга Львовна.

Тел./факс +7 (3532) 774463, 8 996 924 25 19 (моб.).

E-mail: labpersist@mail.ru

**Авторы:**

**Попова Л. П.**, к.м.н., с.н.с. лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Пашкова Т. М.**, к.б.н., с.н.с. лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Морозова Н. В.**, н.с. лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Кузьмин М. Д.**, д.м.н., в.н.с. лаборатории по изучению механизмов формирования микробных биоценозов человека ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия; уролог-консультант ГБУЗ Оренбургская областная клиническая больница, Оренбург, Россия;

**Карташова О. Л.**, д.б.н., в.н.с. лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Мочекаменная болезнь (МКБ) является одной из самых актуальных проблем урологии и медицины в целом. Установлено важное значение оценки цитокинового профиля у больных для диагностики и прогноза течения МКБ, осложненной пиелонефритом [1]. Однако при

этом, в прогнозе течения болезни не учитывается значимость этиологического компонента, его агрессивность и способность инактивировать факторы защиты макроорганизма. Установлено, что наличие микроорганизмов в лоханке почки после литотрипсии может способствовать развитию инфекционно-воспалительных осложнений [2], а также рецидиву заболевания. Известно, что возникновение осложнений обусловлено спектром биологических свойств микроорганизмов, инициирующих воспалительный процесс [3]. Показана способность ряда микроорганизмов изменять в условиях *in vitro* концентрацию цитокинов [4].

**Целью** работы явилась оценка информативности антицитокиновой активности микроорганизмов для прогнозирования развития послеоперационных воспалительных осложнений у больных мочекаменной болезнью.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 39 пациентов в возрасте от 27 до 89 лет, из них 22 (56,4%) женщины и 17 (43,6%) мужчин, которым было выполнено оперативное лечение по поводу камней почек и мочеточников в урологическом отделении Оренбургской областной клинической больницы. Все операции заканчивались установкой нефростомического дренажа с закрытой системой. При

хирургическом вмешательстве отбирали пробы мочи из почечной лоханки для проведения бактериологического исследования. Микроорганизмы выделяли в чистой культуре и идентифицировали до вида с использованием тест-систем «Lachema» (Чехия). Антицитокиновую активность (АЦА) в отношении провоспалительных (IL-6, IL-8) и противовоспалительных цитокинов (IL-2, IL-10, TNF $\alpha$ ) определяли по [5]. Бактериологические параметры (вид микроорганизмов, их АЦА) сравнивали с тяжестью процесса у больных с благоприятно протекающим послеоперационным периодом (29 случаев – 1 группа) и с развитием послеоперационных воспалительных осложнений (9 случаев – 2 группа).

Статистическую обработку проводили с помощью параметрических методов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При бактериологическом исследовании мочи у 19 пациентов 1 группы (65,5%) установлено отсутствие роста бактериальной флоры. У 10 пациентов (34,5%) были выделены микроорганизмы, из них у 5 (50,0%) бактерии обнаружены в моноварианте и у 5 (50,0%) в ассоциациях, степень бактериурии варьировала от  $1 \times 10^3$  до  $1 \times 10^5$  КОЕ/мл. В структуре микроорганизмов лидирующее место занимали *Escherichia coli*, которые высевались у 2 пациентов в монокультуре и у 5 – в ассоциациях с *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, а также с разными видами стафилококков: *Staphylococcus haemolyticus*, *S. aureus* и *S. epidermidis*. У 2 пациентов в монокультуре были выделены *P. mendocina* и у одного – *Klebsiella oxytoca*. Рост микроорганизмов из мочи отсутствовал лишь у одного пациента 2 группы. У 5 больных *E. coli* высевалась в монокультуре, у одного – в ассоциации со стафилококками (*S. aureus* и *S. epidermidis*) и у одного – в ассоциации с *Proteus mirabilis*. *P. mirabilis* также был выделен в монокультуре и в ассоциации с *M. morganii*. Степень бактериурии варьировала от  $1 \times 10^3$  до  $5 \times 10^4$  КОЕ/мл. Проведен сравнительный анализ распространенности и выраженности АЦА *E. coli*, как наиболее часто выделяемого микроорганизма, у больных 1 и 2 групп. Установлено, что все штаммы *E. coli* 2 группы, характеризовались способностью к инактивации изученных про- и противовоспалительных цитокинов, за исключением TNF $\alpha$ , концентрацию которого изменяли 75% культур как 2, так и 1 группы. Однако выраженность признака у штаммов 2 группы составляла  $18,6 \pm 11,9\%$ ,

тогда как у штаммов 1 группы –  $7,9 \pm 1,5\%$  ( $p < 0,01$ ). АЦА в отношении IL-6 у штаммов 2 группы регистрировали в 100% случаев с показателем  $28,7 \pm 5,3\%$ , у культур 1 группы фиксировали в 62,5%, а среднее значение признака составило  $1,9 \pm 0,7\%$  ( $p < 0,001$ ). Среди штаммов 2 группы АЦА в отношении IL-8 обнаружена в 100% случаев, кишечные палочки 1 группы характеризовались способностью к инактивации IL-8 в 75% случаев, среднее значение признака у штаммов данных групп было равно  $19,9 \pm 1,7\%$  и  $7,5 \pm 2,1\%$  соответственно ( $p < 0,01$ ). У изученных кишечных палочек 2 группы АЦА в отношении IL-10 и IL-2 выявлена в 100% случаев; тогда как среди штаммов, выделенных от пациентов 1 группы, обнаружено только 50% и 87,5% активных культур соответственно. Выраженность АЦА у *E. coli* 2 группы в отношении IL-2 была в 4 раза выше ( $21,1 \pm 1,6\%$ ), а в отношении IL-10 в 5 раз выше ( $18,6 \pm 2,1\%$ ), чем данный показатель у штаммов 1 группы ( $5,3 \pm 1,7\%$ ;  $3,5 \pm 2,1\%$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ).

Таким образом, в результате проведенного нами исследования охарактеризован таксономический состав микроорганизмов, выделенных из лоханочной мочи у больных МКБ во время операции. В условиях *in vitro* установлена способность изолированных *E. coli* изменять концентрацию изученных цитокинов. Полученные результаты о высоком уровне выраженности АЦА у культур, выделенных у пациентов 2 группы, были использованы для разработки алгоритма прогнозирования риска развития послеоперационных осложнений у больных мочекаменной болезнью, с применением данных биологических свойств микроорганизмов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Антонов А. Г., Годин М. К. Возможности использования маркеров воспаления при мочекаменной болезни, осложненной пиелонефритом. Дальневосточный медицинский журнал. 2017, 2, 93–98. [Antonov A. G., Godin M. K. Renal tissue damage markers in urolithiasis complicated by pyelonephritis. Far Eastern medical journal. 2017, 2, 93–98].
2. Ларцова Е. В., Спивак Л. Г., Морозова О. А. Бактериальная обсемененность мочи у пациентов с крупными и коралловидными камнями почек. Вестник урологии. 2015, 2, 34–37. [Lartsova E. V., Spivak L. G., Morozova O. A. Bacterial contamination of urine in patients with large and Staghorn stones of the kidney. Vestnik urologii. 2015, 2, 34–37].
3. Гриценко В. А., Иванов Ю. Б. Роль персистентных свойств микроорганизмов в патогенезе эндогенных инфекций. Журнал микробиологии, эпидемиологии и инфекционных заболеваний. 2015, 13(1), 1–6.

- демиологии и иммунобиологии. 2009, 4, 66–71. [Gritsenko V.A., Ivanov Yu.B. Role of persistence characteristics of microorganisms in pathogenesis of endogenous infections. *Jornal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2009, 4, 66–71].
4. Сычева М. В., Карташова О. Л. Биологические свойства энтерококков различного происхождения. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015, 4, 17–21. [Sycheva M. V., Kartashova O. L. Biological properties of enterococci of various origins. *Jornal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2015, 4, 17–21].
5. Бухарин О. В., Перунова Н. Б., Чайникова И. Н., Иванова Е. В., Смолягин А. И. Антицитокиновая активность микроорганизмов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011, 4, 56–61. [Bukharin O. V., Perunova N. B., Chaynikova I. N., Ivanova E. V., Smolyagin A. I. Anti-cytokine activity of microorganisms. *Jornal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2011, 4, 56–61].

## ANTICYTOKINE ACTIVITY OF *E. COLI* STRAINS, ISOLATED FROM URINE WITH UROLITHIASIS

© 2019 L. P. Popova<sup>1</sup>, T. M. Pashkova<sup>1</sup>, N. V. Morozova<sup>1</sup>, M. D. Kyz'min<sup>1,2</sup>, O. L. Kartashova<sup>1\*</sup>

\*E-mail: labpersist@mail.ru

<sup>1</sup>FSBIS Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UB of the RAS, Orenburg, Russia;

<sup>2</sup>SBHCl Orenburg Regional Clinical Hospital, Orenburg, Russia

Received: 13.03.2019. Accepted: 26.03.2019

A high level of prevalence and severity of anticytokine activity in *E. coli* isolated from the urine of ICD patients with postoperative inflammatory complications was established, an algorithm was developed for predicting the risk of their development using the data obtained.

*Key words:* urolithiasis disease, *Escherichia coli*, anticytokine activity

### Authors:

**Popova L. P.**, PhD (med.sci.), senior researcher of the laboratory of persistence and symbiosis of microorganisms of the FSBIS Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UB of the RAS, Orenburg, Russia;

**Pashkova T. M.**, PhD (biol.sci.), senior researcher of the laboratory of persistence and symbiosis of microorganisms of the FSBIS Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UB of the RAS, Orenburg, Russia;

**Morozova N. V.**, researcher of the laboratory of persistence and symbiosis of microorganisms of the FSBIS Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UB of the RAS, Orenburg, Russia;

**Kuz'min M. D.**, Dr. Med. Sci., leading researcher of the laboratory for the study of the mechanisms of formation of microbial human biocenoses of the FSBIS Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UB of the RAS, Orenburg, Russia; consultant urologist of the SBHCl Orenburg Regional Clinical Hospital, Orenburg, Russia;

**Kartashova O. L.**, ✉ Dr. Biol. Sci., leading researcher of the laboratory of persistence and symbiosis of microorganisms of the FSBIS Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UB of the RAS, Orenburg, Russia. E-mail: labpersist@mail.ru

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУННОГО ОТВЕТА У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

© 2019 г. Е. В. Просекова<sup>1\*</sup>, Т. С. Ситдикова<sup>2</sup>, А. И. Турянская<sup>1</sup>

\*E-mail: pros.ev@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»

Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>КГБУЗ «Владивостокский клинико-диагностический центр»,

Минздрава РФ, Владивосток, Россия

Поступила: 22.02.2019. Принята: 05.03.2019

Изучались структурно-функциональные характеристики иммунокомпетентных клеток периферической крови 120 детей с бронхиальной астмой (БА) и 30 здоровых сверстников. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре «COULTER EPICS XL» фирмы Beckman Coulter Inc. со статистической обработкой по программе «Statistica 10» с критическим уровнем значимости  $p < 0,05$ . При сравнении показателей детей с БА и здоровых сверстников зафиксировано повышение числа Th17, снижение абсолютного числа лимфоцитов, В- и Т-лимфоцитов с увеличением доли последних с маркерами ранней и поздней активации. Проведенные исследования зафиксировали у детей с БА изменения в субпопуляционном составе и функциональной активности Т-лимфоцитов, определяющие дисбаланс иммунного ответа, активацию регуляции распознавания антигенов, запуска и реализации иммунного ответа, пролиферации и дифференцировки лимфоцитов.

**Ключевые слова:** иммунокомпетентные клетки, бронхиальная астма, дети

DOI: 10.31857/S102872210006936-4

**Адрес:** 690002 Владивосток, проспект Острякова д.2, ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, кафедра КЛД, общей и клинической иммунологии. Просекова Елена Викторовна. Тел.: 8 908 993 09 04 (моб).

**E-mail:** pros.ev@mail.ru

**Авторы:**

**Просекова Е. В.**, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Ситдикова Т. С.**, врач аллерголог-иммунолог, заведующая отделением КГБУЗ «Владивостокский клинико-диагностический центр», Владивосток, Россия;

**Турянская А. И.**, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия.

При бронхиальной астме иммуноопосредованный воспалительный процесс в дыхательных путях реализуется множественными патофизиологическими механизмами. Различия иммунологических механизмов в инициации

и реализации бронхиальной астмы (БА) обуславливают патогенетическую гетерогенность и разнообразие форм болезни [1, 2, 3]. Структурно-функциональные характеристики клеточных популяций иммунной системы человека отражают реакции организма на негативное воздействие средовых физиологических или патологических факторов, активацию или истощение иммунной системы [1, 3, 4, 5]. Изучение патогенетических процессов с учетом иммунных механизмов воспаления при БА, позволяет обеспечить индивидуализированный подход в фармакотерапии.

**Цель исследования** – изучение структурно-функциональных характеристик иммунокомпетентных клеток периферической крови детей с бронхиальной астмой.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 120 детей (в возрасте 3–11 лет) с верифицированным диагнозом

бронхиальной астмы с клиническим течением средней степени тяжести в межприступный период и 30 здоровых сверстников. Критериями исключения из исследования являлись тяжёлое течение БА и применение иммунокорректирующих препаратов в предшествующие 6 месяцев. Материалом исследования иммунологических параметров являлась венозная кровь. Анализ иммунокомпетентных клеток периферической крови проводили с помощью многопараметрового проточного цитофлюориметра «COULTER EPICS XL» фирмы Beckman Coulter Inc, с подбором панелей моноклональных антител с многоцветной комбинацией флюорохромов. Определяли CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>CD95<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>, CD3<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>-</sup>HLA-DR<sup>+</sup>. Для идентификации Th17-клеток использовали антитела к антигенам CD3 PE, CD4 PE, CD45 FITC, CD45RA VioBlue, CD45RA VioBlue, CD196 APC (REA277) и внутриклеточному IL-17A PE-Vio770. Результаты учитывали в виде процента позитивных клеток и в абсолютных значениях. Обработку цифровых данных проводили методами описательной, параметрической и непараметрической статистики с применением программы «Statistica 10» с критическим уровнем значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании у здоровых детей определены показатели Т-лимфоцитов — 2356,90 ± 126,95 кл/мкл, Т-хелперов — 1335,91 ± 93,51 кл/мкл, Т-цитотоксических лимфоцитов — 893,73 ± 55,73 кл/мкл, Т-лимфоцитов с маркерами ранней — 137,45 ± 4,67 кл/мкл и поздней активации — 76,01 ± 11,96 кл/мкл, В-лимфоцитов — 548,59 ± 41,31 кл/мкл, натуральных киллеров — 363,50 ± 42,42 кл/мкл, цитолитических Т-лимфоцитов — 211,36 ± 18,78 кл/мкл, Th17 — 15,09 ± 1,95 кл/мкл. У детей с БА показатели Т-лимфоцитов — 1899,54 ± 140,54 кл/мкл, Т-хелперов — 968,98 ± 61,46 кл/мкл, Т-цитотоксических — 805,61 ± 68,67 кл/мкл, Т-лимфоцитов с маркером ранней — 189,54 ± 16,16 кл/мкл, и поздней — 106,19 ± 13,98 кл/мкл активации, В-лимфоцитов — 421,96 ± 37,01 кл/мкл, натуральных киллеров — 312,21 ± 27,14 кл/мкл и цитолитических

НКТ-клеток — 180,87 ± 24,92 кл/мкл и Th17 — 63,78 ± 12,00 кл/мкл. При сравнении показателей детей с БА и здоровых сверстников не выявлено достоверных различий в содержании лейкоцитов и натуральных киллеров, зафиксировано повышение числа Th17, снижение абсолютного числа лимфоцитов ( $p < 0,01$ ), В- и Т-лимфоцитов ( $p < 0,05$ ) с увеличением числа последних с маркерами ранней и поздней активации ( $p < 0,05$ ). Определение функциональных маркеров лимфоцитов, дает возможность оценить активационную способность клеток в норме и патологических состояниях [1, 3].

Проведенные исследования у детей с БА зафиксировали изменения в субпопуляционном составе, функциональной активности Т-лимфоцитов, определяющие дисбаланс иммунного ответа, активацию регуляции распознавания антигенов, запуска и реализации иммунного ответа, пролиферации и дифференцировки лимфоцитов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Akdis M. The pathogenesis of asthma. EAACI Global Atlas of Asthma. Zurich: European Academy of Allergy and Clinical Immunology. 2013. P. 28–30.
2. Курбачева О. М., Павлова К. С. Фенотипы и эндотипы бронхиальной астмы: от патогенеза и клинической картины к выбору терапии. Российский аллергологический журнал. 2013, 1, 15–24. [Kurbacheva O. M., Pavlova K. S. Phenotypes and endotypes of bronchial asthma: from pathogenesis and clinical features to therapy. Russian Allergology Journal. 2013, 1, 15–24].
3. Massimo Triggiani, Marek Jutel, Edward F. Knol. The Underlying Mechanisms of Asthma. EAACI Global Atlas of Asthma. Zurich: European Academy of Allergy and Clinical Immunology. 2013. P. 31–34.
4. Willem van de Veen., Mübeccel Akdis. Mechanisms of immunoregulation in allergy. EAACI Global Atlas of allergy. Zurich: European Academy of Allergy and Clinical Immunology. 2014, 90–91.
5. Литвинова Л. С., Гуцол А. А., Сохоневич Н. А., Кованова К. А., Хазиахматова О. Г., Шуплетцова В. В., Кайгородова Е. В., Гончаров А. Г. Основные поверхностные маркеры функциональной активности Т-лимфоцитов. Медицинская иммунология. 2014, 16 (1):7–26. [Litvinova L. S., Gutsol A. A., Sokhoneyevich N. A., Kofanova K. A., Khaziakhmatova O. G., Shupletsova V. V., Kaygorodova E. V., Goncharov A. G. Basic surface markers of functional activity T-lymphocytes. Medical immunology. 2014, 16 (1): 7–26].

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTIC  
OF CELLULAR ARM OF THE IMMUNE RESPONSE IN CHILDREN  
WITH BRONCHIAL ASTHMA**

© 2019 E.V. Prosekova<sup>1\*</sup>, T. S. Sitdikova<sup>2</sup>, A. I. Turyanskaya<sup>1</sup>

\*E-mail: pros.ev@mail.ru

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Pacific State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Vladivostok, Russia;

<sup>2</sup>Regional State Budgetary Healthcare Institution "Vladivostok Clinical and Diagnostic Centre", Vladivostok, Russia

**Received:** 22.02.2019. **Accepted:** 05.03.2019

We have studied the structural and functional parameters of cellular component of immune system in 120 children with verified diagnosis of bronchial asthma (BA) and 30 healthy children of the same age. To analyze cellular parameters, we used flow cytometer COULTER EPICS XL by Beckman Coulter Inc. with statistical processing by Statistica 10 program with critical significance level  $p < 0.05$ . As compared to the healthy children's parameters, the children with BA showed higher level of Th17, decreased absolute number of lymphocytes, B- and T-lymphocytes, with the increase in the share of T-lymphocytes with the early and late activation markers. The studies performed identified in children with BA the changes in the pattern of lymphocyte subpopulations and functional activity of T-lymphocytes which determine the immune response imbalance, activation of antigen recognition regulation, triggering and realization of immune response, lymphocyte proliferation and differentiation.

*Key words:* immune competent cells, bronchial asthma, children

**Authors:**

**Prosekova E. V.**, ✉ Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of Department of Clinical Laboratory Diagnostics and General and Clinical Immunology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia. **E-mail:** pros.ev@mail.ru;

**Sitdikova T. S.**, Allergist and Clinical Immunologist, Head of Department of Regional State Budgetary Healthcare Institution "Vladivostok Clinical and Diagnostic Centre", Vladivostok, Russia;

**Turyanskaya A. I.**, Assistant of Department of Clinical Laboratory Diagnostics and General and Clinical Immunology, "Pacific State Medical University", Vladivostok, Russia.

## КЛЕТКИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

© 2019 г. И. В. Радьков, Н. Г. Плехова\*, С. В. Зиновьев,  
В. Б. Шуматов

\*E-mail: pl\_nat@hotmail.com

ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет  
Минздрава РФ, Владивосток, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 11.03.2019

При экспериментальном моделировании черепно-мозговой травмы (ЧМТ) в тканях головного мозга проведено комплексное иммуногистохимическое исследование количественного содержания клеток врожденного иммунитета, экспрессирующих рецепторы CD45, CD14, CD16, CD11b и F4/80. Установлено, что количество CD16/11 позитивных макрофагов субпопуляции M1 увеличивалась в микроглии на 2-й день после ЧМТ и значительно повышалась до 8 суток. В мозолистом теле и ипсилатеральной области полосатого тела экспрессия CD16/11b также достигла максимума через 8 дней после ЧМТ и коррелировала с увеличением позитивной реакции на наличие эндотелиального антигена SMI71. Показаны существенные структурные преобразования нервной ткани при ЧМТ, и, сопряженный с нарушением проницаемости гематоэнцефалическим барьером, выход в нее периферических иммунных клеток. Доказаны дизрегуляторные изменения нейроиммунных связей при ЧМТ.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, клетки врожденного иммунитета, нейроиммунные связи

DOI: 10.31857/S102872210006937-5

Адрес: 690002 Владивосток, ул. Острякова д. 4, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Плехова Наталья Геннадьевна.  
Тел.: 8 962 339 63 91 (моб.)

E-mail: pl\_nat@hotmail.com

Авторы:

**Плехова Н. Г.**, д.б.н., заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Радьков И. В.**, аспирант Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Зиновьев С. В.**, к.м.н., с.н.с. Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Шуматов В. Б.**, д.м.н., профессор, ректор ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия.

Патологическое изменение головного мозга при черепно-мозговой травме (ЧМТ) разграничено во времени на две фазы: первичная или начальная, и ее последующая – вторичная, при которой развивается комплексный каскад патофизиологических и нейрохимических реакций.

Традиционно, считается, что центральная нервная система, отграниченная гематоэнцефалическим барьером (ГМБ), относится к органам иммунных привилегий. Тем не менее, в последние десятилетия установлено, что при травмах и воспалении иммунные клетки крови способны преодолевать ГМБ и проникать в паренхиму мозга [1]. Также мозг содержит популяцию собственных резидентных клеток врожденного иммунитета (микроглия и астроциты), которая при повреждении подвергается заметному пополнению, размножению и активации. На настоящий момент до конца не ясна роль периферических клеток врожденного иммунитета в развитии воспаления головного мозга при ЧМТ.

**Цель исследования:** провести иммуногистохимический структурный анализ состояния головного мозга (ГМ) при экспериментальной черепно-мозговой травме.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили на половозрелых крысах-самцах Wistar, (150–200 г), дизайн исследования одобрен междисциплинар-

ным этическим комитетом ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России (№ 9 от 18.10.2017). ЧМТ воспроизводили, используя модель «падающего груза», в динамике (2 ч, 1, 2, 8 и 14 дней) проводили иммуногистохимическое исследование ГМ. Для выявления локализации иммунных клеток использовали моноклональные антитела крысы к рецепторам CD11b, CD14, CD16, CD45, F4/80 (Abcam, США) в разведении 1:200, в качестве вторичных антител применяли поликлональные антитела к IgG мыши, меченные пероксидазой и Alexa Fluore 488, и для оценки проницаемости ГМБ – антитела против эндотелиального антигена SMI71, меченные Alexa Fluore 594. Препараты оценивали с помощью микроскопа NikonTi (Япония), оснащенного цифровой камерой Zyla USB3.05.5MP (Andor, Англия). Морфометрическую обработку полученных изображений проводили с помощью программы NIS-Elements (Nikon).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При гистологическом исследовании ГМ животных с ЧМТ легкой степени отмечено отсутствие грубых морфологических изменений структуры, тогда как при средней и тяжелой степени травмы в менингеальной оболочке обнаруживалось наличие полнокровных расширенных сосудов с периваскулярным отеком и кровоизлияние в желудочки, что указывало на распространение ударного импульса в глубокие слои мозга. Анализ структуры популяции иммунокомпетентных клеток микроглии проводился в коре, стриатуме и мозолистом теле в месте нанесения ЧМТ и в контралатеральных регионах, по наличию позитивной реакции на присутствие CD45, CD14, CD11b, CD16 и F4/80-ассоциированных маркерных белков. Установлено, что экспрессия маркеров CD16/11b, которые характерны для субпопуляции макрофагов M1, увеличивалась в микроглии на 2-й день после ЧМТ и значительно повышалась до 8-го дня наблюдения. Интересно, что количество таких клеток в микроглии контралатеральной области через 8 сут. после ЧМТ была выше, чем у контрольных крыс. В мозолистом теле и ипсилатеральной области полосатого тела экспрессия CD16/11b достигла максимума через 8 дней после ЧМТ, что коррелировало с увеличением позитивной реакции на наличие эндотелиального антигена SMI71, обнаруживаемого в ГМБ. Данный маркер обладает высокой информативностью для оценки состояния ГМБ, т.к. известно, что разрушение нейронов и астроцитов ведет к снижению его реактив-

ности [2]. Действительно, в первые 2 дня после нанесения ЧМТ легкой степени отмечалось существенное снижение позитивной реакции на наличие SMI71-позитивных микрососудов и, напротив, на 8 и 14 день эксперимента количество таких микрососудов значительно возрастало ( $p=0,01$ ). Сравнительный анализ количества клеток, экспрессирующих F4/80 и CD45 в одних и тех же участках коры ГМ позволяет разграничить резидентные макрофаги от клеток моноцитарного происхождения (периферических). Установлено, что в коре ГМ контрольных животных отмечалось превалирование макрофагов с низкой экспрессией CD45, тогда как при нанесении ЧМТ отмечалось повышенное содержание CD45-позитивных клеток. Эти данные указывают на увеличение количества периферических клеток при травме мозга. Причем, увеличение количества CD45 и F4/80 даблпозитивных клеток коррелировало со степенью тяжести наносимой животным ЧМТ, и локализация таких макрофагов обнаруживалась, преимущественно, в месте геморрагического ушиба. Таким образом, логично заключение, что в случае тяжелой травмы причиной увеличения количества периферических иммунных клеток является пермобилизация ГМБ и нарушение его целостности. Тогда как при легкой ЧМТ не совсем понятно, почему происходит данное явление. Можно предположить, что возникающая первичная альтерация нейронов и астроцитов, которая сопровождается снижением позитивной реакции на наличие эндотелиального антигена SMI71, и высвобождающиеся при этом из них медиаторы являются хемоаттрактантами, способствующими увеличению числа макрофагов моноцитарного происхождения. Полученные данные доказывают существенные структурные преобразования нервной ткани при экспериментальной ЧМТ, а сопряженный с нарушением проницаемости ГМБ, выход в нее периферических иммунных клеток указывает на дисрегуляторные изменения нейроиммунных связей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Hellewell S. C., Morganti-Kossmann M. C.* Guilty molecules, guilty minds? The conflicting roles of the innate immune response to traumatic brain injury. *Mediators Inflamm.* 2012, 2012: 356494.
2. *Pop V., Sorensen D. W., Kamper J. E., Ajao D. O., Murphy M. P., Head E., Hartman R. E., Badaut J.* Early brain injury alters the blood-brain barrier phenotype in parallel with  $\beta$ -amyloid and cognitive changes in adulthood // *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013 Feb; 33(2): 205–14

## THE INNATE IMMUNITY CELLS IN THE PATHOGENESIS OF TRAUMATIC BRAIN INJURY

© 2019 I. V. Radkov, N. G. Plekhova\*, S. V. Zinoviev, V. B. Shumatov

\*E-mail: pl\_nat@hotmail.com

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 11.03.2019

The content of innate immunity cells expressing CD45, CD14, CD16, CD11b and F4 / 80 receptors brain in experimental modeling of traumatic brain injury (TBI) was studied. It was established that the number of CD16/11b positive macrophages of the M1 subpopulation increased in microgy on the 2nd day after TBI and significantly enlarged up to 8 days. In the corpus callosum and the ipsilateral area of the striatum, CD16/11b expressed cells also peaked 8 days after TBI and correlated with an increase in the positive response to the presence of the endothelial antigen SMI71. Significant structural transformations of the nervous tissue and the output of peripheral immune cells, coupled with impaired permeability by the blood-brain barrier, were shown. The disturbance of regulatory changes neuroimmune connections in TBI was proved.

*Key words:* traumatic brain injury, innate immunity cells, neuroimmune connections

### Authors:

**Plekhova N. G.**, ✉ Dr, Head of the Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok Russia.

E-mail: pl\_nat@hotmail.com;

**Radkov I. V.**, Post- Graduate Student, Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia;

**Zinoviev S. V.**, PhD, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia;

**Shumatov V. B.**, Dr, professor, rector, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА МОЛОДЫХ МУЖЧИН, БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРИТОМ

© 2019 г. К. В. Раймуев<sup>1</sup>, М. Е. Малышев<sup>2,3\*</sup>, В. И. Мазуров<sup>1</sup>,  
А. О. Бумай<sup>2,3</sup>, Т. Г. Хабирова<sup>2</sup>

\*E-mail: malyshev1972@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет  
им. И. И. Мечникова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи  
им. И. И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»,  
Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 14.03.2019

У молодых мужчин, больных остеоартритом, наблюдается гиперпродукция провоспалительных цитокинов наряду со снижением продукции ИЛ-2 уже на самой ранней стадии воспаления.

**Ключевые слова:** цитокины, остеоартрит, воспаление

DOI: 10.31857/S102872210006938-6

**Адрес:** 117997 Санкт-Петербург, ул. Будапештская, д.3, «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе», Городская лаборатория иммуногенетики и серодиагностики. Малышев Михаил Евгеньевич.

Тел./факс: +7(812)3844668, 89112809448 (моб.).

**E-mail:** malyshev1972@yandex.ru

### Авторы:

**Раймуев К. В.**, к.м.н., проф. кафедры терапии, ревматологии, экспертизы временной нетрудоспособности и качества медицинской помощи им. Э. Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Малышев М. Е.**, д.б.н., заведующий Городской лабораторией иммуногенетики и серодиагностики ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия; проф. кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия;

**Мазуров В. И.**, академик РАН, профессор, заведующий кафедрой терапии, ревматологии, экспертизы временной нетрудоспособности и качества медицинской помощи им. Э. Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Бумай А. О.**, м.н.с. отдела организации скорой помощи ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия; старший преподаватель кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии ФГБОУ

ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия;

**Хабирова Т. Г.**, заведующая лабораторией иммунологии ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, Россия.

Остеоартрит (ОА) – социально значимое заболевание, и наблюдение за данным контингентом больных позволяет причислить его к крайне тяжелому недугу, существенно ухудшающему качество жизни и поражающему суставную хрящ, субхондральную кость и вспомогательные суставные образования людей уже в молодом возрасте, имеющему склонность к хронизации и прогрессированию [1]. Согласно последним медицинским знаниям, участие иммунной системы в развитии и прогрессировании ОА является одним из ключевых элементов патогенеза болезни. Анализ постоянно растущего числа исследований указывает на особую роль сети цитокинов в патогенезе ОА [2]. Во время прогрессирования ОА синтез и действие различных цитокинов может варьироваться в зависимости от продолжительности и тяжести заболевания [3].

**Целью** проведенного исследования было изучить показатели цитокинового профиля у молодых мужчин с ранними стадиями ОА.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли: 96 мужчин больных ОА (средний возраст  $29,6 \pm 9,4$  лет, средняя продолжительность заболевания  $8,5 \pm 3,7$  месяцев), пациенты обследованы в период активной фазы заболевания и в период ремиссии, контрольную группу составили 80 практически здоровых мужчин, сопоставимых по возрасту. Диагностика заболевания осуществлялась на основе критериев ОА Американской Коллегии Ревматологов. Применялись лабораторные критерии, позволяющие исключить дебют классических ревматических заболеваний (ревматоидный артрит, анкилозирующие спондилиты, системную красную волчанку, недифференцированные артриты). У больных определялось содержание цитокинов в сыворотке крови: IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IFN $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6 – в период обострения суставного синдрома и в период ремиссии заболевания.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ключевую роль в процессе деградациии хряща играют провоспалительные цитокины, которые синтезируются и воздействуют на большинство клеток-мишеней, находящихся в суставе, уже на самой ранней стадии воспаления. Один из основных провоспалительных цитокинов, IL-1 $\beta$ , индуцирует воспалительные реакции и катаболический эффект в суставном хряще, субхондральной кости и ряде других вспомогательных суставных тканях. Уровень цитокина IL-1 $\beta$  у больных ОА молодых мужчин был достоверно выше как в период обострения ( $319 \pm 42$  пкг/мл), так и в ремиссию заболевания ( $29 \pm 11$  пкг/мл), по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует об активации воспаления. При этом содержание регуляторных цитокинов IL-4, IFN $\gamma$  и противовоспалительного цитокина IL-1RA у больных ОА были выше в 2,5–5 раз по

сравнению с нормой только в период обострения заболевания, а в период ремиссии приближались к показателям здоровых лиц. Указанная динамика свидетельствует о том, что эти цитокины вовлечены в регуляцию воспалительного процесса, а их уровни могут использоваться как маркеры активности воспалительного процесса при ОА. Противоположная динамика выявлена для IL-2, уровень которого снижался в период активной фазы заболевания и поднимался до или несколько выше нормальных величин в период ремиссии. Указанная закономерность свидетельствует об особой роли данного цитокина в патогенезе ОА.

Таким образом, этиопатогенез ОА у мужчин молодого возраста связан с гиперпродукцией цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IFN $\gamma$ . В регуляцию воспалительного процесса при ОА вовлечены также и другие цитокины, среди которых особую роль играет IL-2 и IL-1RA.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Мазуров В. И., Трофимова А. С., Трофимов Е. А. Факторы риска и некоторые аспекты патогенеза остеоартрита. Вестник СЗГМУ им. И. И. Мечникова. 2016; 2:116–125. [Mazurov V. I., Trofimova A. S., Trofimov E. A. Risk factors and some aspects of the pathogenesis of osteoarthritis. Herald of North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov. 2016; 2:116–125.]
2. Раймиев К. В., Ищенко А. М., Малышев М. Е. Провоспалительные и противовоспалительные цитокины в патогенезе остеоартрита. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова. 2018, 10(3), 19–27. [Raymuev K. V., Ishenko A. M., Malyshev M. E. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. Herald of North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov. 2018; 10(3):19–27.]
3. Goldring M. B., Otero M. Inflammation in osteoarthritis. Current opinion in rheumatology. 2011; 23(5): 471–478.

**FEATURES OF CYTOKINE STATUS OF YOUNG MEN,  
PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS**

© 2019 **K. V. Raymuev<sup>1</sup>, M. E. Malyshev<sup>2,3\*</sup>, V. I. Mazurov<sup>1</sup>,  
A. O. Bumay<sup>2,3</sup>, T. G. Habirova<sup>2</sup>**

*\*E-mail: malyshev1972@yandex.ru*

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>Saint Petersburg I. I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint Petersburg, Russia;

<sup>3</sup>Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

**Received:** 28.02.2019. **Accepted:** 14.03.2019

In young men with osteoarthritis, hyperproduction of proinflammatory cytokines is observed, along with a decrease in IL-2 production at the earliest stage of inflammation.

*Key words:* cytokines, osteoarthritis, inflammation

**Authors:**

**Raymuev K. V.**, Ph.D., prof. Department of Therapy, Rheumatology, Examination of Temporary Disability and the Quality of Medical Care named after E. E. Eichwald North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

**Malyshev M. E.**, ✉ Doctor of Biological Sciences, Head of the City Laboratory of Immunogenetics and Serodiagnostics Saint Petersburg I. I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint Petersburg, Russia; prof. Department of Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry Saint Petersburg University, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** malyshev1972@yandex.ru;

**Mazurov V. I.**, Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Head of the Department of Therapy, Rheumatology, Examination of Temporary Disability and the Quality of Medical Care named after E. E. Eichwald North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

**Bumay A. O.**, Junior Researcher Department of Ambulance Saint Petersburg I. I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint Petersburg, Russia; Senior Lecturer Department of Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry Saint Petersburg University, Saint Petersburg, Russia;

**Habirova T. G.**, head of the immunology laboratory Saint Petersburg I. I. Dzhanlidze Research Institute of Emergency Medicine, Saint Petersburg, Russia.

## РЕКОМБИНАНТНЫЙ АНТИМЮЛЛЕРОВ ГОРМОН ЧЕЛОВЕКА: ЛЕКАРСТВО, СПОСОБНОЕ К САМОАКТИВАЦИИ

© 2019 г. А. Я. Рак<sup>1,2\*</sup>, А. В. Трофимов<sup>1</sup>, А. М. Ищенко<sup>1</sup>

\*E-mail: a.ya.rak@hpb.spb.ru

<sup>1</sup>ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 20.05.2019. Принята: 31.05.2019

В работе исследована аутопротеолитическая активность рекомбинантного антимюллера гормона (рАМГ) человека — потенциального противоопухолевого лекарственного средства. Показано, что гормон не только способен к самоактивации посредством ограниченного протеолиза, но и специфически взаимодействует с протеолитическим ингибитором апротинином. Также установлено участие сайта специфического протеолиза рАМГ во взаимодействии со специфическим рецептором II типа, что может прояснить некоторые аспекты биохимии природного АМГ и фармакодинамики рекомбинантного гормона.

**Ключевые слова:** АМГ, антимюллеров гормон, аутопротеолиз, MISRII, противоопухолевый препарат

DOI: 10.31857/S102872210006939-7

**Адрес:** 197110 Санкт-Петербург, ул. Пудожская, д. 7, ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, лаборатория биохимии белка. Рак Александра Яковлевна.

Тел./факс: +7(812) 2307858 (доб. 2260), 8950005 18 37 (моб.).

**E-mail:** a.ya.rak@hpb.spb.ru

**Авторы:**

**Рак А. Я.**, м. н. с. лаборатории биохимии белка ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия; аспирант Санкт-Петербургского Государственного Университета, Санкт-Петербург, Россия;

**Трофимов А. В.**, руководитель группы лаборатории биохимии белка ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

**Ищенко А. М.**, к. б. н., начальник лаборатории биохимии белка ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Антимюллеров гормон (АМГ) — гликопротеин суперсемейства цитокинов TGF $\beta$ , регулирующий развитие репродуктивной системы млекопитающих, а также функционирование зрелых гонад в постнатальном периоде жизни [1]. В настоящее время рекомбинантный АМГ (рАМГ)

рассматривается в качестве основы для создания инновационного противоопухолевого препарата, поскольку известно, что гормон способен индуцировать апоптоз малигнизированных клеток, имеющих на поверхности рецепторы АМГ II типа (MISRII) [2]. Процессу разработки лекарственных средств на основе рАМГ препятствует в том числе отсутствие точных сведений о ферменте, активирующем гормон посредством специфического протеолиза. По одной из версий, расщепление гормона является аутокаталитическим [3].

**Целью** данной работы было исследование аутопротеолитической активности рАМГ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы полученные ранее высокоочищенные препараты рАМГ и его С-концевого фрагмента (С-АМГ) [4], панель мышечных моноклональных антител против С-АМГ [5] и тест-система для определения биологической активности рАМГ [6]. Взаимодействие рАМГ с апротинином было исследовано методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), на первом этапе которого проводили 16-часо-

вую сорбцию аprotинина (1,5 мкг/мл). Далее вносили растворы исследуемых образцов, детекция которых осуществлялась пероксидазными конъюгатами rAMГ-распознающих антител (0,25 мкг/мл). Регистрацию иммуноферментной реакции производили стандартным методом с использованием тетраметилбензидина и ридера для микроплат при длине волны 450 нм.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Показано, что полноразмерный гормон обладает аутопротеолитической активностью, что приводит к ограниченному расщеплению молекул белка по специфическому сайту при длительном хранении. При этом аутопротеолиз полноразмерного гормона приводит к накоплению в пробе его активированной формы – С-AMГ, а в результате дальнейшего аутопротеолиза С-AMГ, напротив, происходит инактивация гормона. Аутопротеолиз rAMГ продолжает происходить в присутствии протеолитических ингибиторов PMSF и гидрохлорида бензамидина, однако подавляется при добавлении аprotинина – ингибитора трипсиноподобных сериновых протеаз. Установлено, что как полноразмерный гормон, так и С-AMГ образуют комплексы с иммобилизованным аprotинином. При этом показано, что аprotинин конкурирует за связывание с С-AMГ с антителами, блокирующими взаимодействие С-AMГ с MISRII.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Явление взаимодействия rAMГ с аprotинином хорошо согласуется с тем фактом, что сайт специфического протеолиза гормона (Arg427-Ser428) является мишенью действия сериновых протеаз [1]. Данные, полученные в работе, свидетельствуют об аутокаталитическом характере активации гормона и об участии сайта специ-

фического протеолиза AMГ во взаимодействии гормона с MISRII. Эти сведения имеют важное значение для углубления понимания биохимии AMГ и разработки противоопухолевых лекарственных средств на основе гормона.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. MacLaughlin D. T., Donahoe P. K. Müllerian inhibiting substance/anti-Müllerian hormone: a potential therapeutic agent for human ovarian and other cancers. *Future Oncol.* 2010, 6(3), 391–405.
2. Jung Y. S., Kim H. J., Seo S. K., Choi Y. S., Nam E. J., Kim S. W., Han H. D., Kim J. W., Kim Y. T. Anti-proliferative and apoptotic activities of Müllerian inhibiting substance combined with calcitriol in ovarian cancer cell lines. *Yonsei Med J.* 2016, 57(1), 33–40.
3. Di Clemente N., Jamin S. P., Lugovskoy A., Carmillo P., Ehrenfels C., Picard J. Y., Whitty A., Josso N., Pepinsky R. B., Cate R. L. Processing of anti-mullerian hormone regulates receptor activation by a mechanism distinct from TGF- $\beta$ . *Mol Endocrinol.* 2010, 24(11), 2193–2206.
4. Rak A. Ya., Trofimov A. V., Protasov E. A., Rodin S. V., Zhakhov A. V., Zabrodskaya Ya. A., Ischenko A. M. Spontaneous proteolytic processing of human recombinant anti-mullerian hormone: structural and functional differences of the molecular forms. *Appl Biochem Microbiol.* 2019, 55(1), 13–20.
5. Rak A. Ya., Трофимов А. В., Колобов А. А., Ищенко А. М. Моноклональные антитела против С-концевого фрагмента рекомбинантного антимюллерова гормона человека: инструмент для очистки, детекции и исследования. *Цитокины и воспаление.* 2018, 17(1–4), 72–79. [Rak A. Ya., Trofimov A. V., Kolobov A. A., Ischenko A. M. Monoclonal antibodies against the C-terminal fragment of human recombinant anti-mullerian hormone: a tool for purification, detection and study. *Cytokines and Inflammation.* 2018, 17(1–4), 72–79].
6. Rak A. Ya., Trofimov A. V., Pigareva N. V., Simbirtsev A. S., Ischenko A. M. The cytotoxic effect of activated recombinant anti-mullerian hormone as a basis for the development of a new drug. *Cell Tissue Biol.* 2018, 12(6), 460–467.

## HUMAN RECOMBINANT ANTI-MULLERIAN HORMONE: A SELF-ACTIVATING DRUG

© 2019 A. Ya. Rak<sup>1,2\*</sup>, A. V. Trofimov<sup>1</sup>, A. M. Ischenko<sup>1</sup>

\*E-mail: a.ya.rak@hpb.spb.ru

<sup>1</sup>State Research Institute for Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

Received: 20.05.2019. Accepted: 31.05.2019

Here, the autoproteolytic activity of human recombinant anti-Mullerian hormone (rAMH), a potential antineoplastic drug, was investigated. It was shown that the hormone is not only able to activate itself by the limited proteolysis, but also specifically interacts with the proteolytic inhibitor aprotinin. The involvement of the rAMH specific proteolysis site in interaction with a specific receptor type II (MISR II) was found. The data obtained may be useful to clarify some aspects of the native AMH biochemistry and pharmacodynamics of the recombinant hormone.

*Key words:* AMH, anti-mullerian hormone, autoproteolysis, MIS, MISR II, antineoplastic drug

### Authors:

**Rak A. Ya.**, ✉ Junior Researcher of the Protein Biochemistry Laboratory, State Research Institute for Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia; PhD student of Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia. E-mail: a.ya.rak@hpb.spb.ru;

**Trofimov A. V.**, Group Head of the Protein Biochemistry Laboratory, State Research Institute for Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia;

**Ischenko A. M.**, PhD, Head of the Protein Biochemistry Laboratory, State Research Institute for Highly Pure Biopreparations, St. Petersburg, Russia.

## ОЦЕНКА СОСУДИСТО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ У ЖЕНЩИН С СЕЛЕКТИВНОЙ ЗАДЕРЖКОЙ РОСТА ПЛОДА ПРИ МОНОХОРИАЛЬНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2019 г. И. И. Ремизова, Г. Н. Чистякова, А. Э. Айтов

E-mail: omm@niiomm.ru

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства  
и младенчества» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

Поступила: 22.02.2019. Принята: 06.03.2019

Актуальность проблемы монохориальной многоплодной беременности обусловлена значительной частотой развития селективной задержки роста (СЗР) плода. Цель: оценить особенности ангиогенеза у женщин с СЗР плода при монохориальной беременности. Обследованы 46 беременных женщин с монохориальной диамниотической двойней: 21 женщина с СЗР плода и 25 женщин без гестационных осложнений. Установлено, что реализация СЗР плода при монохориальной беременности обусловлена дисбалансом основных регуляторов ангиогенеза, дисфункцией эндотелия и снижением количества эндотелиальных прогениторных клеток, что является следствием нарушения стабилизации и целостности эндотелия сосудов.

**Ключевые слова:** селективная задержка роста плода, дисфункция эндотелия, эндотелиальные прогениторные клетки

DOI: 10.31857/S102872210006940-9

Адрес: 620028 Екатеринбург, ул. Репина, д. 1, ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» («НИИ ОММ») Минздрава России, Ремизова Ирина Ивановна.  
Тел.: 8(343) 371 28 30, +79826279536 (моб.).

Email: RemizovaII@yandex.ru

**Авторы:**

**Ремизова И. И.**, к.б.н., с.н.с. отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «НИИ ОММ Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

**Чистякова Г. Н.**, д.м.н., проф., руководитель отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «НИИ ОММ Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

**Айтов А. Э.**, заочный аспирант ФГБУ «НИИ ОММ Минздрава России Екатеринбург, Россия.

Актуальность проблемы монохориальной многоплодной беременности обусловлена значительной частотой развития гестационных осложнений, антенатальными потерями в различные сроки гестации, а также высокими показателями материнской и перинатальной смертности, постнатальной заболеваемостью [1]. В 30% случаев у женщин формируются специфические осложнения характерные только для данного типа плацентации, одним из которых являет-

ся селективная задержка роста (СЗР) одного из плодов [2]. Согласно данным литературы, центральную роль в физиологическом течении беременности и функционировании плацентарной ткани играет состояние эндотелия сосудов и ангиогенез. Доказано, что ангиогенные (PLGF и VEGF-A), и антиангиогенные маркеры (s-Eng), участвуют в патогенезе развития таких осложнений, как плацентарная недостаточность, преэклампсия, задержка внутриутробного развития плода [3, 4], а также ассоциируются с аномальной плацентацией. Имеются сведения о присутствии эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК), которые используются в качестве чувствительного и специфического маркера поврежденного эндотелия в периферической крови при беременности, осложненной преэклампсией [5]. Однако данные, касающиеся изучения регуляции ангиогенеза при монохориальной беременности, осложненной развитием селективной задержки роста одного из плодов в литературе отсутствуют.

**Цель исследования:** оценить особенности ангиогенеза у женщин с селективной задержкой роста плода при монохориальной беременности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования – проспективное, сравнительное. В исследование включена 21 женщина, у которых течение монохориальной беременности осложнилось формированием СЗР (1-я группа). Группу сравнения (2-я группа) составили 25 беременных женщин с монохориальной диамниотической двойней без осложнений гестационного периода. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, от всех женщин получено информированное согласие на использование биологического материала их детей в научных целях. Содержание васкуло-эндотелиального фактора роста (VEGF), плацентарного фактора роста (PLGF), эндоглина (sEnd), эндотелина-1 определяли методом иммуноферментного анализа. Уровень стабильных метаболитов оксида азота (NO) (эндогенного нитрита (NO<sub>2</sub>), общего нитрита (NO<sub>2</sub>) и нитрата (NO<sub>3</sub>) – спектрофотометрическим методом, в реакции Грисса, с помощью тест-систем «R&D Systems» (США). Иммунофенотипирование прогениторных эндотелиальных клеток (CD133<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup> и CD309<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>) осуществляли методом проточной лазерной цитофлуориметрии. Исследование крови проводили во втором триместре беременности. При статистической обработке результатов исследований использовали пакеты прикладных программ Excel и Statistica 6. Критерии включения: наличие монохориальной диамниотической двойни, возраст от 18 до 45 лет. Критерии исключения: тяжелая преэклампсия, синдром обратной артериальной перфузии и наличие тяжелой соматической патологии.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Возраст беременных в исследуемых группах не отличался и составлял в 1-й и 2-й группах 30 (26–33) и 30 (27,25–32,75) лет ( $p > 0,05$ ). При оценке ангиогенных факторов роста у женщин с монохориальной беременностью и СЗР плода установлено уменьшение содержания PLGF и повышенный уровень эндоглина (соответственно 271,78 (144,34–367,6) против 430,3 (347,7–501,4) пг/мл и 9,51 (7,33–10,04) против 7,2 (5,99–8,02) нг/мл,  $p < 0,05$  в обоих случаях), по сравнению с показателями женщин с неосложненной монохориальной беременностью. Концентрация VEGF-A у женщин 1-й группы была снижена на уровне тенденции (24,20

(21,93–31,62) против 29,19 (25,7–46,47) пг/мл,  $p = 0,07$ . Отмечалось статистически значимое уменьшение процентного содержания активированных CD14<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup> моноцитов (42 (36,5–48,94) против (53 (51–58,7)%,  $p < 0,0001$ ), уровень CD14<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> клеток был сопоставим с показателями группы сравнения (22,44 (17,0–26,0) против 21,0 (16,9–26,06)%,  $p > 0,05$ ). При этом, относительное число эндотелиальных клеток предшественников в 1-й группе было статистически значимо ниже (CD34<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup> – 1,08 (0,72–2,21) против 2,01 (1,84–2,39)% и CD34<sup>+</sup>CD309<sup>+</sup> – 1,51 (1,17–2,06) против 2,29 (2,23–3,37),  $p < 0,0001$  в обоих случаях). Согласно данным литературы, многоплодную беременность можно считать естественной моделью плацентарной недостаточности, в патогенезе которой существенную роль играет дисбаланс ангиогенных и антиангиогенных факторов, метаболические нарушения. Выявленный в данном исследовании дисбаланс сосудистых факторов, выражающейся в снижении концентрации PLGF на фоне увеличения содержания s-End, свидетельствует о нарушении процессов плацентации у пациенток сформировавших СЗР. В свою очередь, уменьшение в циркуляции ранних прогениторных эндотелиальных клеток, обладающих мощным регенеративным и ангиогенным потенциалом, указывает на повышенный риск деструкции эндотелия и эндотелиальную дисфункцию. Таким образом, реализация селективной задержки развития плода при монохориальной беременности обусловлена нарушением продукции основных регуляторов ангиогенеза и снижением в циркуляции количества эндотелиальных прогениторных клеток, что является следствием нарушения стабилизации и целостности эндотелия сосудов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Coutinho Nunes F., Domingues A. P., Tavares M Vide, Belo A., Ferreira C., Fonseca E. and Moura P. Monochorionic versus dichorionic twins: Are obstetric outcomes always different? J Obstet Gynaecol. 2016, 36(5), 598–601.
2. Vlašínová I., Hruban L., Janků P., Gerychová R., Ventruha P., Tápálová V., Hodická Z. Specific placental complications of monochorionic diamniotic twins born after 24 weeks of pregnancies – retrospective analysis. Ceska Gynekol. 2015, 80(3), 189–95.
3. Чистякова Г. Н., Ремизова И. И., Каюмова А. В., Данышкова И. В., Мелкозерова О. А. Маркеры дисфункции эндотелия в прогнозировании плацентарной недостаточности с ранних сроков беременности, индуцированной вспомогательными репродуктивными

- технологиями. Проблемы репродукции. 2017, 6, 11–15. [Chistyakova G. N., Remizova I. I., Kayumova A. V., Dan'kova I. V., Melkozherova O. A. Markers of endothelial dysfunction in predicting placental insufficiency from early pregnancy induced by assisted reproductive technologies. Problems of reproduction. 2017, 6, 11–15.]
4. *Yzordczyk C., Armengaud J. B., Peyter A. C., Chehade H., Cachat F., Juvet C., Siddeek B., Simoncini S., Sabatier F., Dignat-George F., Mitanchez D., Simeoni U.* Endothelial dysfunction in individuals born after fetal growth restriction: cardiovascular and renal consequences and preventive approaches. *J. Dev. Orig. Health. Dis.* 2017, 8(4), 448–464.
5. *Attar A., Monabati A., Parsanezhad M. E.* Endothelial progenitor cell subsets and preeclampsia: Findings and controversies. *J Chin Med Assoc.* 2017, 80(10), 615–622.

## EVALUATION OF VASCULAR ENDOTHELIAL FACTORS IN WOMEN WITH SELECTIVE DELAY OF FETUS GROWTH DURING MONOCHORIAL PREGNANCY

© 2019 I. I. Remizova, G. N. Chistyakova, A. E. Aitov

*E-mail: omm@niomm.ru*

*Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care, Yekaterinburg, Russia*

**Received:** 22.02.2019. **Accepted:** 06.03.2019

The urgency of the problem of monochorial multiple pregnancy is due to the significant frequency of development of selective intrauterine growth-restricted (sIUGR) of the fetus. Objective: To evaluate the features of angiogenesis in women with fetal sIUGR during monochorial pregnancy. 46 pregnant women with monochorial diamniotic twins were examined: 21 women with fetal sIUGR and 25 women without gestational complications. It has been established that the implementation of fetal sIUGR in monochorial pregnancy is caused by an imbalance of the main regulators of angiogenesis, endothelial dysfunction and a decrease in the number of endothelial progenitor cells, which leads to a violation of the stabilization and integrity of the vascular endothelium.

*Key words:* selective intrauterine growth-restricted, endothelial dysfunction, endothelial progenitor cells

### Authors:

**Remizova I. I.**, ✉ Ph.D., Senior Researcher Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnostics of the Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care, Yekaterinburg, Russia. **Email:** RemizovaI@yandex.ru;

**Chistyakova G. N.**, MD, Professor, Head of the Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnostics of the Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care, Yekaterinburg, Russia;

**Aitov A. E.**, correspondence postgraduate student of the Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care, Yekaterinburg, Russia.

## МЕТАБОЛИЗМ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ФАГОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

© 2019 г. В. А. Романов, Е. Н. Ерыгина, Н. В. Романова,  
Е. Ю. Капрельянц

*E-mail: microbyama@mail.ru*

*ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, Ярославль, Россия*

Поступила: 18.03.2019. Принята: 02.04.2019

При системной и дискоидной красной волчанке констатировано возрастание окислительного стресса нейтрофилов и моноцитов на фоне угнетения лизосомальной активности клеток.

**Ключевые слова:** метаболизм, циркулирующие фагоциты, красная волчанка

DOI: 10.31857/S102872210006941-0

**Адрес:** 150000 Ярославль, ул. Революционная, д.5. ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра микробиологии с вирусологией и иммунологией.

Тел./факс: +8(085) 2732853, 89106629133 (моб.).

**E-mail:** microbyama@mail.ru

**Авторы:**

**Романов В. А.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии с вирусологией и иммунологией ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль, Россия;

**Ерыгина Е. Н.**, аспирант кафедры кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль, Россия;

**Романова Н. В.**, доцент, заведующая кафедрой кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль, Россия;

**Капрельянц Е. Ю.**, ассистент кафедры кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль, Россия.

Актуальность работы определяется недостаточной изученностью вопроса взаимоотношений между системными ревматическими заболеваниями и их кожными формами, в том числе при красной волчанке [1, 2], как с теоретической точки зрения, так и в практическом отношении в плане поиска дополнительных лабораторных подходов к дифференциальной диагностике различных форм этого заболевания и выявлении новых клеток-мишеней для терапевтических воздействий.

**Целью** работы являлось исследование кислородзависимого метаболизма и переваривающих функций нейтрофилов (Нф) и моноцитов (Мн) у больных системной красной волчанкой (СКВ) и ее кожной формой – дискоидной красной волчанкой (ДКВ).

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Обследовано 52 больных СКВ, 24 – ДКВ, 30 здоровых лиц. Исследованы кислородзависимый метаболизм нейтрофилов (Нф) и моноцитов (Мн) методом спонтанной и индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции – ХЛ, [3] и с помощью спонтанного и индуцированного лизосомального теста (ЛТ) – переваривающие функции [4].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что показатели кислородзависимого метаболизма Нф в тесте ХЛ были достоверны выше, как у здоровых лиц, так и у больных ДКВ и СКВ по сравнению с аналогичными показателями Мн. У больных ДКВ по сравнению со здоровыми лицами установлено достоверное увеличение спонтанного окислительного стресса исключительно Нф, в то время как у больных СКВ существенное повышение окислительного стресса фагоцитов затрагивало не только Нф но и Мн. По данным теста ХЛ продемонстрировано избирательное увеличение кислородзависимого метаболизма Нф

с нарастанием активности СКВ. Более высокие показатели окислительного стресса Нф по данным теста ХЛ констатированы у больных СКВ с поражениями сердечно-сосудистой системы, суставным синдромом и антифосфолипидным синдромом, Мн – при антифосфолипидном синдроме и у больных с кожным синдромом. Достоверно более высокие показатели хемилюминесценции Нф и Мн при СКВ наблюдались при повышенных значениях циркулирующих иммунных комплексов.

Показатели переваривающей способности Нф в ЛТ-тесте были существенно выше, как у здоровых лиц, так и у больных ДКВ и СКВ по сравнению с аналогичными показателями Мн. Активность лизосом в спонтанном ЛТ-тесте была статистически достоверно снижена как при СКВ, так и при ДКВ в сравнении с показателями здоровых лиц. Переваривающая способность циркулирующих фагоцитов при СКВ и ДКВ и в НФ, и в МН, по данным ЛТ-теста, была существенно снижена в сравнении с показателями здоровых лиц в спонтанном тесте. Констатированы достоверно более высокие показатели этого теста у больных СКВ по сравнению с аналогичными данными при ДКВ ( $p < 0,05$ ). Не было отмечено существенной разницы в показателях индуцированного ЛТ-теста и коэффициентов активации у пациентов обеих групп и группы контроля ( $p > 0,05$ ). Поражения кожи, суставов, сосудов, люпус-нефрит не сопровождались статистически достоверными изменениями прак-

тически всех показателей ЛТ-теста. Исключение составлял существенно повышенный индуцированный ЛТ-тест при синдроме Рейно ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, при СКВ и ДКВ, констатировано угнетение активности лизосом как НФ, так и Мн на фоне возрастания окислительного стресса фагоцитов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Романова Н. В. Оксидативный стресс фагоцитов у больных дискоидной и системной красной волчанкой. Рос. Журнал кожных и венерических болезней. 2005, 2, 22–26. [Romanova N. V. Oxidative stress phagocytes in patients with diskoid and Systemic Lupus Erythematosus. Rus. Journal skin and venereal diseases. 2005, 2, 22–26].
2. Романова, Н. В., Шилкина Н. П. Сравнительная характеристика иммунологических тестов в дифференциации системных и кожных форм красной волчанки. Терапевт. архив. 2009. 81, № 4; 40–41. [Romanova N. V., Shilkina N. P. Comparative immunological tests in differentiating system and skin forms of Lupus Erythematosus. Therapeutic. Archive. 2009, 81, 4; 40–41].
3. Земсков В. М. Изучение функционального состояния фагоцитов человека/ Вкн.: Экологическая-иммунология. М., ВНИРО, 1995, 154–162. [Zemskov V. M. Study of the functional State of phagocytes person. In: Ecological Immunology. M., VNIRO, 1995, 154–162].
4. Долгушин И. И. Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург, УрОРАН, 2001. [Dolgushin I. Neutrophils and homeostasis. Yekaterinburg, Ural branch of RAS, 2001].

## METABOLISM OF CIRCULATING PHAGOCYTES IN PATIENTS WITH LUPUS ERYTHEMATOSUS

© 2019 V. A. Romanov, E. N. Erygina, N. V. Romanova, E. Y. Kapreljanc

*E-mail: microbyama@mail.ru*  
*State Medical University, Yaroslavl, Russia*

**Received:** 18.03.2019. **Accepted:** 02.04.2019

Inpatient with Systemic Lupus Erythematosus and Discoid Lupus Erythematosus oppression lysosomal activity of neutrophils and monocytes against a backdrop of increasing oxidative stress of cells.

*Key words:* metabolism, circulating phagocytes, Lupus Erythematosus

### Authors:

**Romanov V. A.**, PhD, Head of Department of Microbiology with Virology and Immunology in State Medical University, Yaroslavl, Russia;

**Erygina E. N.**, post-graduate student, Department of Skin and Venereal Diseases in State Medical University, Yaroslavl, Russia;

**Romanova N. V.**, PhD, Head of Department of Skin and Venereal Diseases in State Medical University, Yaroslavl, Russia;

**Kapreljanc E. Y.**, Assistant Professor of Skin and Venereal Diseases in State Medical University, Yaroslavl, Russia.

## МЕТАБОЛИЗМ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ФАГОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ

© 2019 г. В. А. Романов, Н. В. Романова, Е. Н. Ерыгина,  
Е. Ю. Капрельянц

*E-mail: microbyama@mail.ru*

*ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, Ярославль, Россия*

Поступила: 18.03.2019. Принята: 03.04.2019

При системной склеродермии, в отличие от очаговой склеродермии, констатировано угнетение переваривающей способности нейтрофилов и моноцитов на фоне возрастания кислороднезависимого метаболизма фагоцитов.

**Ключевые слова:** метаболизм, циркулирующие фагоциты, склеродермия

DOI: 10.31857/S102872210006942-1

**Адрес:** 150000 Ярославль, ул. Революционная, д.5. ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра микробиологии с вирусологией и иммунологией.

Тел./факс: +8(085) 2732853, 89106629133 (моб.).

**E-mail:** microbyama@mail.ru

**Авторы:**

**Романов В. А.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии с вирусологией и иммунологией ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль, Россия;

**Ерыгина Е. Н.**, аспирант кафедры кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль, Россия;

**Романова Н. В.**, доцент, заведующая кафедрой кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль, Россия;

**Капрельянц Е. Ю.**, ассистент кафедры кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ярославль, Россия.

Актуальность работы связана с немногочисленными и противоречивыми данными, касающимися теоретических вопросов иммунопатогенеза аутоиммунных болезней, в том числе, склеродермии в ее различных клинических проявлениях, в частности, очаговой (ОСД) и системной (ССД) форм заболевания. Дифференциальная диагностика ОСД и ССД с учетом данных лабораторных исследований, дополняющих существующие при этих заболеваниях методы, имеет важное научно-практическое значение.

**Целью** работы являлось исследование кислороднезависимого метаболизма и переваривающих функций нейтрофилов (Нф) и моноцитов (Мн) у больных системной склеродермией (ССД) и кожной формой болезни – очаговой склеродермией (ОСД).

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Обследовано 28 больных ОСД, 22 – ССД, 33 здоровых лиц. Кислороднезависимый метаболизм Нф и Мн оценивали по данным определения кислой фосфатазы (КФ) и катионных белков (КБ) спектрофотометрическими методами [1], с помощью лизосомального теста (ЛТ) – переваривающие функции клеток [2].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что уровень КФ и КБ в Мн, как у здоровых лиц, так и у пациентов с ОСД и ССД, существенно не отличался от аналогичных показателей Мн. Проведенные исследования не показали достоверных изменений содержания КФ и КБ в Мн и Нф у больных ОСД по сравнению с данными группы контроля.

При ССД, по сравнению с ОСД и с группой здоровых лиц, в циркулирующих фагоцитах было существенно повышено содержание КФ и КБ. Анализ содержания КФ и КБ в Нф и Мн не показал достоверных различий в зависимости от активности, характера течения ССД и клинических проявлений заболевания. Исключение со-

ставили больные ССД с поражениями сосудов, у которых установлено увеличение содержания КФ в Нф и Мн. Констатировано достоверное увеличение КФ в Мн и Нф при ССД у пациентов с высоким уровнем циркулирующих иммунных комплексов.

Показатели переваривающей способности Нф в ЛТ-тесте были существенно выше, как у здоровых лиц, так и у больных ОСД и ССД по сравнению с аналогичными показателями Мн. Не было показано достоверных изменений переваривающей способности Нф и Мн по данным ЛТ-теста у больных ОСД по сравнению с данными группы контроля. Показатели ЛТ-теста были статистически достоверно снижены при ССД по сравнению с показателями больных ОСД и лиц группы контроля при отсутствии существенной разницы в показателях обеих групп пациентов. Продemonстрировано отсутствие существенной разницы в показателях ЛТ-теста у больных со степенями активности 1 (минимальной) и 2

(умеренной) ССД. Констатировано существенное повышение индуцированный ЛТ-теста при синдроме Рейно ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, при ССД, в отличие от ОСД, установлено угнетение переваривающей способности Нф и Мн на фоне возрастания продукции фагоцитами КФ и КБ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Пинегин Б. В., Бутаков А. А., Щельцына Т. Л. Комплекс методов оценки функциональной активности фагоцитирующих клеток для выявления повышенной чувствительности к инфекционным агентам В кн.: Экологическая иммунология. М. ВНИРО. 1995, 146–154. [Pinegin B. V., Butakov A. A., Shhelcyna T. Complex methods to assess the functional activity of Phagocytic cells to detect hypersensitivity to infectious agents in: Ecological Immunology. M. VNIRO. 1995, 146–154].
2. Долгушин И. И. Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург, УрОПАН, 2001. [Dolgushin I. Neutrophils and homeostasis. Yekaterinburg, Ural branch of RAS, 2001].

### METABOLISM OF CIRCULATING PHAGOCYTES IN PATIENTS WITH SCLERODERMA

© 2019 V. A. Romanov, E. N. Erygina, N. V. Romanova, E. Y. Kapreljanc

*E-mail: microbyama@mail.ru*  
*State Medical University, Yaroslavl, Russia*

**Received:** 18.03.2019. **Accepted:** 03.04.2019

Systemic sclerosis, unlike the local sclerosis, stated the oppression of digestive ability of neutrophils and monocytes against a backdrop of increasing not oxidative metabolism phagocytes.

*Key words:* metabolism, circulating phagocytes, Scleroderma

#### Authors:

**Romanov V. A.**, PhD, Head of Department of Microbiology with Virology and Immunology in State Medical University, Yaroslavl, Russia;

**Erygina E. N.**, post-graduate student, Department of Skin and Venereal Diseases in State Medical University, Yaroslavl, Russia;

**Romanova N. V.**, PhD, Head of Department of Skin and Venereal Diseases in State Medical University, Yaroslavl, Russia;

**Kapreljanc E. Y.**, Assistant Professor of Skin and Venereal Diseases in State Medical University, Yaroslavl, Russia.

## СЕКРЕЦИЯ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА ЭОЗИНОФИЛАМИ КРОВИ ПРИ РАКЕ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА С ТКАНЕВОЙ ЭОЗИНОФИЛИЕЙ

© 2019 г. Е. В. Романова<sup>1</sup>, Ю. В. Колобовникова<sup>1\*</sup>, О. И. Уразова<sup>1,2</sup>, В. В. Новицкий<sup>1,2</sup>

\*E-mail: kolobovnikova.julia@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники», Томск, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 12.03.2019

Изучена секреция *in vitro* TNF $\alpha$  эозинофильными гранулоцитами периферической крови у больных раком толстого кишечника в зависимости от наличия эозинофильной инфильтрации опухолевой ткани. При раке толстого кишечника с тканевой эозинофилией выявлено увеличение базальной и г-IL-5-индуцированной секреции *in vitro* TNF $\alpha$  эозинофилами крови. Показано, что у больных раком толстого кишечника вне зависимости от наличия тканевой эозинофилии уровень спонтанной и индуцированной г-IL-5 секреции TNF $\alpha$  эозинофилами крови *in vitro* является сопоставимым.

**Ключевые слова:** эозинофилы, рак, толстый кишечник, фактор некроза опухоли

DOI: 10.31857/S102872210006943-2

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, 2, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра патофизиологии, Уразова Ольга Ивановна. Тел.: 8 (3822) 901 101 вн. 1742; 8 (903) 913-14-83 (моб.).

E-mail: kaf.pat.fiziolog@ssmu.ru

**Авторы:**

**Романова Е. В.**, старший преподаватель кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия;

**Колобовникова Ю. В.**, д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия;

**Уразова О. И.**, д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия; профессор кафедры комплексной информационной безопасности электронно-вычислительных систем ФГБОУ ВО ТУСУР, Томск, Россия;

**Новицкий В. В.**, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, профессор кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия; профессор кафедры комплексной информационной безопасности электронно-вычислительных систем ФГБОУ ВО ТУСУР, Томск, Россия.

Эозинофилы желудочно-кишечного тракта составляют доминирующую популяцию тканевых лейкоцитов и являются неотъемлемой ча-

стью механизмов иммунологической защиты [1]. При раке толстого кишечника эозинофильные гранулоциты обнаруживаются также в ткани новообразования, однако их роль, как элементов опухолевого микроокружения, рассматривается неоднозначно. Эозинофильные гранулоциты секретируют фактор некроза опухоли  $\alpha$  (TNF – tumor necrosis factor), способный индуцировать гибель опухолевых клеток путем некроза и апоптоза, вызывать деструкцию эндотелия кровеносных сосудов опухоли, а также модулировать реакции врожденного и адаптивного иммунитета [2]. Дисбаланс секреции TNF $\alpha$  иммунокомпетентными клетками крови регистрируется при многих опухолевых заболеваниях и является негативным критерием их прогноза.

Целью работы явилось изучение особенностей секреции TNF $\alpha$  эозинофильными гранулоцитами *in vitro* у больных раком толстого кишечника, сопровождающимся эозинофильной инфильтрацией опухоли.

Исследование выполнено на базе лаборатории клинической и экспериментальной патофизиологии кафедры патофизиологии ФГБОУ

ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий кафедрой — д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН О. И. Уразова). В исследование были включены 52 больных раком толстого кишечника (С18–С20), состоящих на диспансерном учете и проходивших лечение в ОГАУЗ «ТООД» (главный врач — С. В. Мазеина). Все пациенты были обследованы и прооперированы до начала проведения специфической лучевой и лекарственной терапии. Среди пациентов с диагнозом рака толстого кишечника были сформированы подгруппы в зависимости от наличия тканевой эозинофилии. Из них первую подгруппу составили 23 человека (средний возраст  $65,3 \pm 4,7$  лет), в опухолевой ткани которых была идентифицирована эозинофильная инфильтрация; во вторую подгруппу сравнения были включены 27 больных (средний возраст  $62,9 \pm 5,2$  лет) с раком толстого кишечника без эозинофилии. Контрольную группу составили 36 здоровых доноров — 22 мужчины и 14 женщин (средний возраст  $56,3 \pm 4,7$  лет).

Материалом исследования служили супернатанты суспензионной культуры эозинофильных гранулоцитов. Выделение эозинофильных гранулоцитов из крови (взятой из локтевой вены утром натощак в количестве 20 мл) выполняли на градиенте плотности Ficoll-Paque ( $\rho = 1.077 \text{ g/mL}$ ) с применением «Eosinophil isolation kit», Miltenyi Biotec GmbH (Германия) методом иммуномагнитной сепарации. Культивирование эозинофильных гранулоцитов проводили без добавления и с добавлением индуктора цитокин-секреторной активности клеток рекомбинантного (r) интерлейкина-5 (IL-5) («Biosource», Бельгия) в дозе 10–8 г/мл. Измерение концентрации TNF $\alpha$  в супернатантах культуральных суспензий эозинофильных гранулоцитов осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) согласно инструкции производителя тест-системы (АО «Вектор-Бест», Россия). Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением программы «Statistica for Windows» Version 8.0 («StatSoft Inc.», США).

В результате исследования обнаружено увеличение показателя базальной и индуцированной r-IL-5 секреции TNF $\alpha$  *in vitro* эозинофильными

гранулоцитами крови при раке толстого кишечника с тканевой эозинофилией (1381,40 (827,20–1440,10) пг/мл и 1665,83 (1562,85–2435,01) пг/мл соответственно) по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых доноров (587,45 (343,50–745,90) пг/мл и 1055,64 (852,70–1422,00) пг/мл соответственно) и у больных раком толстого кишечника без эозинофилии (641,90 (347,39–1028,00) пг/мл и 833,55 (432,64–1794,20) пг/мл соответственно). Несмотря на то, что секреция TNF $\alpha$  эозинофилами при *in vitro* индукции клеток рекомбинантным IL-5 у больных раком толстого кишечника оказалась выше нормы, она не превышала ее базальный уровень. Отсутствие цитокин-секреторного ответа эозинофильных гранулоцитов крови на r-IL-5-стимуляцию *in vitro* у больных раком толстого кишечника свидетельствует об истощении функционального резерва и снижении реактивности клеток. За счет секреции TNF $\alpha$  эозинофильные гранулоциты могут оказывать прямое проапоптогенное и цитолитическое действие на опухолевые клетки. Локальное высвобождение TNF $\alpha$  приводит к усилению хемотаксиса лейкоцитов в очаг опухолевого роста, активации поглотительной и переваривающей функций фагоцитирующих клеток, а также сдвигу цитокинового баланса в направлении Т-хелперов 1-го типа. Примечательно, что TNF $\alpha$  в условиях гиперсекреции может активировать процессы адгезии, эмиграции и дегрануляции самих эозинофилов, потенцируя тем самым регуляторный и цитотоксический эффекты изученных клеток.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ (НШ-2690.2018.7) и молодых российских ученых (МД-842.2017.7).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Varricchi G., Galdiero M. R., Loffredo S., Lucarini V., Marone G., Mattei F., Marone G., Schiavoni G. Eosinophils: The unsung heroes in cancer? *Oncoimmunology*. 2017, 7(2), e1393134.
2. Legrand F., Driss V., Delbeke M., Loiseau S., Hermann E., Dombrowicz D., Capron M. Human eosinophils exert TNF- $\alpha$  and granzyme A-mediated tumoricidal activity toward colon carcinoma cells. *J. Immunol*. 2010, 185 (12), 7443–7451.

## SECRETION OF TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA BY BLOOD EOSINOPHILS IN COLON CANCER WITH TISSUE EOSINOPHILIA

© 2019 E. V. Romanova<sup>1</sup>, Yu. V. Kolobovnikova<sup>1\*</sup>, O. I. Urazova<sup>1,2</sup>,  
V. V. Novitskiy<sup>1,2</sup>

\*E-mail: kolobovnikova.julia@mail.ru

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Institution of Higher Education «Siberian State Medical University»  
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia;

<sup>2</sup>Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics, Tomsk, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 12.03.2019

We analyzed *in vitro* secretion of TNF $\alpha$  by peripheral blood eosinophil granulocytes in patients with colon cancer according to the presence of tumor-associated tissue eosinophilia. In colon cancer with tissue eosinophilia, an increase in basal and r-IL-5-induced *in vitro* secretion of TNF $\alpha$  by blood eosinophils was detected. It was shown that in patients with colon cancer, regardless of the presence of tissue eosinophilia, the levels of basal and r-IL-5-induced secretion of TNF $\alpha$  by eosinophil granulocytes *in vitro* were comparable.

*Key words:* eosinophils, cancer, colon, tumor necrosis factor

### Authors:

**Romanova E. V.**, Senior Lecturer of the Microbiology and Virology Division, SSMU, Tomsk, Russia;

**Kolobovnikova Yu. V.**, DMedSc, Professor of the Pathophysiology Division, SSMU, Tomsk, Russia;

**Urazova O. I.**, ✉ DMedSc, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Pathophysiology Division, SSMU; Professor of the Department of Complex Information Security of Computer Systems, TUSUR, Tomsk, Russia. **E-mail:** kaf.pat.fiziolog@ssmu.ru;

**Novitskiy V. V.**, DMedSc, Professor, Academician of RAS, Honored Scientist of Russia, Professor of the Pathophysiology Division, SSMU; Professor of the Department of Complex Information Security of Computer Systems, TUSUR, Tomsk, Russia.

## ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА СҮРЗА5 ДЛЯ КОРЕКТИРОВКИ ДОЗЫ ТАКРОЛИМУСА ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

© 2019 г. М. Р. Рузбакиева<sup>1\*</sup>, Т. У. Арипова<sup>1</sup>, Ф. А. Хаджибаев<sup>2</sup>,  
В. Х. Шарипова<sup>2</sup>, З. Ш. Азизова<sup>1</sup>

\*E-mail: malika-ruz@hotmail.com

<sup>1</sup>Институт иммунологии и геномики человека АН РУз, Ташкент, Узбекистан;

<sup>2</sup>Республиканский Специализированный Научный Центр Экстренной  
Медицинской Помощи МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан

Поступила: 11.02.2019. Принята: 22.02.2019

В настоящее время, согласно стандартным протоколам иммуносупрессии после трансплантации органов применяется препарат такролимус. Актуальна проблема развития нежелательных побочных реакций на данный препарат. Фармакогенетическое тестирование на определение генотипа полиморфизма СҮРЗА5 G6986A, позволяет осуществлять персонализированный подход к выбору режима дозирования такролимуса может увеличить количество пациентов, у которых концентрация такролимуса будет находиться в пределах терапевтического диапазона и не будет превышать допустимый порог токсичности.

**Ключевые слова:** такролимус, иммуносупрессия, трансплантация почки

DOI: 10.31857/S102872210006944-3

**Адрес:** 100060 Ташкент, ул. Я. Гулямова, д. 74, Институт иммунологии и геномики человека АН РУз, Рузбакиева Малика Руслановна.

Тел./факс: +(99871) 2330855, +998974241258 (моб.).

**E-mail:** malika-ruz@hotmail.com

**Авторы:**

**Рузбакиева М. Р.**, к.м.н., с.н.с. Института иммунологии и геномики человека АН РУз, Ташкент, Узбекистан;

**Арипова Т. У.**, д.м.н., академик АН РУз, директор Института иммунологии и геномики человека АН РУз, Ташкент, Узбекистан;

**Хаджибаев Ф. А.**, д.м.н., руководитель отдела хирургии Республиканского Специализированного Научного Центра Экстренной Медицинской Помощи МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан;

**Шарипова В. Х.**, д.м.н., руководитель отдела анестезиологии и реаниматологии Республиканского Специализированного Научного Центра Экстренной Медицинской Помощи МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан;

**Азизова З. Ш.**, м.н.с. Института иммунологии и геномики человека АН РУз, Ташкент, Узбекистан.

На сегодняшний день вся мировая наука и медицина предпочитает основываться на доказательной базе, используя, для лечения пациентов с различными патологиями достижения и результаты ведущих клинических исследований. Эти данные основываются на сопоставле-

нии научных результатов и клинического опыта. Как известно, очевидна проблема развития нежелательных побочных действий и реакций на лекарственные средства у больных и в большинстве случаев, развитие той или иной реакции сугубо индивидуально. Соответственно, возникает вопрос о персонализированном подходе к фармакотерапии и эту проблему способна решить фармакогенетика [1, 2]. Одной из основных задач фармакогенетики является изучение аллельного полиморфизма в определенных генах, отвечающих за индивидуальные особенности фармакокинетических и фармакодинамических характеристик индивидуума. Благодаря современным достижениям фармакогенетики, которая изучает генетически детерминированные различия в ответе организма на применение того или иного лекарственного средства, можно заранее спрогнозировать фармакологический ответ. Это позволяет персонализировано подходить к каждому пациенту и выбирать заранее правильный режим дозирования препарата во избежание нежелательных реакций [1, 2].

Исследования, направленные на изучение таких лекарственных средств как такролимус,

вызывают огромный интерес и имеют большое клиническое значение для врачей-нефрологов, урологов, трансплантологов, иммунологов. Такролимус – препарат иммуносупрессант, который широко применяется при трансплантации органов. Такролимус был выделен в 1984 г в Цукубы, Япония, из культуры *Streptomyces tsukubaensis* [3, 4].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено в Институте Иммунологии и геномики человека АН РУз. Набор пациентов, находящихся на амбулаторном и стационарном лечении, проводился в Республиканском научном центре экстренной медицинской помощи МЗ РУз. Определение концентрации такролимуса проводили на базе НДЦ «De Factum Laboratories». Обследовано 140 человек, узбекской национальности. Из них 74 человека были с диагнозом хронический гломерулонефрит, осложненный ХПН терминальной стадии, до и после трансплантации почки от живого родственного донора. Контрольную группу составили 66 практически здоровых лиц. В группе больных было 22 женщины и 52 мужчины, средний возраст составил  $33,80 \pm 1,32$ . Среди практически здоровых лиц было 30 мужчин и 36 женщин, средний возраст составил  $44,81 \pm 1,2$ . Типирование полиморфизма CYP3A5 G6986A проводили при помощи наборов «Лекарственное средство – такролимус, CYP3A5 G6986A» («Генотехнология-Литех», Москва) с использованием метода PCR.

Содержание препарата такролимуса в крови проводили автоматизированным методом на анализаторе Siemens Dimension Xpand, (США) с использованием набора специфических реагентов Tacrolimus (Siemens Health care Diagnostics Inc., США).

Для оценки полученных результатов и проведения статистической обработки данных в данной работе использовался пакет программ Arlequin 2015 (версия 3.5.2.2), Excel 2007, SISA.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью определения характера распределения CYP3A5 A6986G, rs776746, в качестве контрольной группы, нами было обследовано 66 практически здоровых лиц узбекской национальности. Генотип AA по CYP3A5 обнаружен не был, AG встречался у 9,09% ( $n = 6$ ), GG у 90,91% ( $n = 60$ ) обследованных, частота встре-

чаемости А аллели составила 0,045, частота G аллели – 0,955.

Были обследованы 74 пациента с диагнозом хронический гломерулонефрит, осложненный ХПН. В данной группе больных генотип AA обнаружен не был, так же как и в группе популяционного здорового контроля, AG генотип встречался у 35,14% ( $n = 26$ ), GG у 64,86% ( $n = 48$ ) обследованных, частота встречаемости А аллеля составила 17,57% ( $n = 26$ ), частота G аллеля – 82,43% ( $n = 122$ ). При анализе полученных результатов, было выявлено, что в данной выборке больных аллель А являлся достоверно значимым маркером предрасположенности с высоким показателем  $OR=4,475$ ,  $\chi^2=11,688$ , Wald 95% CI:  $0,089 \geq 0,223 \geq 0,562$ . В свою очередь маркер G встречался реже в группе больных, по сравнению с практически здоровыми лицами ( $OR=0,223$ ,  $\chi^2=11,688$ , Wald 95% CI:  $1,78 \geq 4,475 \geq 11,252$ ). Для генотипа GG было характерно распределение подобное аллельному распределению в данной выборке исследуемых лиц. GG генотип встречался чаще в группе здоровых по сравнению с группой пациентов с ХГН ( $OR=0,185$ ,  $\chi^2=13,42$ , Wald 95% CI:  $0,07 \geq 0,185 \geq 0,485$ ), тогда как генотип GA встречался с наивысшими показателями относительного риска и достоверности в данной группе, что говорит о его предрасполагающем значении ( $OR=5,417$ ,  $\chi^2=13,42$ , Wald 95% CI:  $2,063 \geq 5,417 \geq 14,224$ ).

Таким образом, в данном исследовании была определена частота встречаемости однонуклеотидного варианта CYP3A5 (A6986G, rs776746) в группе практически здоровых лиц и у пациентов с ХГН узбекской популяции.

Далее нами были проведены исследования у пациентов с ХГН и ТХПН после трансплантации почки от живого родственного донора. Как известно, изофермент цитохрома P-450 3A5 (CYP3A5), может играть существенную роль в метаболизме некоторых лекарственных веществ, в том числе и такролимуса, который входит в обязательный протокол иммуносупрессии у реципиентов после трансплантации почки. Такролимус изначально был разработан как мощный иммуносупрессант, используемый при трансплантации различных органов. Такролимус может применяться перорально или внутривенно. При этом необходим тщательный мониторинг состояния пациента.

Следующим этапом было проведение исследования концентрации такролимуса у реципиентов после трансплантации почки. В дан-

ном исследовании были проанализированы значения концентрации такролимуса в крови, которые выявлялись у реципиентов в течение мониторинга в первые 3–4 месяца после трансплантации. В данном исследовании были выведены средние показатели концентрации для каждого обследуемого пациента и затем выведено одно среднее число из всех полученных показателей. Как видно из диаграммы, у носителей генотипа GG средняя концентрация составила 16,12 нг/мл, в то время как у носителей GA генотипа концентрация была в 2,61 раз ниже и составила 6,16 нг/мл.

Затем были проанализированы значения концентрации такролимуса в крови, которые выявлялись у реципиентов в 1–3 суток после трансплантации почки. В данном исследовании были проанализированы и просчитаны первые показатели концентрации такролимуса, затем выведено одно среднее число из всех показателей. Согласно полученным данным, у носителей генотипа GG средняя концентрация составила 18,45 нг/мл, в то время как у носителей GA генотипа концентрация была в 3,05 раз ниже и составила 6,04 нг/мл. Полученные результаты свидетельствуют о явной зависимости метаболизма такролимуса в зависимости от генотипа CYP3A5 6986. Также следует отметить, что в 30% случаев, у пациентов с генотипом полиморфизма CYP3A5 GG наблюдалось значительное превышение допустимого порога токсичности, т.е. концентрация такролимуса у них значительно превышала 30 нг/мл. Это может стать причиной таких нежелательных явлений, как вазоконстрикция, гипертензия и нефротоксичность.

Эти данные ещё раз свидетельствуют о том, что носители GG генотипа, являются медленными метаболиторами и нуждаются в коррекции режима дозирования.

Безусловно, генотипирование полиморфизма CYP3A5 не заменяет применения терапевтического лекарственного мониторинга, однако применение фармакогенетических тестов и персонализированный подход к выбору режима дозирования такролимуса может увеличить количество пациентов, у которых концентрация такролимуса будет находиться в пределах терапевтического диапазона и не будет превышать допустимый порог токсичности.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Середенин С. Б.* Лекции по фармакогенетике // М.: МИА, 2004. – 303 с. [Seredenin S. B. Lectures on pharmacogenetics // М.: MIA, 2004. – 303 p.]
2. *Сычев Д. А., Игнатъев И. В., Раменская Г. В., Кукес В. Г.* Клиническая фармакогенетика / Под ред. В. Г. Кукеса, Н. П. Бочкова. – М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2007. – 248 с. [Sychev D. A., Ignatyev I. V., Ramenskaya G. V., Kukes V. G. A clinical pharmacogenetics / Under the editorship of V. G. Kukes, N. P. Borchkov. – М.: GEOTAR-MEDIA, 2007. – 248 p.]
3. *Diasio R. B., Beavers T. L., Carpenter J. T.* Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase: biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil-induced toxicity // J. Clin. Invest. – 1988. – Vol. 81. – P. 47–51.
4. *Lemoine A., Daniel A., Dennison A., Kiffel L., Lydiane P., Valérie F., Thierry B., Gilles F., Brigitte D., Patrick M., Henri B., Philippe B.* FK 506 renal toxicity and lack of detectable cytochrome P-450 3A in the liver graft of a patient undergoing liver transplantation // Hepatology. – 1994. – Vol. 20. – P. 1472–1477.

**APPLICATION OF GENOTYPING CYP3A5 POLYMORPHISM  
FOR CORRECTING DOSE OF TACROLIMUS IN KIDNEY  
TRANSPLANTATION**

© 2019 **M. R. Ruzibakiyeva<sup>1\*</sup>, T. U. Aripova<sup>1</sup>, F. A. Hadzhibayev<sup>2</sup>,  
V. Kh. Sharipov<sup>2</sup>, Z. Sh. Azizova<sup>1</sup>**

*\*E-mail: malika-ruz@hotmail.com*

<sup>1</sup>*Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of Uzbekistan,  
Tashkent, Uzbekistan;*

<sup>2</sup>*Republican Specialized Scientific Center for Emergency Medical Aid of the Ministry  
of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan*

**Received:** 11.02.2019. **Accepted:** 22.02.2019

Currently, according to standard immunosuppression protocols after organ transplantation, tacrolimus is used as a part of immunosuppressive therapy. Along with obtaining the desired immunosuppressive effect, the problem of the development of unwanted adverse reactions to this drug is highly relevant. Pharmacogenetic testing of genotyping of the polymorphism of CYP3A5 G6986A, allows a personalized approach to the selection of the dosing regimen of tacrolimus, may increase the number of patients in whom the concentration of tacrolimus will be within the therapeutic range and will not exceed the acceptable toxicity level.

*Key words:* tacrolimus, immunosuppression, kidney transplantation

**Authors:**

**Ruzibakiyeva M. R.**, ✉ PhD, Senior Researcher Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan. **E-mail:** malika-ruz@hotmail.com;

**Aripova T. U.**, MD, Academician of the Academy of Sciences of Uzbekistan, Director of the Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan;

**Hadzhibayev F. A.**, D.M.S., Head of Surgery Department of the Republican Specialized Scientific Center for Emergency Medical Aid of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan;

**Sharipova V. Kh.**, MD, Head of the Department of Anaesthesiology and Reanematology of the Republican Specialized Scientific Center for Emergency Medical Aid of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan;

**Azizova Z. Sh.**, junior researcher Institute of Human Immunology and Genomics, Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan.

## МОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ДНК ЭУКАРИОТ НА ФЕНОТИП СУБПОПУЛЯЦИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

© 2019 г. Т. В. Русинова<sup>1</sup>, Г. А. Чудилова<sup>1</sup>, С. В. Ковалева<sup>1</sup>,  
В. А. Тараканов<sup>1</sup>, Н. К. Барова<sup>1</sup>, И. В. Нестерова<sup>1,2\*</sup>

\*E-mail: inesterova1@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, Россия;

<sup>2</sup>ФГАБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования  
и науки России, Москва, Россия

Поступила: 06.03.2019. Принята: 18.03.2019

Изучены фенотипические особенности 3 субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов (НГ), экспрессирующих CD64, CD32, CD16, CD11b у детей с гнойно-воспалительными заболеваниями системного характера. Оценено влияние натриевой соли ДНК эукариот в эксперименте *in vitro* на трансформированный фенотип этих субпопуляций НГ. Установлены иммуномодулирующие эффекты ДНК, проявляющиеся в значимом снижении количества НГ провоспалительной субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, уменьшении количества НГ субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, дефектной по CD32, увеличении субпопуляции CD64<sup>-</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ.

**Ключевые слова:** нейтрофильные гранулоциты, фенотип, субпопуляции

DOI: 10.31857/S102872210006945-4

Адрес: 117513, г. Москва, Ленинский проспект, 123–1,  
ФГАБОУ ВО РУДН, кафедра аллергологии и иммунологии.  
Нестерова Ирина Вадимовна. Тел.: 8(916)1877341 (моб.).

E-mail: inesterova1@yandex.ru

**Авторы:**

**Русинова Т. В.**, к. б. н., научный сотрудник ЦНИЛ, ФГБОУ  
ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия;

**Чудилова Г. А.**, к. б. н., доцент, заведующая отделом кли-  
нико-экспериментальной иммунологии и молекулярной  
биологии ЦНИЛ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России,  
Краснодар, Россия;

**Ковалева С. В.**, к. м. н., доцент, старший научный сотрудник  
ЦНИЛ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Красно-  
дар, Россия;

**Тараканов В. А.**, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой  
хирургических болезней детского возраста, ФГБОУ ВО  
КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия.

**Барова Н. К.**, к. м. н., ассистент кафедры хирургических бо-  
лезней детского возраста, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава  
России, Краснодар, Россия.

**Нестерова И. В.**, д. м. н., профессор, профессор кафедры  
аллергологии и иммунологии, ФГАБОУ ВО «Российский  
университет дружбы народов» Министерства образования  
и науки России, г. Москва, Россия; главный научный со-  
трудник ЦНИЛ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России,  
Краснодар, Россия.

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) являются регуляторными иммунокомпетентными клетками, участвующими в реализации реакций, как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Выполнение НГ различных функций (фагоцитоз, клеточная цитотоксичность, клиренс иммунных комплексов, образование внеклеточных ловушек и др.) обусловлено наличием функционально-значимых рецепторов, которые могут изменять характер своей экспрессии под действием факторов микроокружения, что влечет за собой изменение субпопуляционного состава НГ. К подобным молекулам можно отнести FcγR – (CD64, CD32, CD16) и рецепторы адгезии CD11b. Экспрессия CD64 считается очень ранней фазой иммунного ответа на бактериальную инфекцию. При системном воспалительном ответе, местной инфекции или повреждении тканей экспрессия CD64 на НГ, а также количество мРНК CD64 повышается [2]. Низкоаффинные CD16 (FcγRIII), CD32 (FcγRII) играют важную роль во взаимодействии НГ с иммунными комплексами. CD11b

регулирует адгезию и миграцию НГ, опосредуют поглощение и полноценный фагоцитоз [1]. Известно о многочисленных субпопуляциях НГ, обладающих различными функциональными возможностями и способных изменять свой фенотип в зависимости от микро- и макроокружения. При этом происходящая перестройка фенотипа субпопуляций не всегда адекватна тяжести инфекционно-воспалительных процессов и может нуждаться в своевременной иммунокоррекции [1]. Определенный интерес в этой связи представляет изучение влияния натриевой соли олигомеров ДНК эукариот на трансформированный фенотип субпопуляций НГ при тяжелых бактериальных инфекциях у детей.

**Цель исследования:** изучение особенностей фенотипа 3 субпопуляций НГ, экспрессирующих CD64, CD32, CD16, CD11b у детей с гнойно-воспалительными заболеваниями с оценкой эффектов влияния натриевой соли ДНК эукариот в системе *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованы образцы периферической крови (ПК) детей с гнойно-воспалительными заболеваниями: 3–4 лет ( $n=7$ ) с остеомиелитом, перитонитом (большая гнойная инфекция – БГИ) и 10 условно-здоровых детей соответствующего возраста. Проводили оценку количества НГ (%) и плотность экспрессии (MFI) мембранных рецепторов CD64, CD32, CD16, CD11b (МКАТ «Beckman Coulter International S. A.», Франция) методом проточной цитометрии (FC500, «Beckman Coulter», США). Оценка экспрессии рецепторов проведена на НГ ПК клинической и контрольной групп; на НГ детей с БГИ после инкубации в течение 1 часа при 37 °С с натриевой солью ДНК (1,5%-ный раствор дезоксирибонуклеината натрия, ЗАО «Фармацевтическое предприятие «Техномедсервис»). Статистическая анализ проводили с использованием программ Microsoft Excel, StatPlus 2009.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных продемонстрировал, что у условно-здоровых детей 3–4 лет в ПК циркулирует мажорная субпопуляция CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ, которая встречается в 96,01 [95,58;97,60]% НГ. При этом НГ одновременно оснащены рецепторами CD32, CD16, CD11b с разной плотностью экспрессии: уровень MFI CD16 составляет 132,5 [117,5;144,5], MFI CD32 – 5,06 [4,34;6,18] и MFI CD11b – 22,4

[12,18;25,75]. Кроме того, выявлена вторая минорная субпопуляция – CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ, составляющая 1,75 [1,4;1,93]% с уровнем MFI CD64 – 9,35 [9,24;9,57], MFI CD16 – 91,55 [82,18;106,48], MFI CD32 – 6,51 [5,02;8,92], MFI CD11b – 19,8 [13,4;26,93]. У больных с БГИ выявлено значительное увеличение субпопуляция CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ до 45,1 [38,47;56,87]% со снижением плотности экспрессии CD64 по MFI до – 3,56 [2,87;4,80], CD32 по MFI – до 4,94 [3,82;5,01], CD16 – до 57,8 [52,69;66,14]. При этом плотность экспрессии по MFI CD11b была увеличена в 2 раза. Установлено появление субпопуляции дефектной по рецептору CD32 – CD64<sup>+</sup>CD32<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ – 36,2% [27,79;38,74] с аналогичным уровнем оснащенности рецепторов по MFI CD64, CD16 и CD11b, что расценивается как прогностически неблагоприятный признак неполноценности эффекторных функций НГ. При этом субпопуляция CD64<sup>+</sup>CD32<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ составила всего 14,95% [10,28;18,71] и имела рецепторы с низкой оснащенностью, как по CD32, так и по CD11b, в частности уровень экспрессии CD11b составил 36,5 [31,78;47,19]. Инкубация ПК детей с БГИ с натриевой солью ДНК позволила выявить её модулирующие эффекты, проявляющиеся в снижении количества субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ в 1,5 раза с уменьшением в 2,21 раза плотности экспрессии CD11b до значений контроля, на этом фоне наблюдалось увеличение субпопуляции CD64<sup>-</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ в 1,4 раза с неизменяющимся низким уровнем оснащения мембранными рецепторами CD32, CD16, а также снижением MFI CD11b до уровня контрольной группы. Отмечена тенденция к снижению количества субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ с достоверным снижением экспрессии по MFI молекулы CD11b до уровня контроля и позитивным увеличением плотности экспрессии CD16.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате исследования установлен иммуномодулирующий эффект натриевой соли ДНК, проявляющийся в переориентации фенотипа НГ с провоспалительного в противовоспалительный, в частности, снижение количества провоспалительной субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ и дефектной по CD32 субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> НГ, трансформированных при гнойно-воспалительных заболеваниях у детей системно-

го характера. Продемонстрировано увеличение % НГ провоспалительной субпопуляции CD64<sup>-</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, не несущей CD64. Кроме того, под влиянием натриевой соли ДНК наблюдалась нормализация уровня экспрессии рецепторов CD32, CD16 и CD11b в субпопуляции CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>НГ, что расценено, как прогностически благоприятное явление.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А.,

- Неуен Т. З. Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. (Часть 2). *Инфекция и иммунитет* 2018, 8(1), 7–18. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18. [Nesterova I. V., Kolesnikova N. V., Chudilova G. A., Lomtatidze L. V., Kovaleva S. V., Yevlevsky A. A., Nguyen T. Z. L. A new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. (Part 2). *Infection and immunity* 2017, 7(3), 219–230. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18. Russian]
2. García-Salido A., de Azagra-Garde A.M., García-Teresa M.A. Accuracy of CD64 expression on neutrophils and monocytes in bacterial infection diagnosis at pediatric intensive care admission. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019, 1–7. DOI: 10.1007/s00005-017-0476-4.

### MODULATING EFFECT OF EUKARYOTIC DNA ON THE EXPRESSION OF FUNCTIONALLY IMPORTANT RECEPTOR OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES

© 2019 T. V. Rusinova<sup>1</sup>, G. A. Chudilova<sup>1</sup>, S. V. Kovaleva<sup>1</sup>, V. A. Tarakanov<sup>1</sup>, N. K. Barova<sup>1</sup>, I. V. Nesterova<sup>1,2\*</sup>

\*E-mail: inesterova1@yandex.ru

<sup>1</sup>Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Autonomous Budget Educational Institution of Higher Professional Education «Peoples' Friendship University of Russia» of Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russia

Received: 06.03.2019. Accepted: 18.03.2019

In article were studied phenotypic features of 2 neutrophilic granulocytes (NG) subsets expressing CD64, CD32, CD16, CD11b in children with systemic purulent-inflammatory diseases. We evaluated sodium salt of eukaryotic DNA effect on transformed phenotype of these NG subsets in vitro. Immunomodulatory effects of DNA have been established, which are manifested in a significant decrease in the number of NGs of the pro-inflammatory subset CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>NG, the decrease in the number of NG subset of CD64<sup>+</sup>CD32<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> NG defective in CD32 and the increase the anti-inflammatory subset CD64<sup>+</sup>CD32<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>NG.

*Key words:* neutrophilic granulocytes, phenotype, subset

#### Authors:

**Rusinova T. V.**, Ph.D. (Biological Sciences), Researcher, Central Research Laboratory, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Chudilova G. A.**, PhD (Biological Sciences), Associate Professor, Head of Department of Clinical and Experimental Immunology and Molecular Biology of Central Research Laboratory, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Kovaleva S. V.**, Ph.D. (Medical Science), Associate Professor, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Tarakanov V. A.**, Doctor of Medical Sciences (MD), Professor, Head of the Department of Surgical Diseases of Childhood, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Barova N. K.**, PhD (Medical Science), Assistant of the Department of Surgical Diseases of Childhood, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of the Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia;

**Nesterova I. V.**, ✉ Doctor of Medical Sciences (MD), Professor, Professor of the Department of Allergology and Immunology, Federal Budget Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Peoples' Friendship University of Russia» of Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russia; Chief Researcher of Central Research Laboratory, Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University» of Ministry of Health Care of Russia, Krasnodar, Russia. **E-mail:** inesterova1@yandex.ru

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ В БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЛАВАЖНОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

© 2019 г. Л. В. Рябова<sup>1</sup>, С. Е. Никонова<sup>2\*</sup>

\*E-mail: nikonova\_se@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

<sup>2</sup>Муниципальное автономное учреждение здравоохранения Ордена Трудового Красного Знамени  
«Городская клиническая больница № 1», Челябинск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

Было обследовано 19 пациентов с диагнозом ХОБЛ III–IV стадии, стаж курения составил 39,1±1,94 лет. В данной группе больных было проведено исследование цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, TNF-α в бронхоальвеолярной лаважной жидкости методом твердофазного иммуноферментного анализа. Выявлен дисбаланс цитокинов, который проявился в статистически значимом повышении провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, и статистически значимом снижении противовоспалительных цитокинов ИЛ-10, что подтверждает наличие хронического персистирующего воспалительного процесса в бронхиальном дереве.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких, цитокины, бронхоальвеолярный лаваж

DOI: 10.31857/S102872210006946-5

Адрес: 454048, г. Челябинск, улица Воровского, 16, Муниципальное автономное учреждение здравоохранения Ордена Трудового Красного Знамени «Городская клиническая больница № 1». Никонова Светлана Евгеньевна.  
Тел.: +7(351) 7284924, 89127965212 (моб.).

E-mail: nikonova\_se@mail.ru

**Авторы:**

**Рябова Л. В.**, д.м.н., профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия;

**Никонова С. Е.**, заведующая пульмонологическим отделением МАУЗ Ордена Трудового Красного Знамени «Городская клиническая больница № 1», Челябинск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Согласно современным представлениям, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) — это распространенное заболевание, которое можно предотвратить и лечить, характеризующееся персистирующими респираторными симптомами и ограничением скорости воздушного потока, которое связано с бронхиальными и/или альвеолярными нарушениями, обычно вызываемыми значительным воздействием по-

вреждающих частиц или газов. ХОБЛ является серьезной медико-социальной проблемой, одной из ведущих причин снижения качества жизни, работоспособности и инвалидизации населения. Распространенность ХОБЛ во взрослой популяции составляет в среднем 10–12%. По данным Исследования глобального бремени болезни, в 2016 г. распространенность ХОБЛ в мире была на уровне 251 миллиона случаев. Заболеваемость увеличивается с возрастом от 2,6% в возрастной группе 18–34 до 12,5% у 75-летней популяции. На протяжении последних лет отмечается также неуклонный рост летальных исходов, обусловленный этим заболеванием. По прогнозам Всемирной организации здравоохранения к 2020 году ХОБЛ будет занимать 5-е место по заболеваемости и 3-е место в структуре смертности среди всех болезней [1, 2].

Особенностью развития ХОБЛ является наличие хронического воспаления [2]. Действие повреждающих факторов, последующая активация макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов и эпителиальных клеток у больных ХОБЛ при-

водит к продукции свободных радикалов кислорода. Свободные радикалы усиливают повреждение эпителиальных клеток верхних и нижних дыхательных путей, активируют факторы транскрипции NF- $\kappa$ B и AP-1, которые индуцируют синтез провоспалительных цитокинов, экспрессию ИЛ-8. Активация моноцитов/макрофагов и нейтрофилов в очаге воспаления сопровождается дальнейшим увеличением синтеза провоспалительных цитокинов, прежде всего TNF- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8. Все это способствует дальнейшему усилению притока нейтрофилов в легочную ткань и формированию «порочного круга» [2]. Воспаление имеет системный характер.

**Цель исследования** – изучить уровни провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в бронхоальвеолярной лаважной жидкости у больных ХОБЛ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе городской клинической больницы № 1 г. Челябинска были обследованы 19 пациентов мужского пола, находившихся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении. Средний возраст пациентов составил  $61,8 \pm 2,76$  лет. Пациенты имели стаж курения  $39,1 \pm 1,94$  лет и являлись злостными курильщиками (индекс пачка-лет составил  $45,1 \pm 3,89$ ).

В настоящее исследование не включались пациенты с бронхиальной астмой, имеющие ИБС, стенокардию напряжения, опухоли различной локализации. В качестве сопутствующей патологии больные имели гипертоническую болезнь, хронический пиелонефрит, кисты почек, печени. Хронические сопутствующие заболевания находились в состоянии ремиссии. Всем больным была проведена спирометрия с помощью аппарата MicroLoop. Выполнено исследование функции внешнего дыхания с бронхолитиком. Модифицированный индекс Тиффно (ОФВ1/ ФЖЕЛ) у всех пациентов был менее 0,70. Показатели ОФВ1 соответствовали III–IV стадии ХОБЛ по GOLD. Большинство пациентов находились в стадии персистирующего инфекционного обострения ХОБЛ. Исследовали индуцированную мокроту.

Пациентам выполнена диагностическая фибробронхоскопия по стандартной методике гибким фиброскопом с помощью аппарата Olimpus под местной анестезией с проведением бронхоальвеолярного лаважа. Проводилось цитологическое, микробиологическое, иммунологическое исследование лаважной жидкости (определение

провоспалительных и противовоспалительных цитокинов). Все больные получали базисную терапию: М-холиноблокаторы длительного действия, при необходимости – короткого действия через небулайзер, отхаркивающую терапию, антибактериальную терапию согласно рекомендациям GOLD по лечению хронической обструктивной болезни легких.

Содержание цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, TNF- $\alpha$ ) в лаважной жидкости определялось методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реактивов согласно инструкции фирм-производителей тест-систем («Цитокин», Россия) с помощью ИФА-анализатора «PersonalLab» (Италия). Полученные величины выражались в пг/мл.

При статистической обработке данных использовали ПО IBM SPSS Statistics, Version 19. Различия распределения величин между группами определяли с помощью U-критерия Манна-Уитни. Различия между группами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По данным микробиологического исследования индуцированной мокроты отмечался рост золотистого стафилококка, альфа-гемолитического стрептококка в диагностически значимом титре.

Та же микробиологическая флора была выделена при бактериологическом посеве лаважной жидкости: *St. Aureus* (в том числе, MRSA), альфа-гемолитический стрептококк, что подтверждало инфекционную природу обострения ХОБЛ. У большинства больных в пульмоцитограмме преобладали нейтрофилы, у одного – лимфоциты, что подтверждает выраженную степень тяжести больных [2] – ХОБЛ III–IV ст.

При анализе данных выявлено достоверно значимое повышение содержания провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  в сравнении с нормой  $p < 0,05$ . Уровень ИЛ-1 $\beta$  превышал нормальные показатели в 41,40 раз. Также в лаважной жидкости выявлены достоверно значимые высокие уровни содержания ИЛ-6, и, особенно, ИЛ-8 ( $811,37 \pm 14,99$  пг/мл), что подтверждает наличие выраженного воспалительного процесса в бронхиальном дереве. Одновременно в данном исследовании было отмечено достоверное снижение уровня ИЛ-10 в лаважной жидкости в 2,6 раза в сравнении с нормой,  $p < 0,05$ . То есть дисбаланс в данном случае смещен в сторону провоспалительных цитокинов.

## ВЫВОД

Таким образом, в данном исследовании подтвержден дисбаланс цитокинов со смещением в сторону провоспалительных цитокинов, что доказывает наличие у данной группы больных выраженного персистирующего воспаления в бронхиальном дереве.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Здравоохранение в России. 2011: Стат.сб./Росстат.— М., 2011.— 326 с. [Health care in Russia. 2011: Stat.sb / Rosstat.— М., 2011.— 326 p].
2. Пульмонология. Национальное руководство. Краткое издание / под ред. акад. РАМН А. Г. Чучалина.— М.: ГЭОТАР—Медиа, 2013.— 800 с. [Pulmonology National leadership. Short edition / ed. Acad. RAMS A. G. Chuchalina.— М.: GEOTAR—Media, 2013.— 800 p].
3. Хроническая обструктивная болезнь легких: Монография / под ред. Чучалина А. Г. (Серия монографий Российского респираторного общества).— М.: Издательский дом «Атмосфера», 2008.— 568 с., ил. [Chronic obstructive pulmonary disease: Monograph / ed. Chuchalina A. G. (A series of monographs of the Russian Respiratory Society).— М.: Atmosphere Publishing House, 2008.— 568 с., II].

## DETERMINATION OF THE LEVEL OF CYTOKINES IN BRONCHOALVEOLAR LAVAGE FLUID IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

© 2019 L. V. Ryabova<sup>1</sup>, S. E. Nikonova<sup>2\*</sup>

\*E-mail: nikonova\_se@mail.ru

<sup>1</sup>Federal state budgetary educational institution of higher education “South Ural State Medical University”, Chelyabinsk, Russia;

<sup>2</sup>Municipal Autonomous Healthcare Institution of the Order of the Red Banner of Labor “City Clinical Hospital No. 1”, Chelyabinsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 28.03.2019

19 patients were diagnosed with stage III–IV COPD, the smoking experience was 39.1±1.94 years. In this group of patients, a study of cytokines IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α in bronchoalveolar lavage fluid was carried out by the method of enzyme-linked immunosorbent assay. Disequilibrium of cytokines was found, which was appeared by statistically significant raising of proinflammatory cytokines IL-1β, IL-6, IL-8, and statistically significant lowering for anti-inflammatory cytokines IL-10, so that proves presence of chronic persistent inflammations in the bronchial tree.

*Key words:* chronic obstructive pulmonary disease, cytokine, bronchoalveolar lavage

### Authors:

**Ryabova L. V.**, holder of Habilitation degree in medicine, professor of Propaedeutics of Internal Diseases in Federal state budgetary educational institution of higher education “South Ural State Medical University”, Chelyabinsk, Russia;

**Nikonova S. E.**, ✉ Head of the Pneumology Department of the Municipal Autonomous Healthcare Institution of the Order of the Red Banner of Labor “City Clinical Hospital № 1”, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** nikonova\_se@mail.ru

## ОЦЕНКА ВЗАИМОСВЯЗИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА И КОЭФФИЦИЕНТА АНИЗОТРОПИИ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

© 2019 г. К. С. Савчук<sup>1\*</sup>, Л. В. Рябова<sup>2</sup>, К. В. Никушкина<sup>2</sup>,  
Т. И. Никонова<sup>2</sup>

\*E-mail: ksenyasavchuk@gmail.com

<sup>1</sup>Муниципальное бюджетное учреждение здравоохранения Городская клиническая поликлиника № 8, Челябинск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

Цель исследования – провести анализ корреляционных связей между показателями системного воспаления и коэффициентом анизотропии эритроцитов у больных сахарным диабетом 2 типа с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей. Обследовано 40 пациентов с сахарным диабетом 2 типа. С помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена были обнаружены статистически значимые прямые корреляционные связи между уровнем ИЛ-1 $\beta$  и коэффициентом анизотропии эритроцитов ( $r=0,358$ ;  $p=0,027$ ). При этом значимых связей между ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$  и коэффициентом анизотропии эритроцитов не выявлено.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, атеросклероз артерий нижних конечностей, коэффициент анизотропии эритроцитов, цитокиновый статус, ИЛ-1 $\beta$

DOI: 10.31857/S102872210006947-6

**Адрес:** 454007, г. Челябинск, проспект Ленина, 3, Муниципальное бюджетное учреждение здравоохранения Городская клиническая поликлиника № 8. Савчук Ксения Сергеевна. Тел./факс: +7(351) 7349998, 8951 452 19 69 (моб.).

**E-mail:** ksenyasavchuk@gmail.com

**Авторы:**

**Савчук К. С.**, заместитель главного врача по медицинской части МБУЗ ГКП № 8, Челябинск, Россия;

**Рябова Л. В.**, д.м.н., профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия;

**Никушкина К. В.**, в.н.с. НИИ Иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия;

**Никонова Т. И.**, ст. лаборант НИИ Иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Тенденция последнего времени состоит в повышении распространенности сахарного диабета (СД). Сосудистые осложнения СД являются основной причиной инвалидизации и смертно-

сти при данном заболевании, а на долю макрососудистых осложнений, которые морфологически мало отличимы от тяжелого быстро прогрессирующего атеросклеротического процесса, приходится до 80% неблагоприятных исходов у больных СД2 типа [1]. В настоящее время существует необходимость в выделении биомаркеров, специфичных для периферического атеросклероза. С позиций иммуноопосредованной теории развития атеросклероза наиболее перспективными являются различные компоненты иммунной системы, к которым можно отнести целый ряд цитокинов. Также, в исследованиях последних лет выявлена связь неблагоприятных исходов у больных с атеросклерозом периферических сосудов и с сахарным диабетом [2] с коэффициентом анизотропии эритроцитов (RDW) в общем анализе крови. Однако, несмотря на значительный прогресс в изучении атеросклероза, многие ключевые звенья этого процесса остаются недостаточно ясными.

**Цель исследования.** Определение зависимости атеросклеротического процесса в артериях нижних конечностей от показателей системного воспаления (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$ ) в сыворотке крови и коэффициента анизотропии эритроцитов (RDW) у больных сахарным диабетом 2 типа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были обследованы 14 мужчин и 26 женщин с сахарным диабетом 2 типа и с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей (АНК) в возрасте от 49 до 73 лет. Критерии включения в исследование: наличие атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей по данным дуплексного сканирования. Критерии исключения: острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, реконструктивные операции на сосудах. Все обследованные лица подписывали информированное согласие на участие в настоящем исследовании. Для оценки наличия и выраженности атеросклеротического поражения АНК всем больным проводилось цветное дуплексное сканирование на аппарате «Mindray». В продольном и поперечном сечении с обеих сторон осматривали следующие артерии на доступных участках: общие бедренные артерии (ОБА), поверхностные бедренные артерии (ПБА), глубокие бедренные артерии (ГБА), подколенные артерии (ПКА), передние большеберцовые артерии (ПББА), задние большеберцовые артерии (ЗББА), артерии тыла стопы. Оценивали следующие ультразвуковые показатели: толщину комплекса интима-медиа (ТКИМ), степень стеноза, наличие атеросклеротической бляшки (АСБ). Уровень циркулирующих ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ФНО- $\alpha$  определяли с помощью коммерческих наборов для иммуноферментного анализа согласно инструкции фирм-производителей («Цитокин», Россия) на ИФА-анализаторе «PersonalLab» (Италия). RDW вычислялся автоматически как отношение стандартного отклонения объема эритроцитов к среднему объему эритроцита, выраженное в процентах. Референтные значения данного параметра находятся в диапазоне от 11,0 до 16,0%.

Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке с использованием ПО IBM SPSS Statistics, Version 19.0. Корреляционный анализ внутри групп проводили с помощью вычисления ранговой корреляции Спирмена. Различия между группами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст пациентов составлял 62,5 (58,3–66,8) года. Длительность СД составляла 11,0 (7,25–14,8) лет. Среди микрососудистых осложнений СД2 типа диабетическая ретинопатия наблюдалась у 11 (27,5%) пациентов, диабетическая нефропатия – у 15 (37,5%) больных. Периферическая диабетическая нейропатия была диагностирована у 40 (100,0%) пациентов с СД. Макрососудистые осложнения были представлены ишемической болезнью сердца (стенокардия напряжения II–III ФК выявлена у 22 (55,0%) пациентов, длительность ИБС составила 9,00 (5,00–13,5) лет), цереброваскулярными заболеваниями (наблюдались у 31 (77,5%) пациентов) и заболеваниями артерий нижних конечностей (у 40 (100,0%) пациентов). Значения для исследуемых цитокинов составили (пг/мл, Ме (ИИ)): ИЛ-1 $\beta$  – 1,32 (0,92–2,01), ИЛ-6 – 2,93 (2,18–4,11), ИЛ-8 – 9,25 (7,10–21,6), ИЛ-10 – 2,17 (1,57–3,17), ФНО- $\alpha$  – 0,52 (0,34–0,63). Среднее значение RDW в общем анализе крови составляло 13,7 (13,0–14,2)%.

В результате анализа полученных нами данных установлено, что у пациентов с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей имелась прямая корреляционная связь между показателями ИЛ-1 $\beta$  и RDW ( $r=0,358$ ;  $p=0,027$ ). Интерлейкин-1 $\beta$  представляет собой провоспалительный цитокин. В исследованиях было отмечено, что ИЛ-1 $\beta$  играет важную роль в развитии атеротромботической болезни, способствуя формированию атеросклеротических поражений, усилению воспаления в стенке сосуда и триггерному пуску дестабилизации бляшки. В некоторых работах отмечена связь коэффициента анизотропии эритроцитов с маркерами воспаления, в том числе уровнями интерлейкинов 6 и 1 [3]. Указанные данные свидетельствуют о значимости RDW в развитии воспаления при атеросклерозе артерий нижних конечностей. При этом значимых связей между ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$  и коэффициентом анизотропии не выявлено.

При проведении корреляционного анализа были установлены положительные взаимосвязи между уровнем ИЛ-1 $\beta$  и степенью стенозирования ЛЗББА ( $r=0,362$ ;  $p=0,025$ ), уровнем ИЛ-6 и наличием АСБ в ЛОБА ( $r=0,342$ ;  $p=0,033$ ), уровнем ФНО- $\alpha$  и наличием АСБ в ПЗББА ( $r=0,360$ ;  $p=0,024$ ), ППББА ( $r=0,378$ ;  $p=0,018$ ), ЛПББА ( $r=0,478$ ;  $p=0,002$ ). Корреляционные связи между ультразвуковыми показателями

и уровнями ИЛ-8, ИЛ-10 не достигали статистической значимости.

При изучении взаимосвязи показателей RDW и ультрасонографических маркеров поражения периферических артерий обнаружены умеренные корреляционные связи между уровнем RDW и степенью стенозирования ЛПБА ( $r=0,372$ ;  $p=0,021$ ), степенью стенозирования ЛПКА ( $r=0,405$ ;  $p=0,012$ ), ПЗБА ( $r=0,375$ ;  $p=0,020$ ).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Тарасов А. А., Резникова Е. А., Давыдов С. И., Бочкарева О. И., Бабаева А. Р.* Клиническое и прогностическое значение маркеров эндотелиальной дисфункции при атеросклероз-ассоциированных
2. *Malandrino N., Wu W., Taveira T.* Association between red blood cell distribution width and macrovascular and microvascular complications in diabetes. *Diabetologia*, 2012, 55 (1), 226–235.
3. *de Gonzalo-Calvo D., de Luxan-Delgado B., Rodriguez-Gonzalez S.* Interleukin 6, soluble tumor necrosis factor receptor I and red blood cell distribution width as biological markers of functional dependence in an elderly population: a translational approach. *Cytokine*, 2012, 58 (2), 193–198.

### ASSESSMENT OF CORRELATION BETWEEN CYTOKINE STATUS AND RED CELL DISTRIBUTION WIDTH IN PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS OF LOWER LIMBS AFFECTED BY DIABETES MELLITUS TYPE 2

© 2019 K. S. Savchuk<sup>1\*</sup>, L. V. Ryabova<sup>2</sup>, K. V. Nikushkina<sup>2</sup>, T. I. Nikonova<sup>2</sup>

\*E-mail: ksenyasavchuk@gmail.com

<sup>1</sup>Municipal budgetary healthcare institution city clinic outpatient clinic No 8, Chelyabinsk, Russia;

<sup>2</sup>Federal state budgetary educational institution of higher education "South Ural State Medical University", Chelyabinsk, Russia, Chelyabinsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 01.04.2019

Research's objective is to make an analysis of correlations between index of systemic inflammation and red cell distribution width in patients with diabetes mellitus type 2 affected by atherosclerosis of lower limbs. 40 patients with diabetes mellitus were examined. Using Spearman rank correlation, statistically significant correlations between IL-1 $\beta$  and red cell distribution width were discovered ( $r=0,358$ ;  $p=0,027$ ). Herewith there is no significant correlation between IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$  and red cell distribution width.

*Key words:* diabetes mellitus type 2, atherosclerotic disease of lower limb's artery, red cell distribution width, cytokine status, IL-1 $\beta$

#### Authors:

**Savchuk K. S.**, ☒ chief operating officer at Municipal budgetary healthcare institution city clinic outpatient clinic No 8, Chelyabinsk, Russia. E-mail: ksenyasavchuk@gmail.com;

**Ryabova L. V.**, holder of Habilitation degree in medicine, professor of Propaedeutics of Internal Diseases at "South Ural State Medical University", Chelyabinsk, Russia;

**Nikushkina K. V.**, senior researcher of Research institute of immunology at "South Ural State Medical University", Chelyabinsk, Russia;

**Nikonova T. I.**, senior assistant of Research institute of immunology "South Ural State Medical University", Chelyabinsk, Russia.

## ОПУХОЛЕВЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ИХ МИКРООКРУЖЕНИЕ: РОЛЬ В РАЗВИТИИ ОПУХОЛИ

© 2019 г. А. Б. Сагакянц\*, И. А. Новикова, Е. П. Ульянова, Е. И. Золотарева, А. В. Шапошников, Е. А. Дженкова

\*E-mail: asagak@rambler.ru

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»  
Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Поступила: 13.03.2019. Принята: 28.03.2019

Опухолевые стволовые клетки (ОСК) – особая функциональная группа клеток в гетерогенной опухолевой популяции, обуславливающая как поддержание и рост опухоли, процессы метастазирования, так и устойчивости к различным химиотерапевтическим препаратам. Остаются актуальными вопросы всестороннего изучения динамики структурной и функциональной организации ниш ОСК, роли отдельных ее компонентов в поддержании данных клеток и определению дальнейшего их поведения. Рассмотрению биологических свойств опухолевых стволовых клеток, их взаимодействию с некоторыми компонентами их микроокружения и роли данного взаимодействия в поддержании свойств ОСК посвящена данная работа.

**Ключевые слова:** опухолевые стволовые клетки, рак, мезенхимальные стволовые клетки, иммунокомпетентные клетки

DOI: 10.31857/S102872210006948-7

**Адрес:** 344037, Российская Федерация, Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, лаборатория иммунофенотипирования опухолей, Сагакянц Александр Борисович.

Тел.: +7(863) 200-1000, доб. 460, +7960445-86-53 (моб.)

**E-mail:** asagak@rambler.ru

**Авторы:**

**Сагакянц А. Б.**, к.б.н., доцент, руководитель лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Новикова И. А.**, к.м.н., заместитель генерального директора по науке ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Ульянова Е. П.**, научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Золотарева Е. И.**, научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Шапошников А. В.**, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник торакоабдоминального отдела ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Дженкова Е. А.**, д.б.н., доцент, ученый секретарь ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия.

В настоящее время общепризнанным является факт наличия внутриопухолевой гетерогенности. Отдельной субпопуляцией в данной структуре является группа трансформированных клеток, обладающих рядом общих с нормальными стволовыми клетками свойствами – опухолевые стволовые клетки (ОСК, cancer stem cells), определяющих метастатический потенциал опухоли и ее устойчивость к терапии.

**Целью** данной работы является рассмотрение особенностей взаимодействия ОСК с некоторыми клетками микроокружения и определение их роли в развитии опухоли.

ОСК солидных опухолей находятся в постоянном взаимодействии со своим микроокружением, или нишей, гетерогенные компоненты которой посредством межклеточных взаимодействий и секретируемых молекул участвуют в поддержании фенотипических особенностей ОСК и их биологических свойств. Ниша ОСК, как и опухоли, сложное, динамическое образование, включающее собственно опухолевые клетки, ОСК, мезенхимальные стволовые клетки (МезСК), эндотелий, клетки иммунной системы, фибробластоподобные клетки стромы,

а также разнообразные компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) [1].

Особая роль в поддержании свойств ОСК отводится макрофагам (Мф). При развитии опухоли опухоль-ассоциированные макрофаги (ОАМ, ТАМ) играют важную роль в формировании микроокружения ОСК, определение их биологических свойств. ОАМ, в зависимости от фенотипа, принято делить на М1 – провоспалительные и М2 – противовоспалительные, которые могут, соответственно, обуславливать как лизис опухолевых клеток, так и способствовать промоции и метастазированию опухоли. Превалирующий фенотип ОАМ не является постоянным, а изменяется в зависимости от локального цитокинового статуса, а также от их взаимодействия с другими клетками ниши.

Показано, что Мф оказывают существенное влияние на свойства, структуру и фенотип ОСК. ОАМ секретируют широкий спектр цитокинов, в том числе эпидермальный фактор роста молочного жира 8 (MFG-E8) и интерлейкин 6 (IL6), которые активируют ряд сигнальных путей – STAT3 и Hedgehog, что определяет их лекарственную устойчивость, увеличение экспрессии CD44<sup>+</sup>-маркера на ОСК, и, в конечном итоге, усиливает онкогенез. Обнаружено, что ОАМ секретируют трансформирующий фактор роста  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1), играющего важную роль в осуществлении эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), что находит отражение в увеличении метастатического потенциала опухоли [2].

ОСК молочной железы взаимодействуют напрямую с ОАМ и опухолевыми моноцитами через CD90/CD11b, что в конечном итоге приводит к активации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B, а также активацию сигнального пути Src в ОСК. Задействование различных сигнальных путей приводит к выбросу ОСК цитокинов (IL6, IL8, GM-CSF), что обуславливает поддержание ее свойств.

Взаимодействие ОСК и ОАМ осуществляется за счет активного моделирования межклеточного матрикса. ОСК способствует наработке гиалуроновой кислоты за счет активации гиалуронан-синтазы 2 (HAS2), которая способствует высвобождению ОАМ тромбоцитарного фактора роста BB (PDGF-BB). PDGF-BB является одним из важнейших активаторов стромальных клеток (в частности, фибробластов) в опухолевом микроокружении. Активированные фибробласты высвобождают фактор

роста фибробластов 7 и 9 (FGF7, FGF9), которые также способствуют поддержанию свойств ОСК [2].

В обычных условиях для стромы органов и тканей, доминирующей клеточной популяцией является фибробласты, которые секретируют компоненты ЭЦМ, формирующие естественный барьер на пути распространения опухолевых клеток. При развитии опухоли создаются условия, в которых ЭЦМ будет поддерживать и способствовать развитию опухоли. В этом случае нормальные фибробласты трансформируются в «опухоль-ассоциированные фибробласты», cancer-associated fibroblast (CAFs), продуцирующие целый ряд белков (коллаген, фибронектин и другие), модифицирующих архитектуру ЭЦМ. В ответ на это, опухолевые клетки изменяют свою морфологию, приобретают способность к инвазии и метастазированию [1]. CAFs могут продуцировать ряд цитокинов (VEGF, HGF и др.), активировать сигнальные пути Wnt, Notch, вызывая переход трансформированных клеток в «стволовое» состояние [3]. Показано, что маркеры ОСК являются прямыми мишенями сигнальных путей, например, для Wnt-сигнального пути таковыми мишенями являются CD44, CD24, CD133, гены ABC-транспортёров, EpCAM [4]. Гиперэкспрессия Wnt-сигнального пути сопровождается онкотрансформацией, увеличивая вероятность ЭМП [4].

Особую роль в формировании ниши играют мезенхимальные стволовые клетки (МезСК), имеющиеся в данной ткани, либо привлекаемые из других органов, например, из костного мозга и поступающие из циркуляции. Попав в поврежденный орган, МезСК секретируют различные факторы, запускающие репарационные процессы, что, в случае развития опухоли, может способствовать росту последней [5].

Таким образом, в условиях тесного взаимодействия с гетерогенными компонентами ниши, предполагающие активацию аутокринных/паракринных сигнальных каскадов, TGF- $\beta$  и рецепторных тирозинкиназ (например, c-met, egf, pdgf) наблюдается возможность поддержания ОСК, активация дедифференцировки трансформированных клеток и создание условий для роста и метастазирования опухоли. Актуальным является поиск путей коррекции сложных межклеточных взаимоотношений между ОСК и компонентами ниши с целью активации противоопухолевого иммунитета и подавления опухолевого процесса.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Papaccio F., Paino F., Regad T., Papaccio G., Desiderio B., Tirino V. Concise Review: Cancer Cells, Cancer Stem Cells, and Mesenchymal Stem Cells: Influence in Cancer Development// Stem Cells Translational medicine, 2017. 6: P. 2115–2125.
2. Sultan M., Coyle K. M., Vidovic D., Thomas M. L., Gujar S., Marcato P. Hide-and-seek: the interplay between cancer stem cells and the immune system// Carcinogenesis, 2017, Vol. 38, No. 2, 107–118.
3. Scheel C., Eaton E. N., Li S. et al. Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast // Cell, 2011.— 145(6): P. 926–40.
4. Kim Y., Kahn M. The role of the Wnt signaling pathway in cancer stem cells: prospects for drug development // Res. Repor. Biochem., 2014.— 4: P. 1–12.
5. Ridge S. M., Sullivan F. J., Glynn S. A. Mesenchymal stem cells: Key players in cancer progression // Mol Cancer, 2017.—16: p. 31.

**TUMOR STEM CELLS AND THEIR MICRO-ENVIRONMENT:  
THE ROLE IN THE DEVELOPMENT OF THE TUMOR**

© 2019 A. B. Sagakyants\*, I. A. Novikova, E. P. Ulyanova, E. I. Zolotareva,  
A. V. Shaposhnikov, E. A. Dzhenkova

\*E-mail: asagak@rambler.ru

Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

**Received:** 13.03.2019. **Accepted:** 28.03.2019

Cancer stem cells (CSC) are a special functional group of cells in a heterogeneous tumor population, causing both the maintenance and growth of a tumor, metastasis processes, and resistance to various chemotherapeutic drugs. The questions of a comprehensive study of the dynamics of the structural and functional organization of CSC niches, the role of its individual components in maintaining these cells and prognosis of their future behavior remain topical. This paper is devoted to the consideration of the biological properties of cancer stem cells, their interaction with some components of their microenvironment and the role of this interaction in maintaining the properties of CSC.

*Key words:* tumor stem cells, cancer, mesenchymal stem cells, immunocompetent cells

**Authors:**

**Sagakyants A. B.**, ☒ Ph.D., Associate Professor, Head of the Laboratory of Immunophenotyping of tumors, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia. **E-mail:** asagak@rambler.ru;

**Novikova I. A.**, PhD, Deputy General Director for Science, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia;

**Ulyanova E. P.**, research fellow, Laboratory of Immunophenotyping of tumors, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia;

**Zolotareva E. I.**, research fellow, Laboratory of Immunophenotyping of tumors, Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia;

**Shaposhnikov A. V.**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher of the Thoraco-Abdominal Department of the Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia;

**Dzhenkova E. A.**, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Scientific secretary of the Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia.

## ДИСКОРДАНТНЫЙ ОТВЕТ CD4<sup>+</sup> Т-ЛИМФОЦИТОВ НА АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ СВЯЗАН С НАРУШЕНИЕМ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА

© 2019 г. Е. В. Сайдакова\*, К. В. Шмагель, Л. Б. Королевская,  
Н. Г. Шмагель

\*E-mail: radimira@list.ru

«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения  
Российской академии наук» – филиал ПФИЦ, Пермь, Россия

Поступила: 20.02.2019. Принята: 04.03.2019

Оценивали способность CD4<sup>+</sup> Т-клеток памяти, выделенных из крови ВИЧ-инфицированных больных с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию, к пролиферации. Показали, что у этой категории больных на фоне снижения числа CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов увеличена доля делящихся CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> Т-клеток. Однако такие лимфоциты не способны завершить клеточный цикл и продуктивно поделиться. Также в пролиферирующих CD4<sup>+</sup> Т-клетках памяти были выявлены нарушения митохондрий и энергетического обмена.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты, дискордантный ответ на антиретровирусную терапию, пролиферация, митохондрии

DOI: 10.31857/S102872210006949-8

Адрес: 614081 г. Пермь, ул. Голева, д. 13., «ИЭГМ УрО РАН», лаборатория экологической иммунологии, Сайдакова Евгения Владимировна. Тел.: 8 (342) 280 83 34.

E-mail: radimira@list.ru

Авторы:

**Сайдакова Е. В.**, к.б.н., м.н.с. лаборатории экологической иммунологии «ИЭГМ УрО РАН», Пермь, Россия;

**Шмагель К. В.**, д.м.н., зав. лабораторией экологической иммунологии «ИЭГМ УрО РАН», Пермь, Россия;

**Королевская Л. Б.**, к.м.н., н.с. лаборатории экологической иммунологии «ИЭГМ УрО РАН», Пермь, Россия;

**Шмагель Н. Г.**, д.м.н., с.н.с. лаборатории экологической иммунологии «ИЭГМ УрО РАН», Пермь, Россия.

Антиретровирусная терапия (АРТ) подавляет репликацию ВИЧ и способствует увеличению численности CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в крови инфицированных пациентов. Вместе с тем, несмотря на эффективное снижение вирусной нагрузки, примерно 30% ВИЧ-позитивных больных не отвечает на лечение восстановлением количества периферических CD4<sup>+</sup> Т-клеток (дискордантный ответ) [1]. У таких больных по сравнению с субъектами, дающими стандартный ответ на лечение, на фоне постоянного иммунодефицита значительно увеличивается риск заболеваемости

и смертности от СПИД-ассоциированных заболеваний и от болезней, не ассоциированных со СПИД [2].

Развитие лимфопении при ВИЧ-инфекции сопровождается компенсаторной реакцией, направленной на восстановление численности лимфоцитов (гомеостатическая пролиферация) [3]. В основе этого процесса лежит постепенное накопление интерлейкина-7 (IL-7), который конститутивно продуцируется стромальными клетками и неэффективно потребляется сниженным числом лимфоцитов. Избыточное количество IL-7 индуцирует деление CD4<sup>+</sup> Т-клеток. В связи с этим, чем глубже лимфопения, тем более высокая концентрация IL-7 обнаруживается в лимфоидных органах и плазме крови больного, что индуцирует более интенсивную пролиферацию CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [3]. Ранее нами было показано, что у больных с дискордантным ответом на АРТ увеличена доля делящихся CD4<sup>+</sup> Т-клеток памяти. Однако на фоне пролиферации у таких пациентов не восстанавливалось число периферических CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов.

**Целью** настоящей работы было определить возможные причины неэффективности деления

CD4<sup>+</sup> Т-клеток памяти у ВИЧ-инфицированных пациентов с дискордантным ответом на АРТ.

План работы был одобрен этическим комитетом Пермского краевого центра по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (рег. № комитета IRB00008964). От каждого участника было получено письменное информированное согласие. Обследовано три группы: 1) ВИЧ-позитивные иммунологические неответчики (ИН) с количеством CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов менее 350/мкл крови через два года терапии; 2) ВИЧ-инфицированные иммунологические ответчики (ИО) с числом CD4<sup>+</sup> Т-клеток более 350/мкл крови после двух лет непрерывного лечения; 3) относительно здоровые добровольцы без ВИЧ-инфекции (К).

Численность CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>) анализировали на проточном цитофлуориметре BD Fortessa. Лимфоциты, экспрессирующие Ki-67 *ex vivo*, рассматривали как митотически активные. Для определения продуктивности пролиферации CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов *in vitro* сортировали делящиеся и неделящиеся CD4<sup>+</sup> Т-клетки памяти. Так как визуализация Ki-67 требует фиксации и пермеабиллизации клеток, для сортировки жизнеспособных пролиферирующих Т-клеток нами был использован суррогатный маркер экспрессии Ki-67 – рецептор трансферрина 1 (CD71) [4]. Полученные делящиеся (CD71<sup>+</sup>) и неделящиеся (CD71<sup>-</sup>) клетки памяти окрашивали CFSE и культивировали 7 дней в полной питательной среде. Массу митохондрий определяли, окрашивая CD4<sup>+</sup> Т-клетки памяти митохондриальным красителем MitoTracker Green FM. Уровень экспрессии генов, вовлеченных в энергетический обмен клеток, устанавливали с использованием технологии Illumina.

В выборке рассчитывали медиану, достоверность различий между группами устанавливали на основе U-критерия Манна-Уитни. Для определения сходств и отличий экспрессии генов применяли методы иерархической кластеризации и многомерного шкалирования.

Три группы обследованных были сопоставимы по возрасту и полу. ВИЧ-инфицированные больные двух групп не отличались между собой по длительности заболевания и продолжительности АРТ. В соответствии с критериями отбора численность CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов крови была снижена у ИН по сравнению с ИО (286/мкл и 532/мкл соответственно; P<0,001). В то же время среднее количество периферических CD4<sup>+</sup> Т-клеток у здоровых субъектов состави-

ло 885/мкл, что было существенно больше, чем в каждой из групп ВИЧ-инфицированных больных (P<0,001).

Несмотря на эффективный иммунологический ответ на АРТ, абсолютное количество CD4<sup>+</sup> Т-клеток памяти у ИО оставалось ниже, чем в группе К (228/мкл и 407/мкл соответственно; P<0,001). В группе ИН дефицит этой субпопуляции Т-лимфоцитов оказался более глубоким. Среднее число CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> Т-клеток ИН составило 155/мкл, что было значительно ниже, чем в группах сравнения (P<0,001).

В условиях лимфопении у взрослого человека восстановление пула CD4<sup>+</sup> Т-клеток в значительной мере происходит посредством гомеостатической пролиферации [3]. Было показано, что у всех ВИЧ-инфицированных больных по сравнению со здоровыми субъектами увеличена доля делящихся периферических CD4<sup>+</sup> Т-клеток памяти (P<0,001). В группе ИН их процентное содержание составило 4,4%; в группе ИО – 3,2%; в группе К – 1,6%. Важно отметить, что различия между ИН и ИО были статистически значимыми (P<0,01). Таким образом, в условиях лимфопении CD4<sup>+</sup> Т-клетки памяти интенсивно пролиферируют, однако увеличения числа периферических CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов не происходит.

С использованием поверхностной молекулы CD71 – суррогатного маркера пролиферации – нам удалось сортировать живые делящиеся (CD71<sup>+</sup>) и неделящиеся (CD71<sup>-</sup>) CD4<sup>+</sup> Т-клетки памяти. Полученные Т-лимфоциты окрашивали CFSE и культивировали в течение 7 дней. В результате было показано, что у ИН по сравнению с ИО и К резко снижена продуктивность пролиферации CD4<sup>+</sup> Т-клеток памяти. Так в группе К доля CFSE<sup>low</sup>CD71<sup>+</sup> Т-лимфоцитов составила 55%; в группе ИО – 47%; а в группе ИН – лишь 15%. При этом CD4<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup> Т-клетки в группах ИО и К в процессе культивирования производили по 4–5 дочерних генераций, в то время как клетки группы ИН редко продуцировали даже одно поколение дочерних лимфоцитов. Более того, делящиеся Т-клетки памяти ИН по сравнению с ИО и К характеризовались сниженной жизнеспособностью. За семь дней культивирования их абсолютное количество в культуре ИН резко упало, что не было отмечено в других обследованных группах.

Известно, что продуктивная пролиферация невозможна без функциональных митохондрий, обеспечивающих энергетические потребности процесса деления [5]. Было установлено, что у ИН по сравнению с ИО в пролиферирующих

CD4<sup>+</sup> Т-клетках памяти снижена интенсивность флуоресценции красителя MitoTracker Green. Это свидетельствует о меньшей массе митохондрий, содержащихся в митотически активных CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> Т-лимфоцитах больных с дискордантным ответом на АРТ. Кроме того, на основании транскрипционного анализа было показано, что в CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>CD71<sup>+</sup> Т-лимфоцитах ИН по сравнению с ИО снижена экспрессия генов, вовлеченных в регуляцию клеточного дыхания, в том числе кодирующих белки комплекса I (*NDUFV1*, *NDUFA9*, *NDUFS8* и др.) и комплекса IV (*COX8A*, *COX5B*, *COX6A1*, *SURF1*) дыхательной цепи митохондрий. Более того, в CD71<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Т-клетках памяти ИН была снижена экспрессия генов, кодирующих ферменты цикла Кребса (*IDH1*, *IDH2*), и генов, вовлеченных в бета-окисление жирных кислот (*CPT1A*).

Таким образом, у больных с дискордантным ответом на лечение наблюдается интенсивная пролиферация CD4<sup>+</sup> Т-клеток памяти, которая не приводит к восстановлению численности периферических CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов. Одной из возможных причин низкой продуктивности деления и слабой жизнеспособности пролиферирующих CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов памяти у ИН может служить нарушение функций митохондрий и связанного с ними энергетического обмена.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-54-30006).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Marchetti G., Gori A., Casabianca A., Magnani M., Franzetti F., Clerici M., Perno C.F., Monforte A., Galli M., Meroni L. Comparative analysis of T-cell turnover and homeostatic parameters in HIV-infected patients with discordant immune-virological responses to HAART. *AIDS*. 2006, 20, 1727–1736.
2. Collaboration of Observational H.I.V.E.R.E.i.E., Lewden C., Bouteloup V., De Wit S., Sabin C., Mocroft A., Wasmuth J.C., van Sighem A., Kirk O., Obel N., Panos G., Ghosn J., Dabis F., Mary-Krause M., Lepout C., Perez-Hoyos S., Sobrino-Vegas P., Stephan C., Castagna A., Antinori A., d'Arminio Monforte A., Torti C., Mussini C., Isern V., Calmy A., Teira R., Egger M., Grarup J., Chene G. All-cause mortality in treated HIV-infected adults with CD4  $\geq$  500/mm<sup>3</sup> compared with the general population: evidence from a large European observational cohort collaboration. *Int J Epidemiol*. 2012, 41, 433–445.
3. Tchao N.K., Turka L.A. Lymphodepletion and homeostatic proliferation: implications for transplantation. *Am J Transplant*. 2012, 12, 1079–1090.
4. Younes S.A., Talla A., Pereira Ribeiro S., Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel K.V., Shive C.L., Freeman M.L., Panigrahi S., Zweig S., Balderas R., Margolis L., Douek D.C., Anthony D.D., Pandiyan P., Cameron M., Sieg S.F., Calabrese L.H., Rodriguez B., Lederman M.M. Cycling CD4<sup>+</sup> T cells in HIV-infected immune nonresponders have mitochondrial dysfunction. *J Clin Invest*. 2018, 128, 5083–5094.
5. Battersby B.J., Richter U. Why translation counts for mitochondria—retrograde signalling links mitochondrial protein synthesis to mitochondrial biogenesis and cell proliferation. *J Cell Sci*. 2013, 126, 4331–4338.

## IN HIV-INFECTED PATIENTS, DISCORDANT RESPONSE OF CD4<sup>+</sup> T-CELLS TO ANTIRETROVIRAL THERAPY IS ASSOCIATED WITH ENERGY METABOLISM VIOLATION

© 2019 E. V. Saidakova\*, K. V. Shmagel, L. B. Korolevskaya, N. G. Shmagel

\*E-mail: radimira@list.ru

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, Russia

Received: 20.02.2019. Accepted: 04.03.2019

We evaluated the ability of memory CD4<sup>+</sup> T-cells that were isolated from the blood of HIV-infected subjects with a discordant response to antiretroviral therapy to proliferate. It was shown that in those patients, frequency of dividing CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> T-cells was increased against the background of CD4<sup>+</sup> T-cell deficiency. However, those lymphocytes were not able to complete the cell cycle and productively divide. Furthermore, in cycling memory CD4<sup>+</sup> T-cells violation of mitochondria and energy metabolism were detected.

**Key words:** HIV-infection, CD4<sup>+</sup> T-lymphocytes, discordant response to antiretroviral therapy, cycling, mitochondria

### Authors:

Saidakova E. V., ☒ PhD, junior research scientist at IEGM UB RAS, Perm, Russia. E-mail: radimira@list.ru;

Shmagel K. V., PhD, head of the department at IEGM UB RAS, Perm, Russia;

Korolevskaya L. B., PhD, research scientist at IEGM UB RAS, Perm, Russia;

Shmagel N. G., PhD, senior research scientist at IEGM UB RAS, Perm, Russia.

## ВЕДУЩИЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУНОПАТОГЕНЕЗА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ ВОСПАЛЕНИЯ (ИНФЕКЦИОННОМ, АУТОИММУННОМ, АТОПИЧЕСКОМ)

© 2019 г. Ж. М. Салмаси\*, Г. В. Порядин, А. Н. Казимирский

\*E-mail: profjms@yandex.ru

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 28.03.2019

Цель настоящего исследования состояла в выявлении ведущих механизмов иммунопатогенеза воспалительных заболеваний различного происхождения. С помощью метода непрямой иммунофлюоресценции определяли количество лимфоцитов, несущих поверхностные рецепторы CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD20, CD72, mIgM, mIgG, CD23, CD25, CD71, HLA-DR, CD54, CD95, CD30, CD38, CD178. У больных с асептическим воспалением наблюдалось увеличение содержания в крови лимфоцитов, несущих маркеры активации CD25, CD71, и HLA-DR. Напротив, при тяжелом течении инфекционного воспалительного процесса у больных выявлено полное отсутствие активации лимфоцитов. При аутоиммунном воспалении активационный процесс в лимфоцитах имеет высокую интенсивность и сопровождается ослаблением экспрессии рецептора активационного апоптоза CD95. Атопические заболевания (атопический дерматит и атопическая бронхиальная астма) также характеризуются интенсивным активационным процессом в лимфоцитах, который сочетается со значительным снижением количества CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов, однако отличаются по содержанию отдельных субпопуляций лимфоцитов в крови.

**Ключевые слова:** иммунопатогенез, воспаление, инфекционные заболевания, аутоиммунные заболевания, атопические заболевания, CD-антигены

DOI: 10.31857/S102872210006950-0

**Адрес:** 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Салмаси Жан Мустафаевич. Тел.: +7 (495) 434-65-56

**E-mail:** profjms@yandex.ru

**Авторы:**

**Салмаси Ж. М.**, д.м.н., заведующий кафедрой патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова», Москва, Россия;

**Порядин Г. В.**, д.м.н., член-корр. РАН, профессор кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова», Москва, Россия;

**Казимирский А. Н.**, д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела молекулярных технологий ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова», Москва, Россия.

**Цель** настоящего исследования состояла в изучении популяционного и субпопуляцион-

ного состава лимфоцитов периферической крови с учетом маркеров активации и апоптоза при инфекционных, аутоиммунных и атопических заболеваниях.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С помощью метода непрямой иммунофлюоресценции определяли количество лимфоцитов, несущих поверхностные рецепторы CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD20, CD72, mIgM, mIgG, CD23, CD25, CD71, HLA-DR, CD54, CD95, CD30, CD38, CD178. Исследовали поверхностные маркеры лимфоцитов при асептическом (9 пациентов), инфекционном процессе (22 пациента) и тяжелом инфекционном процессе, осложненном остеомиелитом (18 пациентов). Аутоиммунное воспаление исследовали у больных миокардитом (84 пациента) и ревматоидным артритом (36 пациентов). Проведено исследование 44 больных атопической бронхи-

альной астмой и 36 пациентов с atopическим дерматитом. Все больные были обследованы в период обострения заболевания. Контрольную группу составили 26 здоровых людей.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все исследованные виды воспаления характеризуются общими неспецифическими изменениями. В их числе: — снижение численности Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>-клетки); — увеличение численности В-лимфоцитов (CD20<sup>+</sup>-клетки); — увеличение численности CD54<sup>+</sup>-лимфоцитов, несущих молекулу межклеточной коммуникации (ICAM-1); — увеличение количества лимфоцитов, экспрессирующих маркеры ранней активации (CD23 и CD25). Вместе с тем каждый вид воспаления характеризуется особым специфическим набором параметров. У больных, как с асептическим воспалением, так и с легким течением инфекционного воспаления наблюдали увеличение количества CD25<sup>+</sup>, CD71<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>-лимфоцитов — маркеров активации. Полное отсутствие активации лимфоцитов обнаружили при тяжелом течении инфекционного воспалительного процесса у больных с остеомиелитом. В динамике развития тяжелого инфекционного воспаления происходит снижение в несколько раз отношения CD25/CD95 и HLA-DR/CD95, что отражает преобладание готовности лимфоцитов к индуцированному апоптозу над их готовностью к росту и к превращению в зрелые клеточные формы. В основе этого явления, на наш взгляд, лежит неспособность Т-лимфоцитов к взаимодействию с антигенпрезентирующими клетками из-за неполной полимеризации актина в Т-лимфоцитах при низкой концентрации внеклеточного аргинина [1]. Тканевое повреждение вызывает повреждение эндотелиальных клеток, выход аргиназы в кровь и снижение концентрации аргинина [2]. Это нарушение является ключевым для развития иммунодефицита и ведет к хронизации воспалительного процесса. Активационный процесс в лимфоцитах при аутоиммунном воспалении имеет высокую интенсивность и сопровождается ослаблением экспрессии рецептора активационного апоптоза CD95. Так у больных миокардитом в динамике обострения регистрируются три последовательные волны экспрессии маркеров CD25, CD71 и HLA-DR, отражающие формирование аутоагрессивного клона лимфоцитов. Нарушение активационного апоптоза лимфоцитов при аутоиммунных заболеваниях индуцировано, на

наш взгляд, некомпенсированными процессами перекисного окисления липидов, которые продуцируют малоновый диальдегид (МДА) способный солибилизовать рецепторы запуска активационного апоптоза CD95 и его лиганд CD95L (CD178). Atopические заболевания (атопический дерматит и atopическая бронхиальная астма) характеризуются интенсивным активационным процессом в лимфоцитах, который сочетается с значительным снижением количества CD95<sup>+</sup>-лимфоцитов. Ведущий процесс при atopических заболеваниях — выраженное нарушение активационного апоптоза лимфоцитов [3]. Это нарушение удлиняет время жизни клеток лимфоидной ткани и вызывает существенное увеличение количества лимфоцитов предшественников плазматических клеток (CD38<sup>+</sup>-лимфоциты), способных развивать интенсивный синтез IgE. Иницируется atopический процесс, по нашему мнению, гиперэкспрессией рецепторов врожденного иммунитета (TLR), что ведет к увеличению образования проаллергических цитокинов TSLP (tymic stromal lymphopoetin) и IL-33 активируя способность миелоидных дендритных клеток индуцировать Th2-воспалительный ответ [4]

Таким образом, различные виды воспаления различаются по ведущим механизмам патогенеза. Этот новый подход может быть полезен как в понимании патологических процессов, так и разработке новых методов лечения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Feldmeyer N., Wabnitz G., Leicht S., Luckner-Minden C., Schiller M., Franz T., Conradi R., Kropf P., Müller I., Ho A. D., Samstag Y., Munder M. Arginine deficiency leads to impaired cofilin dephosphorylation in activated human T lymphocytes // *Int. Immunol.* 2012. Vol. 24, N5. P. 303–313.
2. Казимирский А. Н., Порядин Г. В., Салмаси Ж. М., Семенова Л. Ю. Эндогенные регуляторы иммунной системы (sCD100, малоновый диальдегид, аргиназа) // *Бюл. экспер. биол.* 2017. Т. 164, № 11, С. 652–660. [Kazimirskii A. N., Poryadin G. V., Salmasi Zh. M., Semenova L. Yu. Endogenous Regulators of the Immune System (sCD100, Malonic Dialdehyde, and Arginase). *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2018, Vol 164, N5, P. 693–700].
3. Порядин Г. В., Салмаси Ж. М., Казимирский А. Н., Семенова Л. Ю. Иммунопатогенез формирования atopических заболеваний. *Бюллетень сибирской медицины.* 2017; 16 (4): 233–241. [Poryadin G. V., Salmasi J. M., Kazimirsky A. N., Semenova L. Yu. Immunopathogenesis of atopical diseases formation. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16 (4): 233–241.] DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-233-241.

4. Ганковская Л. В., Намазова-Баранова Л. С., Порядин Г. В., Греченко В. В., Ганковский В. А., Алексеева А. А., Салмаси Ж. М., Казимирский А. Н., Брагвадзе Б. Г., Свитич О. А. Изменение показателей врожденного иммунитета при тяжелой бронхиальной астме у детей. Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 1. С. 99–106. [*Gankovskaya L. V., Namazova-Baranova L. S., Poriadin G. V., Grechenko V. V., Gankovsky V. A., Alekseeva A. A., Salmasi Zh. M., Kazimirsky A. N., Bragvadze B. G., Svitich O. A.* Changes of innate immunity indexes in severe asthma in children, *Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya*, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 99–106.] doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-99-106.

*mazova-Baranova L.S., Poriadin G.V., Grechenko V.V., Gankovsky V.A., Alekseeva A.A., Salmasi Zh.M., Kazimirsky A.N., Bragvadze B.G., Svitich O.A.* Changes of innate immunity indexes in severe asthma in children, *Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya*, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 99–106.] doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-99-106.

## LEADING MECHANISMS OF IMMUNOPATHOGENESIS IN VARIOUS TYPES OF INFLAMMATION (INFECTIOUS, AUTOIMMUNE, ATOPIC)

© 2019 J. M. Salmasi\*, G. V. Poryadin, A. N. Kazimirsky

\*E-mail: profjms@yandex.ru

Federal State Budget Institution of Higher Education "Pirogov Russian National Research Medical University» Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 28.03.2019

The purpose of this study was to identify the leading mechanisms of immunopathogenesis of inflammation diseases of different genesis. Using the indirect immune fluorescence method, the number of lymphocytes carrying surface receptors CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD20, CD72, mIgM, mIgG, CD23, CD25, CD71, HLA-DR, CD54, CD95, CD30, CD38, CD178. Lymphocytes of patients with aseptic inflammation showed an increase in the number of CD25, CD71, and HLA-DR lymphocytes – markers of activation. But the complete absence of lymphocyte activation was found in severe cases of infectious inflammatory process in patients with osteomyelitis. In autoimmune inflammation, the lymphocytes activation process has a high intensity and is accompanied by a weakening of the expression of the activation receptor apoptosis CD95. Atopic diseases (atopic dermatitis and atopic bronchial asthma) are characterized by an intense lymphocytes activation process, which is accompanied with a significant decrease in the number of CD95<sup>+</sup> lymphocytes, but different by another lymphocytes subpopulations.

*Key words:* immunopathogenesis, inflammation, infectious diseases, autoimmune diseases, atopic diseases, CD antigens

### Authors:

**Salmasi J. M.**, ✉ PhD, MD (Medicine), Head of the Department of Pathophysiology and Clinical Pathophysiology, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia. E-mail: profjms@yandex.ru;

**Poryadin G. V.**, PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Professor, Department of Pathophysiology and Clinical Pathophysiology, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

**Kazimirsky A. N.**, PhD, MD (Biology), Leading Researcher of the Department of Molecular Technologies, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-5 ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ БРАХИОЦЕФАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ

© 2019 г. Ю. В. Саранчина<sup>1\*</sup>, О. Ю. Килина<sup>1</sup>, С. В. Дутова<sup>1</sup>,  
Н. Г. Польща<sup>1</sup>, Т. С. Кулакова<sup>1</sup>, Н. В. Ханарин<sup>1</sup>,  
П. И. Шандаков<sup>2</sup>

\*E-mail: july.saran4ina.2010@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ РХ «Республиканская клиническая больница им. Г. Я. Ремишевской», Абакан, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 02.04.2019

В статье представлены результаты определения интерлейкина-5 (ИЛ-5) у пациентов с атеросклерозом (АС) брахиоцефальных артерий. Выявлено, что содержание ИЛ-5 в сыворотке больных АС статистически значимо ниже, чем в группе контроля. Спонтанная и ФГА-индуцированная продукция ИЛ-5, определяемая в культуре лейкоцитов крови, в группе с АС была статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля. Снижение резервных возможностей к продукции ИЛ-5 лейкоцитами крови отмечено в обеих группах. Сравнительный анализ содержания ИЛ-5 в сыворотке крови больных АС и в гомогенате атеросклеротической бляшки не выявил статистически значимых различий.

**Ключевые слова:** атеросклероз, атеросклеротическая бляшка, интерлейкин-5, спонтанная продукция, ФГА-индуцированная продукция, брахиоцефальные артерии

DOI: 10.31857/S102872210006951-1

Адрес: 655017 Абакан, проспект Ленина 90, ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Медико-психолого-социальный институт, Килина Оксана Юрьевна. Тел./факс: +7 (3902) 237997, 8 960 775 23 65 (моб.).

E-mail: july.saran4ina.2010@yandex.ru

Авторы:

**Саранчина Ю. В.**, к.б.н., доцент кафедры фундаментальной медицины и гигиены, ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Килина О. Ю.**, д.м.н., директор Медико-психолого-социального института, профессор кафедры внутренних болезней ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Дутова С. В.**, д.фарм.н., доцент, и.о. заведующего кафедрой фундаментальной медицины и гигиены Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Польща Н. Г.**, к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Кулакова Т. С.**, аспирант кафедры общепрофессиональных дисциплин Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Ханарин Н. В.**, к.м.н., доцент кафедры общепрофессиональных дисциплин Медико-психолого-социального института ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова», Абакан, Россия;

**Шандаков П. И.**, к.м.н., заведующий отделением сосудистой хирургии ГБУЗ РХ «Республиканская клиническая больница им. Г. Я. Ремишевской», Абакан, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Роль интерлейкина-5 (ИЛ-5) в атерогенезе изучена слабо. В литературных данных указывается на ассоциацию ИЛ-5 с атеросклерозом (АС). В частности, рассматривается его значение как атеропротективного фактора: у лиц с наличием аутоантител к ИЛ-5 наблюдается развитие АС [1, 2]. Однако стимуляция продукции естественных антител, запускаемая ИЛ-5, приводит к модификации макрофагов и снижению их чувствительности к липопротеинам низкой плотности [3], что ингибирует развитие АС. Отмечено участие ИЛ-5 в стабилизации атеросклеротической бляшки (АСБ) [4]. Имеющиеся данные носят фрагментарный характер, в связи с чем, целью данного исследования явилась оценка продукции лейкоцитами ИЛ-5 в системном кровотоке и в АСБ при АС брахиоцефальных артерий.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для определения уровня ИЛ-5 послужили образцы АСБ, полученные в ходе эндартерэктомии у 17 пациентов с АС брахиоцефальных артерий (7 женщин и 10 мужчин, средний возраст — 64,4±1,2 года), а также образцы крови этих же пациентов. В контрольную группу вошли 12 пациентов (6 женщин и 6 мужчин, средний возраст — 44,7±1,5 лет). Образцы АСБ подвергались гомогенизации с последующим ферментативным гидролизом в течение 1 часа при температуре 37 °С коллагеназой IV Gibco (Thermo Scientific) в присутствии ингибиторов протеиназ III Gibco (Thermo Scientific). Общее содержание ИЛ-5 определяли в сыворотке крови и гомогенате АСБ. С целью оценки цитокин-продуцирующей способности лейкоцитов крови и лейкоцитов, выделенных из АСБ, определяли спонтанную и ФГА-индуцированную продукцию ИЛ-5 при их культивировании в среде RPMI-1640 (ПанЭко). Концентрацию ИЛ-5 во всех биологических материалах определяли методом ИФА с помощью наборов фирмы eBioscience (Австрия). Результаты статистически обработаны и представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей. Для сравнения групп использовали непараметрические критерии Манна-Уитни и Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия с 95% достоверностью.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С целью изучения роли ИЛ-5 в патогенезе АС выполняли сравнительный анализ содержания интерлейкина в сыворотке и уровня его продукции лейкоцитами крови у больных с АС и в контрольной группе. Для оценки участия ИЛ-5 в локальных иммунных реакциях в АСБ, выполняли сравнение содержания ИЛ-5 в сыворотке и в АСБ, его продукции лейкоцитами крови и лейкоцитами, выделенными из АСБ.

Содержание ИЛ-5 в сыворотке крови пациентов с АС было статистически значимо ниже, чем в группе контроля и составило 7,06 (3,18–8,10) пг/мл и 9,74 (8,55–13,02) пг/мл ( $p=0,004$ ) соответственно. Было выявлено, что спонтанная и ФГА-индуцированная продукция ИЛ-5, определяемая в культуре лейкоцитов крови пациентов с АС была статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля. В группе с АС спонтанная продукция ИЛ-5 была равна 7,35 (5,57–9,44) пг/мл, ФГА-индуцированная — 7,35

(4,08–10,33) пг/мл, в контрольной группе — спонтанная продукция — 10,63 (10,13–13,91) пг/мл, ФГА-индуцированная — 10,63 (9,74–11,53) пг/мл ( $p=0,038$  и  $p=0,017$  соответственно). При сравнении индекса стимуляции статистически значимых различий между сравниваемыми группами выявлено не было: в группе с АС значение индекса было равно 0,83 (0,61–1,14), в группе контроля — 0,82 (0,82–1,04). В обеих группах наблюдается снижение резервных возможностей продукции ИЛ-5 лейкоцитами крови. Между содержанием ИЛ-5 в сыворотке крови и гомогенате АСБ статистически значимых различий не выявлено: содержание ИЛ-5 равно 7,35 (3,92–9,36) пг/мл и 7,50 (0,27–11,82) пг/мл соответственно. Также не обнаружено статистически значимых различий между спонтанной продукцией и сывороточным уровнем ИЛ-5 (7,95 (5,12–12,72) пг/мл). ФГА-индуцированная продукция составила 9,14 (2,84–15,10) пг/мл. Индекс стимуляции был равен 1,05 (0,27–1,33). При сравнении ИС продукции цитокина лейкоцитами крови и лейкоцитами, выделенными из АСБ, также статистически значимых различий выявлено не было. Таким образом, нами установлены более низкое содержание ИЛ-5 в сыворотке крови и более низкая продукция данного цитокина при культивировании лейкоцитов крови у больных с АС. Наиболее вероятной причиной снижения уровня ИЛ-5 у больных с АС может рассматриваться блокирование экспрессии данного цитокина. Изучение механизмов, приводящих к низкой продукции ИЛ-5 будет продолжаться в дальнейших исследованиях.

Результаты получены в рамках выполнения гос. задания Минобрнауки России (задание № 17.9545.2017/БЧ).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Silveira A., McLeod O., Strawbridge R.J., Gertow K., Sennblad B., Baldassarre D., Veglia F., Deleskog A., Persson J., Leander K., Gigante B., Kauhanen J., Rauramaa R., Smit A.J., Mannarino E., Giral P., Gustafsson S., Söderberg S., Öhrvik J., Humphries S.E., Tremoli E., de Faire U., Hamsten A.* Plasma IL-5 concentration and subclinical carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2015, 239(1), 125–30.
2. *Ishigami T., Abe K., Aoki I., Minegishi S., Ryo A., Matsunaga S., Matsuoka K., Takeda H., Sawasaki T., Umemura S., Endo Y.* Anti-interleukin-5 and multiple autoantibodies are associated with human atherosclerotic diseases and serum interleukin-5 levels. *FASEB J*. 2013, 27(9), 3437–45.
3. *Zhao W., Lei T., Li H., Sun D., Mo X., Wang Z., Zhang K., Ou H.* Macrophage-specific overexpression of interleu-

- kin-5 attenuates atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *Gene Ther.* 2015, 22(8), 645–52.
4. *McLeod O., Silveira A., Valdes-Marquez E., Björkbacka H., Almgren P., Gertow K., Gådin J. R., Bäcklund A., Sennblad B., Baldassarre D., Veglia F., Humphries S. E., Tremoli E., de Faire U., Nilsson J.,*

*Melander O., Hopewell J.C., Clarke R., Björck H. M., Hamsten A., Öhrvik J., Strawbridge R.J.* Genetic loci on chromosome 5 are associated with circulating levels of interleukin-5 and eosinophil count in a European population with high risk for cardiovascular disease. *Cytokine.* 2016, 81, 1–9.

## FEATURES OF THE PRODUCTION OF INTERLEUKIN-5 IN ATHEROSCLEROSIS OF THE BRACHIOCEPHALIC ARTERIES

© 2019 Yu. V. Saranchina<sup>1\*</sup>, O. Yu. Kilina<sup>1</sup>, S. V. Dutova<sup>1</sup>,  
N. G. Pol'shcha<sup>1</sup>, T. S. Kulakova<sup>1</sup>, N. V. Chanarin<sup>1</sup>, P. I. Shandakov<sup>2</sup>

\*E-mail: [july.saran4ina.2010@yandex.ru](mailto:july.saran4ina.2010@yandex.ru)

<sup>1</sup>Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

<sup>2</sup>Republican clinical hospital named after G. YA. Remishevskaya, Abakan, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 02.04.2019

The article presents the results of interleukin-5 (IL-5) determination in patients with atherosclerosis (AS) of brachiocephalic arteries. It was found that the content of IL-5 in the serum of AS patients was significantly lower than in the control group. Spontaneous and PHA-induced IL-5 production determined in blood leukocyte culture was significantly lower in the group with AS compared to the control group. Reduction of reserve capacity for IL-5 production by blood leukocytes was noted in both groups. Comparative analysis of IL-5 content in blood serum of AS patients and in atherosclerotic plaque homogenate did not reveal statistically significant differences.

**Key words:** atherosclerosis, atherosclerotic plaque, interleukin-5, spontaneous production, PHA-induced production, brachiocephalic arteries

### Authors:

**Saranchina Yu. V.**, ✉ PhD, associate Professor of the Department of fundamental medicine and hygiene, Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia. **E-mail:** [july.saran4ina.2010@yandex.ru](mailto:july.saran4ina.2010@yandex.ru);

**Kilina O. Yu.**, doctor of medical Sciences, Director of Medical-psychological-social Institute, Professor of the Department of internal diseases of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Dutova S. V.**, doctor of science, associate Professor, acting head of the Department of fundamental medicine and hygiene of Medical, psychological and social Institute of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Pol'shcha N. G.**, PhD, associate Professor in the Department of internal diseases of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Kulakova T. S.**, post-graduate student of the Department of General professional disciplines of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Chanarin N. V.**, PhD, associate Professor of the Department of General professional disciplines of Khakass state University named after N. F. Katanov, Abakan, Russia;

**Shandakov P. I.**, PhD, head of the Department of vascular surgery of Republican clinical hospital named after G. Y. Remishevskaya, Abakan, Russia.

## АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ В ТЕРАПИИ СЛИЗИСТОЙ ПОЛОСТИ РТА

© 2019 г. Н. Г. Саркисян<sup>1\*</sup>, Н. Н. Катаева<sup>1</sup>, И. А. Тузанкина<sup>2</sup>,  
С. Г. Меликян<sup>1</sup>

\*E-mail: [narine\\_25@mail.ru](mailto:narine_25@mail.ru)

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет  
Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

<sup>2</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 29.03.2019

Антимикробные пептиды являются наиболее перспективными препаратами в замене антибиотикотерапии. Результаты анализа физико-химических свойств Ацеграм спрея, в частности поверхностного натяжения ( $\sigma$ , Эрг/см<sup>2</sup>) и удельной электропроводности ( $\kappa$ , мкСм/см) показывают взаимосвязь с механизмом антибактериального действия препарата и эффективностью его применения при лечении пародонтита. Применение спрея выявило улучшение гигиенического состояния полости рта в 1,4 раза, снижение индекса РМА на 1,8 раза, уменьшение индекса кровоточивости десневого края в 2 раза через месяц после лечения по сравнению с теми же показателями группы сравнения, проходивших стандартное лечение.

**Ключевые слова:** заболевание слизистой полости рта, пародонтит, синтетический пептид, физико-химические свойства, антибактериальное действие

DOI: 10.31857/S102872210006952-2

Адрес: 620028, г. Екатеринбург, Репина 3, Саркисян Нарине Гришаевна. Тел.: (343) 214 86 52

E-mail: [narine\\_25@mail.ru](mailto:narine_25@mail.ru)

Авторы:

**Саркисян Н. Г.**, д.м.н., ассистент кафедры терапевтической стоматологии и пропедевтики стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО Уральского государственного медицинского университета Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

**Катаева Н. Н.**, к.х.н., доцент кафедры общей химии ФГБОУ ВО Уральского государственного медицинского университета Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

**Тузанкина И. А.**, з.д.н., д.м.н., профессор, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

**Меликян С. Г.**, студент стоматологического факультета ФГБОУ ВО Уральского государственного медицинского университета Минздрава России, Екатеринбург, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Микроорганизмы полости рта, устойчивые к антибиотикотерапии, являются серьезной проблемой современного здравоохранения [1]. Данный факт мотивирует нас на поиск новых препаратов и терапевтических подходов для преодоления устойчивости патогенов. Разработка и применение антибактериальных средств на основе эндогенных антимикробных пептидов (АМП) является одним из путей замены анти-

биотиков. Исследования, посвященные изучению продукции пептидов, показывают, что их недостаточная выработка может быть важнейшим фактором, определяющим хроническое персистирование инфекции на слизистых оболочках [2]. Однако причина такой недостаточности до сих пор остается малоизученной. На фармацевтическом рынке появился один из новых препаратов Ацеграм спрей с основным действующим веществом в составе — синтетическим пептидом (ZP2) активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), с химической формулой thr-nle-nle-ala-ser-his-tyr-lys-gln-his-cys-pro. Данный пептид понижает репродуктивную функцию бактерий и подавляет процесс биопленкообразования, что является важной составляющей в патогенезе воспалительных заболеваний полости рта. Синтезированный пептид, помимо основного эффекта, стимуляция костномозгового кровотока, обладает иммуномодулирующей, антибактериальной и репарационной активностью. Высокая антибактериальная активность препарата связана непосредственно с уникальным химическим строением основного действующе-

го вещества – синтетического пептида. В связи с этим представляет интерес детальное изучение ряда физико-химических показателей, которые позволяют описать механизм действия препарата, в том числе в процессе его применения на слизистой полости рта [3].

**Цель исследования** – определить некоторые физико-химические показатели водного раствора Ацеграм-спрей, выявить взаимосвязь физико-химических свойств с механизмом антибактериального действия препарата в клинической практике при лечении пародонтита.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования выбран Ацеграм-спрей (производство ООО «Академический инновационный научный центр», г. Челябинск), это лечебное косметическое средство, которое способствует восстановлению слизистой оболочки полости рта после проведения стоматологических оперативных вмешательств, а также используется при антибактериальной терапии заболеваний пародонта, для лечения стоматитов и гингивитов. Средство объемом 100 мл содержит 200 мг синтетического пептида, изотонический раствор NaCl 0,9% 100 мл, стабилизатор benzyl-dimethyl-alkyl-ammonium-chloride 0,1% раствор на 100 мл препарата. Для проведения исследований был приготовлен водный раствор с объемной долей по препарату ( $\phi$ ) 10%. Для водных растворов «Ацеграм-спрея» определялись следующие физико-химические показатели: поверхностное натяжение ( $\sigma$ , Эрг/см<sup>2</sup>), удельная электропроводность ( $\kappa$ , мкСм/см). Величину поверхностного натяжения находили методом стагмометрии. Определение удельной электропроводности производили на кондуктометре «АНИОН 7020». Изучение физико-химических свойств препарата проводилось на базе кафедры общей химии Уральского государственного медицинского университета, г. Екатеринбург. В клинической части исследования приняло участие 10 человек в возрасте 26–39 лет, которые относятся ко II группе здоровья (ВОЗ) с диагнозом К 05.31 Хронический генерализованный пародонтит (МКБ 10). Диагноз установлен на основании клинических и рентгенологических методов обследования, которые проводились в стоматологической клинике «Дента ОС» г. Екатеринбурга. В контрольной группе (5 пациентов) лечение включало профессиональную гигиену полости рта, а также введение в пародонтальные карманы антисептического раство-

ра хлоргексидина биглюконата 0,1%, повязки на десну с гелем «Метрогил дента». Кратность процедуры: 2 раз в сутки в течение 7 дней. В основной группе (5 пациентов) в комплексном лечении была проведена профессиональная гигиена полости рта, а также назначен Ацеграм-спрей, который вводился в пародонтальные карманы, предварительно обработанные водой для инъекций, по 0,3 мл 1 раз в день курсом на 7 дней. Оценку клинических признаков выраженности воспалительного процесса осуществляли до лечения и через один месяц после лечения. Данные были обработаны методами вариационной статистики.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе изучения физико-химических свойств, в частности поверхностного натяжения ( $\sigma$ , Эрг/см<sup>2</sup>) и удельной электропроводности ( $\kappa$ , мкСм/см), были получены следующие результаты. Поверхностные свойства раствора могут быть определены по величине поверхностного натяжения ( $\sigma$ , Эрг/см<sup>2</sup>). ПАВы понижают поверхностное натяжение воды ( $\sigma_{H_2O} = 72,75$  Эрг/см<sup>2</sup> при  $T_{комн.}$ ). Величина  $\sigma$  для препарата «Ацеграм-спрей», найденная стагмометрически, составляет 48,7 Эрг/см<sup>2</sup> при комнатной температуре, что свидетельствует о высокой поверхностной активности пептида – основного компонента спрея. Поверхностно-активные вещества (ПАВ) обладают способностью к мицеллообразованию. Таким образом, катионные ПАВ упаковывают клетки бактерий в мицеллы, как бы запечатывая их, что препятствует адгезии бактерий друг с другом и биологическим поверхностями при биопленкообразовании. О наличии в растворе препараты свободных ионов свидетельствует величина удельной электропроводности –  $\kappa$  (10%-го раствора спрея) = 1481 мкСм/см. Основной вклад в значение величины электропроводности вносит физиологический раствор, который является вспомогательным веществом препарата:  $\kappa$  (0,9%-го раствора NaCl) = 1290 мкСм/см,  $\kappa$  (воды) = 3,2 мкСм/см. Катионные ПАВ легко адсорбируются на клеточных стенках бактерий, содержащих отрицательно заряженные фосфатные и карбоксильные группы, замещая при этом ионы Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> и нарушая баланс электролитов в околоклеточном пространстве, что подтверждает антимикробную активность. Применение спрея выявило улучшение гигиенического состояния полости рта в 1,4 раза, снижение индекса РМА на 1,8 раза, уменьшение

индекса кровоточивости десневого края в 2 раза через месяц после лечения по сравнению с теми же показателями группы сравнения, проходивших стандартное лечение.

Анализ физико-химических показателей средства позволяет определить их роль в механизме антибактериального действия, ранее не описанную.

Данные выводы подтверждают целесообразность и эффективность применения спрея в стоматологии в качестве альтернативы противомикробным средствам, таким, как антибиотики.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ронь Г. И. Инновационные технологии в диагностике и лечении воспалительных заболеваний пародонта. Екатеринбург, УГМА, 2011, 276 с. [Ron G. I. Innovative technologies in the diagnosis and treatment of inflammatory periodontal diseases. Ekaterinburg, UGMA, 2011, 276 p.]
2. Мусин Х. Г. Антимикробные пептиды – потенциальная замена традиционным антибиотикам // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 3. С. 295–308. [Musin H. G. Antimicrobial peptides – a potential replacement for traditional antibiotics // Infection and immunity. 18. No. 8, No. 3. С. 295–308].
3. Слесарев В. И. Химия: Основы химии живого. Учебник для вузов, Химиздат, 2017, 784 с. [Slesarev V. I. Chemistry: The basics of living chemistry. Textbook for universities, Himizdat, 2017, 784 p.]
4. Hancock R. E. W., Sahl H. -G. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. Nat. Biotechnol., 2006, vol. 24, pp. 1551–1557. doi: 10.1038 / nbt1267

### ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN THE TREATMENT OF MUSCULAR ORAL CAVITY

© 2019 N. G. Sarkisyan<sup>1\*</sup>, N. N. Kataev<sup>1</sup>, I. A. Tuzankina<sup>2</sup>, S. G. Melikyan<sup>1</sup>

\*E-mail: [narine\\_25@mail.ru](mailto:narine_25@mail.ru)

<sup>1</sup>Ural state medical university of the ministry of health of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia;

<sup>2</sup>Institute of Immunology and Physiology Ural detachment of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 29.03.2019

Antimicrobial peptides are the most promising drugs in the replacement of antibiotic therapy. The results of the analysis of the physicochemical properties of Atsegram spray, in particular, surface tension ( $\sigma$ , Erg / cm<sup>2</sup>) and conductivity ( $\kappa$ ,  $\mu$ S / cm) show the relationship with the mechanism of the antibacterial action of the drug and its effectiveness in the treatment of periodontitis. Spray application revealed an improvement in the hygienic condition of the oral cavity by a factor of 1.4, a decrease in the PMA index by 1.8 times, a decrease in the bleeding index of the gingival margin by a factor of 2 a month after treatment compared with the same indicators of the comparison group undergoing standard treatment.

*Key words:* disease of the oral mucosa, periodontitis, synthetic peptide, physicochemical properties, antibacterial action

#### Authors:

**Sarkisyan N. G.**, ☒ candidate of medical sciences, assistant, department of therapeutic dentistry and propedeutics of dental diseases, Ural state medical university of the ministry of health of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia. **E-mail:** [narine\\_25@mail.ru](mailto:narine_25@mail.ru);

**Kataeva N. N.**, candidate of chemical sciences, assistant professor department of general chemistry, Ural state medical university of the ministry of health of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia;

**Tuzankina I. A.**, doctor of medicine, professor, Institute of Immunology and Physiology Ural detachment of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

**Melikyan S. G.**, student, Ural state medical university of the ministry of health of the Russian Federation, Ekaterinburg, Russia.

## ТРИТЕРПЕНОИД МИЛИАЦИН КАК ПРОТЕКТОР ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ЦИКЛОФОСФАНОМ В КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ

© 2019 г. Ю. А. Сарычева, А. А. Токарева, Т. В. Панфилова,  
А. Д. Железнова, Б. А. Фролов\*

\*E-mail: K\_pathphys@orgma.ru

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Оренбург, Россия

Поступила: 05.03.2019. Принята: 19.03.2019

Изучен антимуtagenный эффект милиацина по показателям хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей в условиях применения циклофосфана. Тритерпеноид значительно снижал относительное содержание aberrантных клеток и число aberrаций, что позволяет оценивать его как перспективное антимуtagenное средство.

**Ключевые слова:** миелокарициты, циклофосфан, хромосомные aberrации, милиацин, протекция

DOI: 10.31857/S102872210006953-3

Адрес: 460000, Оренбург, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, кафедра патологической физиологии. Фролов Борис Александрович. Тел.: 8 (3532) 500606 (доб. 325).

E-mail: K\_pathphys@orgma.ru

Авторы:

**Сарычева Ю. А.**, к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Токарева А. А.**, ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Панфилова Т. В.**, к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Железнова А. Д.**, к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Фролов Б. А.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Предупреждение (ограничение) медикаментозных поражений органов при проведении противоопухолевой терапии является актуальной задачей, имеющей отчетливое прикладное значение [1]. Ранее было показано, что милиа-

цин оказывает защитное влияние при метотрексат-индуцированных поражениях печени у животных, не нарушая фармакокинетики химиопрепарата и его противоопухолевой эффективности [2].

**Целью работы** являлось изучение антимуtagenной активности тритерпеноида.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Милиацин (3-β-метокси-Δ<sup>18</sup>-олеанен) получен из просяного масла и очищен прекристаллизацией из хлороформа. Исследования выполнены на 81 особи беспородных белых мышей, разделенных на девять групп. Хромосомные aberrации в клетках костного мозга (КМ) индуцировали однократным внутрибрюшинным (группа IV) или внутривенным (группа V) введением циклофосфана (ЦФ) – 20 мг/кг (положительные группы сравнения). Животным опытных групп милиацин вводился трехкратно внутрибрюшинно в разовой дозе 4 мг/кг в объеме 0,5 мл с суточными интервалами между введениями, завершившимися за 24 часа до внутрибрюшинного (группа VI) или внутривенного (группа VII) применения ЦФ. Соответствующими контролями служили группы мышей (VI и VIII), под-

вергавшиеся перед использованием ЦФ введению растворителя для милиацина: твина 21 ( $1,6 \times 10^{-7}$  моль/кг) по аналогичной схеме. Отрицательными (фоновыми) группами сравнения служили интактные мыши (группа I), животные с трехкратным введением только растворителя (группа II) или только милиацина (группа III). Количество мышей в контрольных и опытных группах составляло от 8 до 17, в фоновых группах от 5 до 8 особей.

Животных IV–IX групп выводили из эксперимента через 24 часа после введения ЦФ; мышей II и III группа – через 48 часов после введения растворителя или тритерпеноида. В эти же сроки забивали интактных мышей (I). За 1 час до забоя (дислокация шейных позвонков) мышам всех групп внутрибрюшинно вводился колхицин (0,04% раствор по 0,1 мл на каждые 10 г веса). Суспензию клеток КМ получали их вымыванием из бедренных костей 0,56% раствором КСI с подсчетом количества миелокариоцитов и изготовлением препаратов. Клетки КМ фиксировали четырехкратно охлажденной смесью метанола и ледяной уксусной кислоты (3:1), после чего наносили на охлажденные предметные стекла, подсушивали над пламенем горелки и окрашивали красителем Гимза. Анализ хромосомных нарушений выполняли методом световой микроскопии ( $10 \times 10$ ). В препаратах отбирали клетки округлой формы с хорошим разбросом хромосом, без наложений с модульным числом 40. Учитывались фрагменты хромосом. В препаратах от каждого животного подсчитывалось не менее 100 метафазных пластинок (МП). Определялись показатели относительного количества МП с абберациями (%), количество аббераций на одну абберантную пластинку и суммарное количество аббераций на 100 МП. Уровень статистической значимости различий определяли непрямой дисперсионным анализом по критерию Краскела-Уоллиса и выражали в виде Me (Q 0,25–Q 0,75). Статистически значимыми считали различия при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Интактные мыши (I) характеризовались незначительным относительным содержанием абберантных клеток (0,22%) и количеством аббераций на 100 МП (0,45). Введение растворителя (II) или милиацина (III) не приводило к существенным изменениям этих величин. ЦФ оказывал выраженный мутагенный эффект, проявлявшийся резким возрастанием исследуемых

показателей до значений, соответственно 35,3 (33,0–40,0%) абберантных клеток и 42,0 (40,0–56,0) аббераций на 100 МП при внутрибрюшинном введении (IV) и 47,0 (45,0–49,0%) и 127,0 (100,0–160,0) на 100 МП при внутривенном введении препарата (V). Предварительное использование растворителя не ослабляло мутагенной активности последующего внутрибрюшинного (VI) или внутривенного (VIII) введения ЦФ. Частота абберантных клеток составляла 31,0 (26,0–35,0%) при количестве аббераций на 100 МП 49,0 (43,0–56,0), а также 43,0 (41,0–44,0%) и 77,0 (82,0–93,0). Несмотря на снижение количества мутаций на 100 МП в VIII группе животных, оно не было статистически значимым. Предварительное введение милиацина оказывало антимуtagenное действие при последующих как внутрибрюшинном (группа VII), так и внутривенном (группа IX) введениях ЦФ. Относительное содержание абберантных клеток снижалось, соответственно до 3,0 (2,0–3,0%) и 14,0 (12,0–14,0%) при значениях числа аббераций на 100 МП – до 3,0 (2,0–4,0) и 17,0 (14,0–17,0).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Предполагается, что подобный протективный эффект милиацина может быть обусловлен его антиоксидантной активностью, а также прямым мембранопротективным действием [3]. Усиление макрофагальной элиминации поврежденных клеток в присутствии милиацина, обуславливающее снижение частоты их выявления, представляется менее вероятным в связи с полученными ранее данными об отсутствии его влияния на поглотительную активность перитонеальных макрофагов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. Курмуков И. А. Лекарственное поражение печени при лечении онкогематологических заболеваний. Клиническая онкогематология 2010, 3(1), 60–66. [Kurkumov I. A. Treatment of hematooncology patients and drug-induced liver injury. Clinical oncohematology 2010, 3(1), 60–66].
2. Фролов Б. А., Калинина О. В., Кириллова А. В., Штиль А. А. Преодоление гепатотоксичности метотрексата. Клиническая онкогематология 2013, 6(1), 1–10. [Frolov B. A., Kalinina O. V., Kirillova A. V., Shtil A. A. Overcoming methotrexate induced liver toxicity: a role of triterpenoids. Clinical oncohematology 2013, 6(1), 1–10].
3. Фролов Б. А., Кириллова А. В. Милиацин как мембранопротектор. Защитное действие милиацина при детергент-индуцированной иммуносупрессии. Росс. аллергол. журн. 2011, 4(1), 402–403.

[Frolov B. A., Kirillova A. V. Miliacine as a membrano-protector. The protective miliacine action under deter-

gent-induced immunosuppression. Russian Journal of Allergy 2011,4(1), 402–403].

**TRITERPENOID MILIACINE AS A PROTECTOR OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS INDUCED BY CYCLOPHOSPHAMIDE IN MICE BONE MARROW CELLS**

© 2019 Yu. A. Sarycheva, A. A. Tokareva, T. V. Panfilova, A. D. Zheleznova, B. A. Frolov\*

\*E-mail: K\_pathphys@orgma.ru

Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

Received: 05.03.2019. Accepted: 19.03.2019

A study of the antimutagenic effect of miliacin, assessed by indicators of chromosomal aberrations in mice bone marrow cells under the conditions of cyclophosphamide use, was carried out. Triterpenoid protected the mutagenic action of cyclophosphamide by the significant reduction of the relative content of aberrant cells and the number of aberrations, which makes it possible to evaluate it as a promising antimutagenic agent.

*Key words:* mielokaryocytes, cyclophosphamide, chromosomal aberrations, miliacin, protection

**Authors:**

**Sarycheva Yu. A.**, associate professor of the Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia;

**Tokareva A. A.**, assistant of the Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia;

**Panfilova T. V.**, associate professor of the Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia;

**Zheleznova A. D.**, associate professor of the Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia;

**Frolov B. A.**, MD, professor, Head of the Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia. E-mail: K\_pathphys@orgma.ru

## ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ТЕРАПИЮ ИНГАЛЯЦИОННЫМИ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДАМИ У ДЕТЕЙ, СТРАДАЮЩИХ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

© 2019 г. А. В. Серёжкина\*, А. Д. Богомазов, А. В. Полоников

\*E-mail: [aleksandra.ykv@gmail.com](mailto:aleksandra.ykv@gmail.com)

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 12.03.2019

Многочисленные исследования изучали связь между фармакогенетическими влияниями и ответом к ингаляционным глюкокортикостероидам (ИГКС) у пациента с астмой. Фактически, было выявлено несколько одиночных нуклеотидных полиморфизмов ряда генов-кандидатов, которые могут влиять на клиническую реакцию на ИГКС у детей с атопической бронхиальной астмой (БА). Полученные на сегодняшний день результаты, указывают на различные потенциальные генетические факторы, связанные с реакцией на ИГКС, которые могут быть использованы для прогнозирования индивидуальной терапевтической реакции детей с атопической бронхиальной астмой на ИГКС.

**Ключевые слова:** атопия, бронхиальная астма, ген, ингаляционные глюкокортикостероиды, дети

DOI: 10.31857/S102872210006954-4

**Адрес:** 305041 Курск, ул. Карла Маркса д.3, ФГБОУ ВО «Курский Государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Серёжкина Александра Владимировна.  
Тел.: 89191710046 (моб.)

**E-mail:** [aleksandra.ykv@gmail.com](mailto:aleksandra.ykv@gmail.com)

**Авторы:**

**Серёжкина А. В.**, ассистент кафедры педиатрии Курского государственного медицинского университета, Курск, Россия;

**Богомазов А. Д.**, к.м.н., доцент кафедры педиатрии Курского государственного медицинского университета, Курск, Россия;

**Полоников А. В.**, д.м.н., профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии Курского государственного медицинского университета, Курск, Россия.

Бронхиальная астма (БА) – хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, сопровождающееся обструкцией бронхов и их гиперреактивностью. Проведенные исследования показали, что 60–80% детей с атопической бронхиальной астмой по-разному отвечают на терапию ИГКС вследствие генетических факторов. Результаты фармакогенетических исследований показали взаимосвязь между генами-кандидатами и ответом на использование ИГКС. В настоящем обзоре обобщены краткие результаты данных исследований.

Транскрипционный фактор T-bet (также известный как белок T-box-21 или Tbx21), кодируемый геном TBX21, действует как регулятор развития вспомогательных T-клеток типа 1, индуцируя продукцию ИФН $\gamma$  и ингибируя Th2-цитокины. Lopert A. Rijavec M. исследовали корреляцию между однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) rs9910408 (с.-7947) гена TBX21 у детей с бронхиальной гиперреактивностью. Изменения в экспрессии гена TBX21 у детей с БА, в котором минорный аллель TBX21 SNP rs2240017, кодирует глутамин (33Q), связано со значительным улучшением пиковой скорости выдоха у группы детей, получающих ИГКС [1].

Фрагмент Fc гена рецептора II IgE (FCER2) кодирует низкий уровень рецептора IgE (CD23), уменьшает IgE-опосредованные иммунные реакции. В своих исследованиях Zieg G., Lack G., Harbeck R.J. показали, что новый вариант гена FCER2 (T2206C) ассоциирован с более высоким уровнем IgE и учащением более тяжелых обострений БА у детей, получавших лечение ИГКС [2]. Данное исследование было направлено на выявление предикторов плохой реакции на ИГКС при длительной терапии. Проведена оценка

17 фенотипических переменных и полиморфизмов генов FCER2 и CRHR1 у 311 детей с бронхиальной астмой, получавших будесонид, путем сравнения рецидивирующих обострений и оценки функции легких [3]. Результаты показали, что и значительное снижение ФВД, и тяжелые повторные обострения были вызваны мутацией гена FCER2. У детей, гомозиготных по мутантному аллелю FCER2 гена T2206C, риск рецидивирующих обострений был в 3,3 раза выше, а риск нарушения функции легких в 3,9 раза выше, чем у детей гомозиготных по аллелю дикого типа. Результаты исследования показали, что вариант T2206C ассоциирован с более высоким риском необходимости госпитализации при обострении астмы госпитализация, а также ассоциирован с повышенным риском неконтролируемого течения бронхиальной астмы и необходимостью использования более высокая суточная доза ИГКС [2].

Рилизинг-гормон рецептора 1, кодируемый геном CRHR1, является одним из ключевых рецепторов гипофиза и играет посредническую роль в высвобождении АКТГ. В исследовании Tantisira K. G., Lake S., Silverman E. S. [4] показано, что полиморфизм rs242941 гена CRHR1 был связан с положительным ответом на лечение глюкокортикостероидами.

Исследование Hoshino M., Takahashi M. and Aoike N. [5] 70 детей с астмой показали, что существует значительная корреляция между rs1741981 полиморфизм в гене HDAC1 и тяжести астмы, в то время как полиморфизм rs58677352 в гене HDAC2 не показали корреляции с тяжестью астмы. У 47 детей с rs1741981 генотип CC был ниже уровень ОФВ1 в ответ на кортикостероидную терапию, в сравнении с детьми с СТ и ТТ генотипов.

Члены семейства сосудистых эндотелиальных факторов роста (VEGFs) регулируют ангиогенез и сосудистую проницаемость. Исследование Hoshino M., Takahashi M. and Aoike N. [4], в ходе которого изучались эффекты гена VEGF-A у 131 ребенка с бронхиальной астмой, получавших различную терапию (флутиказона пропионат, ИГКС или антагонист рецепторов лейкотриена – монтелукаст) в течение 12 месяцев, показало, что полиморфизм rs2146323 A>C был

ассоциирован с ответом ИГКС. В частности, у пациентов с генотипом AA наблюдались более лучшие показатели ОФВ1 (форсированной жизненной емкости легких) по сравнению с пациентами с генотипами AC и CC. Однако, среди детей, получавших монтелукаст, генотип AA был связан с неконтролируемой астмой и отмечались низкие показатели ОФВ1 по сравнению с другими генотипами. В другом полиморфизме rs833058 с>т, связанном с ответом на терапию монтелукастом, пациенты с ТТ генотипом имели лучшие показатели ОФВ1, в сравнении с пациентами с СТ или CC генотипами, у которых данных улучшений отмечено не было [3].

В заключение следует отметить, что, несмотря на использование ИГКС и других методов лечения, проблема эффективного лечения атопической бронхиальной астмы является актуальной во всем мире. Понимание патогенеза астмы и влияния генетических полиморфизмов на лечение ИГКС может привести к персонализированной терапии и улучшению качества ведения детей с бронхиальной астмой в будущем.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Lopert A., Rijavec M., Zavbi M., Korošec P., Fležar M. Asthma treatment outcome in adults is associated with rs9910408 in TBX21 gene. *Sci Rep* 2013; 3: 2915.
2. Zieg G., Lack G., Harbeck R.J., Gelfand E.W., Leung D.Y. *In vivo* effects of glucocorticoids on IgE production. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94(2 Pt 1): 222–230.
3. Balantic M., Rijavec M., Skerbinjek Kavalar M., Suskovic S., Silar M., Kosnik M., Korosec P. Asthma treatment outcome in children is associated with vascular endothelial growth factor a (VEGFA) polymorphisms. *Mol Diagn Ther* 2012; 16:173–180.
4. Tantisira K. G., Lasky-Su J., Harada M., Murphy A., Litonjua A. A., Himes B.E., Lange C., Lazarus R., Sylvia J., Klanderman B., Duan Q. L., Qiu W., Hirota T., Martinez F. D., Mauger D., Sorkness C., Szeftler S., Lazarus S. C., Lemanske R. F. Jr., Peters S. P., Lima J. J., Nakamura Y., Tamari M., Weiss S. T. Genome wide association between GLCCI1 and response to glucocorticoid therapy in asthma. *N Engl J Med* 2011; 365: 1173–1183.
5. Hoshino M., Takahashi M. and Aoike N. Expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin immunoreactivity in asthmatic airways and its relationship to angiogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 295–301.

## EFFECTS OF GENETIC FACTORS TO INHALED CORTICOSTEROID RESPONSE IN CHILDREN WITH ASTHMA: A LITERATURE REVIEW

© 2019 A. V. Serezhkina\*, A. D. Bogomazov, A. V. Polonikov

\*E-mail: [aleksandra.ykv@gmail.com](mailto:aleksandra.ykv@gmail.com)

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 12.03.2019

Numerous studies have studied the Association between pharmacogenetic effects and response to inhaled glucocorticosteroids (ICS) in patients with asthma. In fact, several single nucleotide polymorphisms of a number of candidate genes have been identified that may affect the clinical response to ICS in children with atopic asthma (BA). The results obtained to date indicate various potential genetic factors associated with the reaction to IGCs, which can be used to predict the individual therapeutic response of children with atopic asthma to ICS.

*Key words:* atopy, asthma, gene, inhaled glucocorticosteroids, children

### Authors:

**Serezhkina A. V.**, ✉ assistant of the Department of Pediatrics of Kursk state medical University, Kursk, Russia.

E-mail: [aleksandra.ykv@gmail.com](mailto:aleksandra.ykv@gmail.com)

**Bogomazov A. D.**, PhD, associate Professor of the Department of Pediatrics of Kursk state medical University, Kursk, Russia.

**Polonikov A. V.**, MD, Professor Department of biology, medical genetics and ecology, Kursk state medical University, Kursk, Russia.

## ЭФФЕКТЫ ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА С СОПУТСТВУЮЩИМ СИНДРОМОМ ВТОРИЧНОЙ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

© 2019 г. Л. П. Сизякина\*, Е. М. Пенечко, И. И. Андреева

\*E-mail: msiziakina@mail.ru

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Поступила: 14.02.2019. Принята: 01.03.2019

Снижение эффективности стандартной базисной терапии, наличие клинических и лабораторных признаков вторичной иммунной недостаточности у детей, больных атопическим дерматитом, выдвинули проблему разработки принципов назначения иммунокорректирующей терапии у таких пациентов. Показано, что у детей младшей и старшей возрастных групп, применявших наряду со стандартной терапией препараты ИФН $\alpha$ , результаты лечения демонстрировали лучшие показатели, чем в подгруппах, находящихся только на базисной терапии.

**Ключевые слова:** атопический дерматит; синдромом вторичной иммунной недостаточности, ИФН $\alpha$

DOI: 10.31857/S102872210006964-5

**Адрес:** 344022 Ростов-на-Дону, переулок Нахичеванский, 29, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра клинической иммунологии и аллергологии ФПК и ППС, Сизякина Людмила Петровна. Тел/факс +7 (863) 263-44-41.

**E-mail:** msiziakina@mail.ru

**Авторы:**

**Сизякина Л. П.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФПК и ППС, директор НИИ клинической иммунологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Пенечко Е. М.**, аспирант кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия;

**Андреева И. И.**, д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия.

Актуальность проблемы атопического дерматита (АД) определяется тем, что данное заболевание нередко является лишь началом развития «аллергического марша» [1]. Патогенез АД связан с иммунными реакциями, медиаторами которых являются цитокины, инициирующие и поддерживающие воспалительный процесс в коже. Даже в периоды внешнего благополучия в коже сохраняется Т-лимфоцитарная инфильтрация с усиленной продукцией цитокинов 2-го типа и сниженной секрецией ИФН $\gamma$ . Осо-

бое внимание обращает на себя сочетание АД с синдромом вторичной иммунной недостаточности (ВИН), характеризующейся обратимыми нарушениями функционирования иммунной системы, значительно осложняющими течение аллергических заболеваний, способствующими генерализации сопутствующих воспалительных очагов инфекции, торпидности к традиционным методам лечения [2, 3]. Снижение эффективности стандартной базисной терапии, а также наличие клинических и лабораторных признаков ВИН у больных с АД выдвинули проблему разработки принципов назначения иммунокорректирующей терапии у таких пациентов.

**Целью работы** явилась оценка эффективности заместительной интерферонотерапии в сочетании со стандартной терапией у детей различных возрастных групп, больных АД с сопутствующим синдромом ВИН.

Проводилось клинико-иммунологическое обследование и лечение 51 ребенка, страдающих АД с синдромом ВИН, обусловленным частыми ОРВИ затяжного характера и обострениями очагов хронической инфекции. Средняя частота респираторных заболеваний составила  $6,8 \pm 1,2$  в год, при этом длительность одного эпизода

ОРВИ составляла  $13,3 \pm 1,2$  дня. Все больные с АД и ВИН были поделены на 2 группы по возрасту: от 1 года до 6 лет (25 человек) и от 7 до 12 лет (26 человек). Каждая из групп в зависимости от проводимой терапии была разделена на 2 подгруппы посредством метода слепой выборки. I подгруппу составили 10 человек в младшей группе и 11 человек в старшей группе, получавшие только стандартную терапию, которая включала в себя элиминационную диету, H1-гистаминоблокаторы второго поколения в возрастной дозировке, средства, гидратирующие кожу, стероидные противовоспалительные препараты. II подгруппа пациентов – 15 человек в младшей группе и 15 человек в старшей группе – совместно со стандартной терапией получала виферон – суппозитории ректальные 2 раза в день с 12-часовым интервалом в течение 30 дней в возрастных дозировках. Оценка степени тяжести АД проводилась по системе SCORAD. Оценка параметров иммунного статуса до и после лечения осуществлялась с использованием проточной цитофлюориметрии, метода радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, НСТ-теста, уровень ИЛ-4, ИНФ $\gamma$ , IgE в сыворотке крови определяли методом ИФА. Статистическую обработку полученных данных проводили в программе «Statistica 7.0».

При сравнении эффектов терапии с вифероном по отношению к стандартной терапии у пациентов младшей возрастной группы отмечалось более быстрое наступление ремиссии ( $25,4 \pm 0,7$  суток и  $35,5 \pm 0,6$  суток), она была более длительной ( $5,1 \pm 0,4$  месяца и  $3,7 \pm 0,7$  месяца). При этом количество ОРВИ за год у пациентов, принимавших дополнительно к стандартной терапии виферон, также снизилось ( $4,1 \pm 0,2$  и  $6,1 \pm 0,3$  раза в год). В иммунном статусе пациентов, получавших помимо стандартной, терапию интерфероном, по сравнению с больными, находившимися на стандартной терапии, уменьшилось содержание CD16 $^+$ /56 $^+$ -лимфоцитов ( $11,2 \pm 3,1\%$  и  $18,1 \pm 3,2\%$ ), снизилась готовность Т-клеток к апоптозу (CD3 $^+$ CD95 $^+$   $4,6 \pm 1,3\%$  и  $7,5 \pm 1,5\%$ ), улучшилось соотношение Th1/Th2 ( $2,1 \pm 0,2\%$  по сравнению с  $4,3 \pm 0,1\%$ ) за счет снижения содержания Th2 ( $4,5 \pm 0,2\%$ ) при одномоментном повышении содержания Th1 ( $6,0 \pm 0,2\%$ ), усилилась микробицидная активность нейтрофилов (НСТ ст.  $230,3 \pm 8,1$  у.е. по сравнению с  $162,1 \pm 5,1$  у.е.), уровень ИЛ-4 снижался и в сыворотке крови ( $4,1 \pm 0,3$  пг/мл и  $8,6 \pm 0,9$  пг/мл), и при спонтанном культивировании лимфо-

цитов ( $2,2 \pm 0,5$  пг/мл и  $4,9 \pm 0,6$  пг/мл, соответственно). Аналогичная картина выявлена при сопоставлении течения АД у детей старшей возрастной группы. Отмечалось более быстрое наступление ремиссии у пациентов, получавших наряду со стандартной терапией виферон ( $25,6 \pm 60,6$  суток и  $30,5 \pm 0,5$  суток, соответственно). Существенно увеличилась и продолжительность клинической ремиссии ( $5,6 \pm 0,4$  месяца и  $1,5 \pm 0,7$  месяца, соответственно). Количество эпизодов ОРВИ у детей, получающих наряду со стандартной терапией виферон, составило  $3,5 \pm 0,3$  в год по сравнению с  $5,6 \pm 0,2$  у детей, получавших только стандартную терапию, снизилась и их продолжительность ( $6,8 \pm 1,1$  дней и  $13,5 \pm 1,2$  дней). В периферической циркуляции достоверно увеличилось содержание CD3 $^+$  ( $69,7 \pm 2,1\%$  и  $63,4 \pm 3,6\%$ ) и CD8 $^+$ -лимфоцитов ( $29,4 \pm 3,3\%$  и  $18,9 \pm 3,2\%$ ), снизилось число натуральных киллеров ( $13,4 \pm 2,1\%$  и  $19,3 \pm 2,1\%$ ), уменьшилась готовность к апоптозу (CD3 $^+$ CD95 $^+$   $3,8 \pm 1,1\%$  и  $7,2 \pm 1,1\%$ ), увеличилось содержание Th1 ( $7,4 \pm 0,3\%$  и  $2,4 \pm 0,4\%$ ) с одновременным уменьшением Th2 ( $2,0 \pm 0,2\%$ ) по сравнению с  $6,0 \pm 0,3\%$  у лиц, получавших только стандартную терапию. В нейтрофильном звене отмечалось усиление микробицидной активности нейтрофилов, увеличение их адаптационных резервов (К ст.  $1,55 \pm 0,3$  у.е и  $1,1 \pm 0,03$  у.е). В цитокиновом статусе выявлено снижение содержания в сыворотке ИЛ-4 у лиц, получавших, наряду со стандартной терапией, виферон ( $3,9 \pm 0,4$  пг/мл и  $5,6 \pm 0,3$  пг/мл) с одномоментным увеличением содержания ИНФ $\gamma$  ( $2,0 \pm 0,3$  пг/мл по сравнению с  $0,8 \pm 0,1$  пг/мл).

Таким образом, в подгруппах детей младшей и старшей возрастных групп, применявших препараты ИФН $\alpha$ , результаты демонстрировали лучшие показатели, чем в подгруппах, находящихся только на стандартной терапии: более быстрый регресс воспалительных элементов, ремиссия АД была более длительной, снижались количество и длительность эпизодов ОРВИ, а динамика иммунологических изменений и цитокинового статуса становилась более благоприятной.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. McClean M., Silverberg J. I. Statistical reporting in randomized controlled trials from the dermatology literature: a review of 44 dermatology journals. *British Journal of Dermatology*. 2015, 173; 1, 172–183.
2. Лусс Л.В., Михеева Г.Н., Тузлукова Е.Б. Синдром вторичной иммунной недостаточности у больных с аллергическими заболеваниями и методы ее кор-

- рекции // Лечащий врач. – 2013. – № 6. – С. 19–20. [Luss L. V., Mikheeva G. N., Tuzlukova E. B. Syndrome of secondary immune deficiency in patients with allergic diseases and methods for its correction // Lechashchy doctor. – 2013. – № 6. – p. 19–20].
3. Пенечко Е.М., Сизякина Л.П. Эффективность заместительной терапии препаратом интерферона-альфа в лечении atopического дерматита у детей с сопутствующим синдромом вторичной иммунной недостаточности // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 109–110. [Sizyakina L.P., Penechko E. M. Efficacy of interferon-alpha replacement therapy in the treatment of atopical dermatitis in children with concomitant secondary immune deficiency syndrome // Cytokines and inflammation. – 2010. – Vol.9, № 4. – pp. 109–110]

## EFFECTS OF INTERFERONOTHERAPY IN THE TREATMENT OF ATOPIC DERMATITIS WITH ACCOMPANYING SECONDARY IMMUNE INSUFFICIENCY SYNDROME

© 2019 L. P. Sizyakina\*, E. M. Penechko, I. I. Andreeva

\*E-mail: msizyakina@mail.ru

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Received: 14.02.2019. Accepted: 01.03.2019

The low effectiveness of standard basic therapy, the presence of clinical and laboratory signs of secondary immune deficiency in children with atopical dermatitis to determine the need of the appointment of immunocorrective therapy in these patients. It was shown that in children of the younger and older age groups, who used IFN- $\alpha$  drugs together with the standard therapy, the results of the treatment showed better results than in the subgroups that are only on basic therapy.

*Key words:* atopical dermatitis; syndrome of secondary immune deficiency, IFN- $\alpha$

### Authors:

**Sizyakina L. P.**, ✉ MD, PhD, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology, Director of the Institute of Clinical Immunology Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia. **E-mail:** msizyakina@mail.ru;

**Penechko E. M.**, Post-Graduate Student of the Department of Clinical Immunology and Allergology. Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia;

**Andreeva I. I.**, MD, PhD, Professor of the Department of Clinical Immunology and Allergology. Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ НА ПИЩЕВЫЕ АНТИГЕНЫ У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

© 2019 г. А. В. Скирневская<sup>1\*</sup>, Н. А. Черевко<sup>1</sup>, М. И. Худякова<sup>1</sup>,  
С. Э. Кондаков<sup>2</sup>

\*E-mail: skirnevskaya.a@gmail.com

<sup>1</sup>ФГБУ «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Томск, Россия;

<sup>2</sup>МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 28.03.2019

Согласно мировой статистике, в детской популяции продолжает нарастать частота развития расстройств аутистического спектра (РАС), 68–100 случаев на 1000 рожденных с преобладанием мальчиков над девочками (6–8:1) [5]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные этой проблеме, патогенез РАС по-прежнему остается спорным. Цель работы: изучение особенностей иммунного реагирования на пищевые антигены у детей с расстройствами аутистического спектра, проживающих в г. Томске. У детей с РАС установлено статистически значимое повышение частоты встречаемости гиперчувствительности к пищевым антигенам зерновых и молочных продуктов. Выявлена прямая корреляция диагностических значений IgG к АГ грибов рода *Candida* и концентрацией ИФН $\gamma$  в сыворотке крови. Полученные изменения сопровождались дисбалансом концентраций изучаемых цитокинов (ИЛ6, ИЛ4, ИЛ10, ИЛ17). Выявлена корреляционная связь между показателями степени когнитивных нарушений и гиперчувствительностью к ПАГ молочных продуктов.

**Ключевые слова:** расстройства аутистического спектра, цитокины, *Candida albicans*, гиперчувствительность к пищевым антигенам

DOI: 10.31857/S102872210006965-6

Адрес: 634050 Томск, ул. Московский тракт, д. 2, ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава РФ, Скирневская Александра Владимировна. Тел: 8977 145 67 16 (моб.).

E-mail: skirnevskaya.a@gmail.com

Авторы:

**Скирневская А. В.**, аспирант кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава РФ, Томск, Россия;

**Черевко Н. А.**, д.м.н., доцент кафедры аллергологии и иммунологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава РФ, Томск, Россия;

**Худякова М. И.**, ординатор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава РФ, Томск, Россия;

**Кондаков С. Э.**, д.х.н., д.б.н., профессор МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Расстройство аутистического спектра (РАС) является наиболее быстро растущей группой патологии нервно-психического развития, согласно последним данным на 59 здоровых детей диагностируется 1 случай РАС [1].

В ряде опубликованных статей в 2016 г были представлены исследования о роли пищевых антигенов (ПАГ) в нарушении пищевой толерантности и развитии патологических процессов, являющихся причинами воспалительных ответов в центральной нервной системе и иммунных дисфункций в кишечнике у пациентов с психическими расстройствами, шизофренией и РАС, описаны IgG4-опосредованная гиперчувствительность к ПАГ глютена [2].

Исследования, проводимые в разных странах и школах, подчеркивают, что в рассмотрении вопросов этиологии и патогенеза РАС актуально дальнейшее изучение роли ПАГ, цитокинов и инфекционных агентов в регуляции реакций хронического воспаления и их связи с когнитивными расстройствами, что позволит патогенетически обосновать таргетные критерии диагностики и персонализированной терапии.

**Цель работы:** изучить особенности иммунного реагирования на пищевые антигены у детей

с расстройством аутистического спектра, проживающими в г. Томске.

## МЕТОДЫ

Исследуемый материал – венозная кровь, взятая у детей с РАС (94 человека,  $7 \pm 2$  лет) и у практически здоровых детей, без когнитивных расстройств (20 человек,  $7 \pm 2$  лет). Специфическую IgG-зависимую гиперчувствительность (ГЧ) к 111 пАГ, объединенных по сходным антигенным структурам в 8 пищевых кластерах, проводили с использованием многокомпонентного ИФА по методике Immunohealth™ [3]. Концентрацию интерлейкинов в сыворотке крови (ИЛ4, ИЛ6, ИЛ10, ИЛ-17, ИФН $\gamma$ ) оценивали с помощью ИФА с применением наборов реагентов фирмы Вектор-Бест (г. Новосибирск), Elabscience Biotechnology (КНР). Оценку когнитивных нарушений, изменений физического и психического статуса проводили с использованием стандартной анкеты АТЕС (Bernard Rimland and Stephen M. Edelson of the Autism Research Institute, рекомендован с 2015 г.).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У детей с РАС была статистически значимо повышена частота выявления IgG-опосредованной ГЧ к пАГ молочных продуктов (критерий Манна-Уитни  $U=198$ ,  $p=0,012$ ). У 90% детей с РАС установлены повышенные значения к 8 и более пАГ группы молочного кластера, с наибольшей повторяемостью выявленной ГЧ к пАГ казеина (69,1% детей с РАС).

У 70% детей с РАС по сравнению с группой контроля были отмечены повышенные значения IgG к более чем 2м пАГ из кластера зерновых продуктов, с максимальной повторяемостью к пАГ пшеницы (76,6% детей), глютена (46,8%) и овса (42%) (критерий Фишера  $F= -0,338$ ,  $p<0,05$  и  $F= -0,441$ ,  $p<0,01$  соответственно).

В 100% случаев у детей с РАС имелись диагностические высокие титры IgG и IgA к антигенам грибов рода *Candida*. Получена положительная корреляция между концентрациями IgG к антигенам грибов рода *Candida* и концентрацией ИФН $\gamma$  ( $r=0,412$   $p=0,032$ ). Показано, что грибы рода *Candida* могут как инициировать, так и поддерживать воспалительные процессы в кишечнике. Благодаря схожим АГ детерминантам гриба и глютена могут вырабатываться перекрёстные антитела к основному белку миеллина, вызывая симптомы РАС [4].

При оценке выраженности когнитивных нарушений по баллам АТЕС в группе детей с РАС, мы получили корреляционную зависимость с показателями концентраций IgG к пАГ молочного кластера (коэффициент корреляции Спирмена  $r=0,419$   $p=0,02$ ).

Нами установлено, что у детей с РАС по сравнению с группой здоровых детей снижены концентрации ИЛ4 ( $U=117$   $p=0,007$ ), ИЛ6 ( $U=217$   $p=0,05$ ), выявлены тенденции в повышение значений ИЛ17 и ИФН $\gamma$ , а также повышены значения коэффициентов соотношений в оценке превалирования про- и противовоспалительных балансов цитокинов ИФН $\gamma$ /ИЛ4 ( $U=135$   $p=0,001$ ), ИФН $\gamma$ /ИЛ10 ( $U=200,5$   $p=0,025$ ). В небольшом количестве исследований в основном на животных, показано, что противовоспалительные цитокины могут оказывать негативное влияние на когнитивное поведение, а ИЛ4, наоборот, положительно влияет на когнитивные функции мозга [5].

Полученные результаты указывают на дисбаланс цитокинов и превалирование вероятного иммунного реагирования на пАГ по Тх1-пути с участием провоспалительного цитокина ИФН $\gamma$  у детей с вкладом участия в воспаление грибов *Candida* в сочетании с гиперчувствительностью к пАГ злаковых продуктов. Тогда как при выраженных значениях суммарной встречаемости реагирования на пАГ молочных (казеин) продуктов максимальных показателей когнитивных нарушений по тесту АТЕС связано с тенденцией участия провоспалительного цитокина – ИЛ17.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Christensen D. L., Baio J., Braun K. V. Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years. Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network. 2016. 65(No. SS-3). P. 1–23.
2. Lionetti E., Leonardi S., Franzonello C. Gluten Psychosis: Confirmation of a New Clinical Entity // Nutrients. – 2015. – P. 5532–5539.
3. Розенштейн А. З., Розенштейн М. Ю., Кондаков С. Э., Черевко Н. А. Диагностика пищевой гиперчувствительности, опосредованной иммунопатологическими реакциями III типа. Российский иммунологический журнал. 2015. С. 150–152. [Rozenshtein A. Z., Rozenshtein M. Yu., Kondakov S. E., Cherevko N. A. Diagnostics of food hypersensitivity mediated by immunopathological reactions of type III. Russian Immunological Journal. 2015. p. 150–152.]
4. Brown A. J., Brown G. D., Netea M. G., Gow N. A. Metabolism impacts upon *Candida* immunogenicity and pathogenicity at multiple levels. Trends Microbiol. 2014;22(11):614–22.

5. Vojdani A., Campbell A.W., Anyanwu E., Kashanian A., Bock K., Vojdani E. Antibodies to neuron-specific antigens in children with autism: possible cross-reaction

with encephalitogenic proteins from milk, Chlamydia pneumoniae and Streptococcus group A. J Neuroimmunol. 2002;129(1–2):168–177.

## FEATURES OF FOOD HYPERSENSITIVITY IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDER

© 2019 A. V. Skirnevskaya<sup>1\*</sup>, N. A. Cherevko<sup>1</sup>, M. I. Khudiakova<sup>1</sup>, S. E. Kondakov<sup>2</sup>

\*E-mail: skirnevskaya.a@gmail.com

<sup>1</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia;

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 28.03.2019

According to world statistics, the incidence of autism spectrum disorders (68–100 cases per 1000 births) continues to increase in the children's population, with boys predominating over girls (6–8: 1) [4]. Despite numerous studies on this problem, the pathogenesis of autism remains controversial. The purpose of this work is to study the clinical and immunological interactions of IgG mediated food hypersensitivity, cytokine balance and psychological parameters in children with autism spectrum disorders living in Tomsk. As a result, it was noted that children with autism are statistically significantly more often hypersensitive to cereals and dairy. Revealed changes in the concentration of a number of interleukins in the serum. A direct correlation was found between the concentration of IgG to antigens of the fungi of the genus *Candida*, food AG of dairy and grain and the concentration of IFN $\gamma$  in serum.

*Key words:* autism spectrum disorder, food hypersensitivity, *Candida albicans*, interleukins

### Authors:

**Skirnevskaya A. V.**, ✉ Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. E-mail: skirnevskaya.a@gmail.com;

**Cherevko N. A.**, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Allergology and Immunology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia;

**Khudiakova M. I.**, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia;

**Kondakov S. E.**, Doctor of Chemical Sciences, Doctor of Biological Sciences, Professor of the Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.

## ПОКАЗАТЕЛИ МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНОЙ «ИММУНОВАК ВП-4»

© 2019 г. О. В. Слатинова\*, Т. А. Серова, И. В. Бишева, Е. П. Фошина

\*E-mail: slatinkoff@mail.ru

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 13.03.2019

Проведена оценка иммуноглобулинового профиля и специфических антител к антигенам *S. aureus* и *K. pneumoniae* в слюне часто болеющих детей с хроническими очагами бактериальной инфекции ЛОР-органов. В результате вакцинотерапии препаратом «Иммуновак ВП-4» наблюдалось статистически значимое нарастание концентрации IgG, sIgA и специфических бактериальных антител А-изотипа, а также повышение до нормальных значений Ig A.

**Ключевые слова:** вакцина «Иммуновак ВП-4», часто болеющие дети, гуморальный мукозальный иммунитет, бактериальные антитела

DOI: 10.31857/S102872210006966-7

**Адрес:** 105064 Москва, Малый Казенный переулок, д. 5А. ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», лаборатория иммунологических методов исследования. Слатинова Ольга Владимировна. Тел.: 89166357187(моб.).

**E-mail:** slatinkoff@mail.ru

### Авторы:

**Слатинова О. В.**, к.б.н., с.н.с. лаборатории иммунологических методов исследования. ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

**Серова Т. А.**, к.б.н., в.н.с. лаборатории иммунологических методов исследования. ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

**Бишева И. В.**, н.с. лаборатории иммунологических методов исследования. ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

**Фошина Е. П.**, к.м.н., заведующая лабораторией иммунологических методов исследования. ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия.

В настоящее время для профилактики и лечения острых респираторных инфекций у детей используют терапевтические бактериальные вакцины на основе лизатов наиболее распространенных возбудителей инфекционных заболеваний [1]. Первая отечественная бактериальная терапевтическая поликомпонентная вакцина

«Иммуновак ВП-4» создана сотрудниками Института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова и включает в себя лизаты четырех условно-патогенных микроорганизмов: *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *E. coli*. Для детского контингента разработана назально-оральная схема применения вакцины, дающая высокий профилактический и терапевтический эффект при различных нозологических формах. Изучение параметров гуморального звена мукозального иммунитета дает возможность оценить процесс формирования поствакцинального ответа у детей при местном применении вакцины ВП-4.

**Целью работы** являлось изучение уровня общих иммуноглобулинов и специфических бактериальных антител G- и А-изотипов в слюне часто болеющих детей при местном применении вакцины «Иммуновак ВП-4».

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дважды (до и через 0,5–1,5 месяца после вакцинации) у детей 5–14 лет в слюне оценивали концентрацию IgG, IgA и sIgA методом РИД (45 чел.) и уровень антител G- и А-изотипов (21 чел.) к антигенам *S. aureus* и *Kl. pneumoniae* методом ИФА. Последние выражали величиной

обратного титра, при котором значение оптической плотности равнялось 0,3. Показатели общих иммуноглобулинов представлены в виде средних значений ( $m$ ) с 95%-ным доверительным интервалом, а бактериальных антител — в виде медианы ( $Me$ ) и интерквартильного размаха 25 до 75%. Статистическую достоверность различий величин в группе до и после лечения оценивали по критерию Вилкоксона для парных сравнений с уровнем значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Через две недели после окончания курса вакцинотерапии было установлено статистически значимое ( $p < 0,05$ ) нарастание в слюне уровня IgG с  $20,25 \times 10^{-3}$  г/л ( $14,96 \div 25,54$ ) до  $35,60 \times 10^{-3}$  г/л ( $21,73 \div 49,47$ ) и sIgA с  $84,60 \times 10^{-3}$  г/л ( $24,80 \div 144,40$ ) до  $329,67 \times 10^{-3}$  г/л ( $160,94 \div 498,40$ ). Изначальный уровень IgA в слюне составлял  $28,46 \times 10^{-3}$  г/л ( $16,26 \div 40,66$ ), что ниже возрастной нормы ( $54,47 \times 10^{-3}$  г/л ( $45,84 \div 63,1$ )) [2], после окончания курса вакцинотерапии была отмечена тенденция ( $p = 0,1$ ) к увеличению его концентрации до нормальных значений. Максимального значения уровень sIgA в слюне часто болеющих детей достигал примерно через 1 месяц после окончания курса лечения, причем концентрация иммуноглобулина этого класса возрастала примерно в 4 раза. В дальнейшем, через 1–1,5 месяца, происходило снижение количества sIgA в слюне, и его уровень становился вполне сопоставимым с исходными величинами. В эти же сроки происходило снижение уровня IgA в слюне, однако среднее значение находилось в пределах границ возрастной нормы.

Было установлено статистически значимое повышение уровня IgA-антител как к *S. aureus*, так и к *Kl. pneumoniae* в слюне. При этом следует отметить, что значения обратных титров антител к *S. aureus* были на порядок выше, чем к *Kl. pneumoniae*. Через 0,5–1,5 месяца повышался ( $p = 0,03$ ) уровень антител А-изотипа к обоим антигенам: к *S. aureus* с  $Me = 15,0$  ( $6,0 - 63,5$ ) до  $31,5$  ( $13,5 - 57,5$ ), и к *Kl. pneumoniae* с  $Me = 4,0$  ( $1,0 - 10,0$ ) до  $Me = 7,0$  ( $1,0 - 20,0$ ). Изменение уровня специфических IgG-антител к обоим бактериальным антигенам в результате вакцинации не носило достоверного характера.

Результаты проведенного исследования показали, что местное применение поликомпонентной вакцины индуцировало активный синтез иммуноглобулинов всех трех, рассматриваемых нами классов в слюне. Особенно выраженными были изменения уровня sIgA (4-кратное увеличение значений относительно исходных значений). Нарастание его концентрации происходило в первую очередь, что объясняется ролью этого компонента как первичного протективного фактора слизистой носоглотки. В дальнейшем наблюдали повышение уровня общего IgG в слюне, формирующегося на более поздних этапах иммунологического ответа. Назально-оральное введение вакцины детям также приводило к достоверному увеличению уровня специфических бактериальных антител к её компонентам в слюне. Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о возможности использования поликомпонентной терапевтической вакцины «Иммуновак ВП-4» в качестве иммуномодулирующего препарата, который воздействует не только на системный иммунитет детей [3], но и проявляет значительную активность на уровне мукозального иммунитета.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Малахов А. Б., Колосова Н. Г., Хабибуллина Е. В. Бактериальные лизаты в программах профилактики респираторных инфекций у детей. Практическая пульмонология. 2015, 4, 44–48. [Malakhov A. B., Kolosova N. G., Habibulina E. V. Bacterial lizate in programmes to prevent respiratory infections among children. Practical pulmonology. 2015, 4, 44–48].
2. Слатинова О. В. Динамика показателей системного и местного иммунитета у пациентов с бронхолегочными заболеваниями при применении поликомпонентной вакцины (ВП-4). Дисс... канд. биол. наук: 14.00.36. Защищена 21.09.2000. М., 2000, 127. [Slatinova O. V. Dynamics of systemic and local immunity in patients with broncho-pulmonary diseases by applying the polycomponent vaccine (VP-4). Dics. cand. biol. science: 14.00.36. Protected 21.09.2000. M., 2000, 127].
3. Серова Т. А., Краснопрошина Л. И., Бишева И. В., Сходова С. А., Фошина Е. П. Анализ показателей системного и мукозального иммунитета у детей при лечении терапевтической вакциной «Иммуновак ВП-4». РАЖ. 2016, 3–2, 32–33. [Serova T. A., Krasno-proshina L. I., Bisheva I. V., Skhodova S. A., Foshina E. P. Analysis of the parameters of the system and mucosal immunity in children for the treatment of a therapeutic vaccine "Immunovac VP-4". RAJ. 2016, 3–2, 32–33].

**INDICATORS OF MUKOSAL IMMUNITY IN OFTEN ILL CHILDREN  
OF THE TREATMENT BY THERAPEUTIC VACCINE «IMMUNOVAC VP-4»**

© 2019 O. V. Slatinova\*, T. A. Serova, I. V. Bisheva, E. P. Foshina

\*E-mail: [slatinkoff@mail.ru](mailto:slatinkoff@mail.ru)

Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Metchnikov Research Institute  
for Vaccines and Sera», Moscow, Russia.

Received: 28.02.2019. Accepted: 13.03.2019

Summary, immunoglobulin profile and specific antibodies to antigens of *S. aureus* and *Kl. pneumoniae* in saliva of often children with chronic hotbeds of bacterial infection ENT-organs was estimated. As a result, treatment of the drug «Immunovac VP-4» observed a statistically significant increase of concentration of IgG and sIgA and specific bacterial antibodies and-isotype as well as increase to normal values Ig A.

*Key words:* vaccine «ImmunovacVP-4», often ill children, humoral mukosal immunity, bacterial antibodies

**Authors:**

**Slatinova O. V.**, ☒ PhD, Senior Researcher, Laboratory of Immunological Research Methods. Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Metchnikov Research Institute for Vaccines and Sera», Moscow, Russia. **E-mail:** [slatinkoff@mail.ru](mailto:slatinkoff@mail.ru);

**Serova T. A.**, PhD, Leading Researcher. Laboratory of Immunological Research Methods. Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Metchnikov Research Institute for Vaccines and Sera», Moscow, Russia;

**Bisheva I. V.**, Researcher, Laboratory of Immunological Research Methods. Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Metchnikov Research Institute for Vaccines and Sera», Moscow, Russia;

**Foshina E. P.**, PhD, Head of the Laboratory of Immunological Research Methods. Federal State Budgetary Scientific Institution «I. Metchnikov Research Institute for Vaccines and Sera», Moscow, Russia.

## НЕКОТОРЫЕ ЭФФЕКТЫ НОВОГО АНАЛОГА ТИМОГЕНА

© 2019 г. М. Ю. Смахтин<sup>1\*</sup>, А. А. Чуланова<sup>1</sup>, В. Т. Корошвили<sup>2</sup>,  
А. М. Смахтина<sup>1</sup>

\*E-mail: m.yu.smakhtin@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»,  
кафедра биологической химии Минздрава РФ, Курск, Россия;

<sup>2</sup>Городская клиническая больница им. В. В. Виноградова (ГКБ № 64), Москва, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 11.03.2019

Были исследованы эффекты нового аналога тимогена, модифицированного D-аланином с C-конца пептида и имеющего формулу  $H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH$  в условиях кожных ран. Пептид вводили один раз в сутки парентерально (внутрибрюшинно) десятикратно в эквимоларной тимогену (1 мкг/кг) разовой дозе 1,2 мкг/кг. Новый аналог тимогена был сопоставим с ним по таким показателям как поглотительная стадия фагоцитоза нейтрофилов крови, количество лимфоцитов в коже, активность супероксиддисмутазы и обладал более выраженной по сравнению с тимогеном стимулирующей кислородзависимой активности нейтрофилов (НСТ-тест) и повышением количества фибробластов в коже. Таким образом, выбранный аналог тимогена обладает более выраженной кислородзависимой активностью нейтрофилов и ранозаживляющим действием, по сравнению с тимогеном.

**Ключевые слова:** аналог тимогена, кожные раны, функция нейтрофилов, антиоксидантная активность, репаративная регенерация

DOI: 10.31857/S102872210006967-8

Адрес: 305041 Курск, ул. К. Маркса, д. 3, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Минздрава России, Курск, Россия, кафедра биологической химии, Смахтин Михаил Юрьевич.

Тел. +7 (4712) 588146, 8 951 319 29 51 (моб.)

E-mail: m.yu.smakhtin@mail.ru

Авторы:

**Смахтин М. Ю.**, д.б.н., профессор кафедры биологических наук ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Чуланова А. А.**, аспирант кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Корошвили В. Т.**, Городская клиническая больница имени В. В. Виноградова (ГКБ № 64), Москва, Россия;

**Смахтина А. М.** студентка ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Минздрава РФ, Курск, Россия.

Известно, что иммунная система участвует в заживлении кожных ран. Пептид тимоген, обладает иммуномодулирующими свойствами, у которого также обнаружен и ряд репаративных эффектов [1, 2]. При этом могут быть перспективными исследования направленные на выявление эффектов более устойчивых к действию протеаз его новых пептидных аналогов.

Соответственно целью исследования было выявление иммуностропных, антиоксидантных и репаративных эффектов нового аналога тимогена, модифицированного D-аланином,

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Раневой процесс моделировали под хлоралгидратным наркозом у крыс Вистар массой 180–220 грамм. На холке животных наносили полнослойные раны стандартного размера (1 см<sup>2</sup>) [3, 4]. В НИИ химии Санкт-Петербургского государственного университета был синтезирован новый аналог тимогена, имеющий формулу  $H_2N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH$ . В качестве препарата сравнения был использован тимоген  $H_2N-L-Glu-L-Trp-COOH$ , который производится фирмой МБНПК ЦИТОМЕД ЗАО (Россия). Пептиды вводили парентерально (внутрибрюшинно) один раз в сутки – тимоген в рекомендованной терапевтической дозе – 1 мкг на 1 кг массы тела, а аналог тимогена – вводили в эквимоларной разовой дозе – 1,2 мкг/кг. Крысы контрольной группы получали изото-

нический раствор хлорида натрия. Определяли фагоцитарную активность нейтрофилов крови после их инкубации с латексом, фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ), завершенность фагоцитоза. Активность кислородзависимых механизмов защиты в фагоцитах оценивали по тесту восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) на аппарате Multiscan MC400 (Labsystems, Финляндия), используя в качестве стимулятора зимозан.

В сыворотке крови определяли содержание малонового диальдегида (МДА) с использованием набора реактивов для определения ТБК-активных продуктов («Агат», Россия). Так же определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) с помощью метода основанного на определении степени торможения реакции автоокисления кверцитина. Исследования проводили спектрофотометрически с использованием спектрофотометра «Arel 330 PD» (Япония). Так же проводили гистологическое исследование кожных ран. При морфометрии на световом микроскопе Leica СМЕ определяли процентное соотношение лимфоцитов и фибробластов. Достоверность различий сравниваемых параметров определяли по расхождению границ доверительных интервалов и с помощью критерия Манна-Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что в условиях кожных ран с пониженной иммунной функцией наблюдалось повышение поглотительной активности нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе (повышение ФЧ и показателя завершенности фагоцитоза) как при введении тимогена, так и при введении его аналога. Выраженность их эффектов были сопоставимы. Тогда как новый аналог тимогена, обладал более выраженным действием по сравнению с тимогеном в отношении кислородзависимой активности, определяемой по уровню НСТ-теста. Было выявлено сопоставимое повышение активности СОД, как при введении тимогена, так и при введении его нового аналога. В то же время не было выявлено достоверных различий по уровню МДА в этих условиях. Вероятно, это связано с тем, что повышается кислородзависимая активность нейтрофилов крови, что приводит к усилению окислительных реакций [5]. Кроме того пептид NH<sub>2</sub>-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH повышает число фибробластов и лимфоцитов в коже, в отличие от тимогена.

Таким образом, можно судить о повышении активности препарата по ряду показателей, при

введении в его структуру D-аланина, а именно: усиливается кислородзависимая активность нейтрофилов и ранозаживляющее действие.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Чердаков В. Ю., Смахтин М. Ю., Дубровин Г. М., Бобынцев И. И. Синергичное иммуностропное и репаративное действие тимогена, даларгина и регуляторного пептида GLY-HIS-LYS при экспериментальной травме кожи // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. — 2013. — № 1. — С. 38–42. [Cherdakov V. Yu., Smakhtin M. Yu., Dubrovin G. M., Bobynceva I. I. The synergic immunotropic and reparative action of timogen, dalargin and GLY-HIS-LYS regulatory peptide in experimental skin trauma // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2013. — № 1. — P. 38–42].
2. Чердаков В. Ю., Смахтин М. Ю., Дубровин Г. М., Дудка В. Т., Бобынцев И. И. Синергичное антиоксидантное и репаративное действие тимогена, даларгина и пептида gly-his-lys при переломе трубчатых костей // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. 2010. № 4. С. 15–20. [Cherdakov V. Yu., Smakhtin M. Yu., Dubrovin G. M., Dudka V. T., Bobynceva I. I. The synergic antioxidant and reparative action of timogen, dalargin and gly-his-lys peptide in bone fracture // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2010. — № 4. — P. 15–20].
3. Курцева А. А., Смахтин М. Ю., Иванов А. В., Беседин А. В. Влияние аминокислот, составляющих пептид глицил-гистидил-лизин, на регенерацию кожных ран и функцию нейтрофилов // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. — 2008. — № 3. — С. 5–10. [Kurceva A. A., Smakhtin M. Yu., Ivanov A. V., Besedin A. V. The influence of amino acids, located in glycy-l-histidyl-lysine peptide, on regeneration of skin wounds and neutrophil function // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2008. — № 3. — P. 5–10].
4. Курцева А. А., Смахтин М. Ю., Иванов А. В., Беседин А. В., Чердаков В. Ю. Репаративная и иммуностропная активность пептида gly-his-lys в условиях кожных ран // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. — 2008. — № 1. — С. 36–40. [Kurceva A. A., Smakhtin M. Yu., Ivanov A. V., Besedin A. V. The reparative and immunotropic activity of glycy-l-histidyl-lysine peptide in skin wounds // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2008. — № 1. — P. 36–40].
5. Смахтин М. Ю., Чердаков В. Ю., Кононец Е. Н., Кремзук Я. В. Сравнительная характеристика гепатоцеллюлярных и иммуностропных эффектов регуляторных пептидов в условиях хронической гепатопатии // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. — 2008. — № 4. — С. 16–22. [Smakhtin M. Yu., Cherdakov V. Yu., Kononec E. N., Kremzuk Ya. V. The comparative characteristic of hepatocellular and immunotropic effects of chronic hepatopathy // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2008. — № 4. — P. 16–22].

## SEVERAL EFFECTS OF TIMOGEN NEW ANALOGUE

© 2019 M. Yu. Smakhtin<sup>1\*</sup>, A. A. Chulanova<sup>1</sup>, V. T. Koroshvili<sup>2</sup>,  
A. M. Smakhtina<sup>1</sup>

\*E-mail: m.yu.smakhtin@mail.ru

<sup>1</sup>Kursk State Medical University, Department of biological chemistry, Kursk, Russia;

<sup>2</sup>Clinical hospital V. V. Vinogradov (№ 64), Moscow, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 11.03.2019

It has been established that in cases of skin wounds the timogen analogue, modified by D-alanine – H<sub>2</sub>N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH, does not affect the values of the absorptive phase of blood neutrophil phagocytosis, superoxide dismutase activity and the number of lymphocytes in skin, comparing with timogen and similar with it. Peptides were injected ten days intraperitoneally in the same molar dosages 1 µg/kg for timogen and 1.2 µg/kg for it's analogue. This peptide has more pronounced action, comparing with timogen, on stimulation of oxygen dependent neutrophil activity (NST-test) and on increase in the number of fibroblasts in skin.

*Key words:* timogen, timogen analogue H<sub>2</sub>N-L-Glu-L-Trp-D-Ala-COOH, skin wounds, the function of neutrophils, antioxidant activity, skin reparative regeneration

**Authors:**

**Smakhtin M. Yu.**, ☒ PhD, professor of biological chemistry department, Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

**E-mail:** m.yu.smakhtin@mail.ru;

**Chulanova A. A.**, aspirant of biological chemistry department, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Koroshvili V. T.**, V. V. Vinogradov Clinical hospital (№ 64), Moscow, Russia;

**Smakhtina A. M.**, student of Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

## УРОВЕНЬ IL-4, IL-5, IL-13 И TNF- $\alpha$ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ КОНТРОЛИРОВАНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2019 г. М. В. Смольникова\*, Э. В. Каспаров, В. Д. Беленюк, С. Н. Зобова, С. Ю. Терещенко

\*E-mail: smarinv@yandex.ru

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера  
ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

Поступила: 22.03.2019. Принята: 04.04.2019

Цитокины занимают важное место в регуляции иммунного ответа при аллергическом воспалении, которое имеет ведущее значение при развитии бронхиальной астмы. Th2-клетки и их цитокины, такие как IL-4, IL-5 и IL-13 играют критическую роль в формировании и активации аллергического воспаления при астме. Генетически опосредованный уровень концентрации цитокинов может влиять на фенотип заболевания и степень контроля течения астмы. Показана статистически значимо высокая концентрация IL-5 при контролируемой астме по сравнению с неконтролируемым течением заболевания (0,54 пг/мл (0,32–1,02) / 0,38 пг/мл (0,32–0,58);  $p=0,05$ ), что свидетельствует о большем вкладе эозинофильного воспаления в патогенез астмы в этой группе и потенциально большей подверженности к успешному ответу на терапию кортикостероидами.

**Ключевые слова:** астма, дети, цитокины, концентрация в сыворотке

DOI: 10.31857/S102872210006968-9

Адрес: 660022 Красноярск, ул. П. Железняк 3г, НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН, Смольникова Марина Викторовна. Тел./факс: +7 (391) 228-06-81.

E-mail: smarinv@yandex.ru

**Авторы:**

**Смольникова М. В.**, к.б.н., ведущий научный сотрудник НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия;

**Каспаров Э. В.**, д.м.н., профессор, директор НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН; Красноярск, Россия;

**Беленюк В. Д.**, младший научный сотрудник НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН; Красноярск, Россия;

**Зобова С. Н.**, к.м.н., ведущий научный сотрудник НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН; Красноярск, Россия;

**Терещенко С. Ю.**, д.м.н., профессор, заведующий клиническим отделением соматического и психического здоровья детей НИИ МСП ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Бронхиальная астма (БА) – комплексное многофакторное заболевание дыхательных путей, характеризующееся обратимыми приступами удушья, при котором генно-средовые взаимодействия играют решающую роль в возникновении заболевания, его прогрессировании и ответе на терапию. Возможно, отсутствие адекватно-

го контроля атопической бронхиальной астмы обусловлено особенностями эндогенной регуляции межклеточных взаимодействий, осуществляемой цитокинами, в процессе формирования аллерген-специфического иммунного ответа. В большинстве случаев первые признаки формирования атопии проявляются в детском возрасте. При БА возникает дисбаланс между Th1- и Th2-клетками с активацией основных цитокинов, контролирующих аллергическое (атопическое) воспаление (IL-4, IL-5, IL-13 и др.). Патогенез БА представляет собой сложный комплекс нарушений регуляции иммунного ответа в сторону Th2-лимфоцитов, сопровождающийся развитием персистирующего эозинофильного воспаления. IL-5 является основным и, возможно, единственным цитокином, специфически вовлеченным в процесс продукции эозинофилов, он имеет важное значение в формировании воспалительного процесса при астме.

**Цель.** Изучить уровень концентрации цитокинов (IL-4, IL-5, IL-13, TNF- $\alpha$ ) в сыворотке крови с помощью технологии xMAP у детей

с контролируемым и неконтролируемым течением бронхиальной астмы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были сформированы группы детей больных: среднетяжелой БА с контролируемым течением заболевания (КАБА, n=40) и тяжелой/среднетяжелой БА с неконтролируемым течением заболевания (НАБА, n=54). Диагноз, степень тяжести, уровень контроля над течением заболевания установлен в соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA. Сравнимые группы находились на базисной терапии эквивалентными суточными дозами ингаляционных кортикостероидов (ИКС). Все обследованные или их родители дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Концентрации цитокинов впервые проводились на мультиплексном анализаторе белков и нуклеиновых кислот MagPlex по технологии xMAP на магнитных микросферах с использованием Milliplex Map Cytokine Panel («Millipore», USA). Расчет показателей медианы (Me) и процентилей (25%; 75%) осуществляли с использованием «Statistica 6.0». Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Использование универсальной технологии xMAP определения концентрации белков является новым инструментом для изучения патогенеза заболеваний. Milliplex анализ позволяет измерять биомаркеры в микроколичествах биологического материала, при этом точность такого анализа выше, чем рутинного иммуноферментного анализа. В результате проведенного анализа концентрации заявленных цитокинов, выявлен статистически значимо высокий уровень IL-5 в сыворотке крови больных КАБА в сравнении с НАБА (0,54 пг/мл (0,32–1,02)/0,38 пг/мл (0,32–0,58);  $p=0,05$ ). Уровень концентраций IL-4 и IL-13 у больных КАБА/НАБА составлял 5,1/5,1 пг/мл IL-4 и 0,42/0,58 пг/мл IL-13, со-

ответственно; концентрация TNF- $\alpha$  составила 9,1/7,2 пг/мл, соответственно ( $p > 0,05$ ). Ранее при анализе распределения частоты генотипов полиморфного локуса rs2069812 C-703T IL-5 нами не были показаны статистически значимые отличия у больных КАБА и НАБА [1]. По литературным данным аллельный вариант C\* rs2069812 ассоциирован с повышенной экспрессией и продукцией IL-5 [2].

Более высокий уровень IL-5 у детей с КАБА может свидетельствовать о большем вкладе эозинофильного воспаления в патогенез БА в этой группе и, следовательно, потенциально большей подверженности к успешному ответу на терапию кортикостероидами. В практическом плане это означает, что уровень плазменного IL-5 можно использовать для предиктивной оценки успешности ответа конкретного пациента на терапию низкими/средними дозами ИКС: у детей с БА и низким плазменным уровнем IL-5 для контроля заболевания могут потребоваться более высокие стартовые дозы ИКС. Необходимо отметить, что механизмов формирования неконтролируемого течения бронхиальной астмы не выявлено. Сохраняется необходимость дальнейшего изучения иммунопатогенеза бронхиальной астмы для выявления маркеров неконтролируемого течения заболевания у детей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Смольникова М. В., Фрейдлин М. Б., Смирнова С. В. Гены цитокинов как генетические маркеры атопической бронхиальной астмы с контролируемым и неконтролируемым течением. Медицинская иммунология. 2017, 19(5), 597–604. [Smolnikova M. V., Freydlin M. B., Smirnova S. V. Cytokine genes as genetic markers of controlled and uncontrolled atopic asthma. Medical immunology. 2017, 19 (5), 597–604].
2. Inoue N(1), Watanabe M, Morita M, Tatusmi K, Hidakata Y, Akamizu T, Iwatani Y. Association of functional polymorphisms in promoter regions of IL5, IL6 and IL13 genes with development and prognosis of autoimmune thyroid diseases. Clin Exp Immunol. 2011,163(3),318–323.

**THE LEVEL OF IL-4, IL-5, IL-13 AND TNF- $\alpha$  IN CHILDREN  
WITH BRONCHIAL ASTHMA WITH DIFFERENT CONTROL OF DISEASE**

© 2019 **M. V. Smolnikova\***, **E. V. Kasparov**, **V. D. Belenyuk**,  
**S. N. Zobova**, **S. Y. Tereshchenko**

\*E-mail: [smarinv@yandex.ru](mailto:smarinv@yandex.ru)

*Scientific Research Institute of Medical Problems of the North FRC KSC SB RAS,  
Krasnoyarsk, Russia*

**Received:** 22.03.2019. **Accepted:** 04.04.2019

Cytokines have an important place in the regulation of the immune response in allergic inflammation, which is of paramount importance in the development of asthma. Th2 cells and their cytokines, such as IL-4, IL-5 and IL-13, play a critical role in the formation and activation of allergic inflammation in asthma. A genetically mediated level of cytokine serum level may affect the phenotype of the disease and the degree of control of asthma. We observed statistically significantly high concentration of IL-5 in controlled asthma compared in uncontrolled course of the disease (0,54 pg/ml (0,32–1,02)/0,38 pg/ml (0,32–0,58);  $p=0,05$ ), indicating a greater contribution of eosinophilic inflammation to the pathogenesis of asthma in this group and a potentially higher susceptibility to a successful response to corticosteroid therapy.

*Key words:* asthma, children, cytokines, serum level

**Authors:**

**Smolnikova M. V.**, ✉ PhD, Leading researcher, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North FRC KSC SB RAS; Krasnoyarsk, Russia. **E-mail:** [smarinv@yandex.ru](mailto:smarinv@yandex.ru);

**Kasparov E. V.**, MD, Professor, The Head of Institute, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North FRC KSC SB RAS; Krasnoyarsk, Russia;

**Belenyuk V. D.**, Junior Researcher, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North FRC KSC SB RAS; Krasnoyarsk, Russia;

**Zobova S. N.**, PhD, Leading researcher, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North FRC KSC SB RAS; Krasnoyarsk, Russia;

**Tereshchenko S. Y.**, MD, Professor, Head of the Clinical Department of Somatic and Mental Health of Children, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North FRC KSC SB RAS; Krasnoyarsk, Russia.

## ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У КРЫСЯТ, РОДИВШИХСЯ ОТ ПАССИВНО КУРИВШИХ САМОК. СООБЩЕНИЕ 1

© 2019 г. А. И. Смолягин\*, И. В. Михайлова, Е. В. Ермолина,  
Л. А. Пушкарева, А. А. Исенгулова, Н. А. Кузьмичева,  
И. В. Мирошниченко

\*E-mail: probllab.orenburg@mail.ru

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Оренбург, Россия

Поступила: 05.03.2019. Принята: 21.03.2019

Представлены результаты изменений иммунологических показателей крысят, родившихся от самок, которые во время беременности подвергались пассивному курению и воздействию иммуномодуляторов КК1 и нейрокинина А.

**Ключевые слова:** пассивное курение, крысы, иммунология, иммуномодуляторы

DOI: 10.31857/S102872210006969-0

Адрес: 460000 Оренбург, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, проблемная научно-исследовательская лаборатория, Смолягин Александр Иванович. Тел.: 8 (922) 829 47 93

E-mail: probllab.orenburg@mail.ru

**Авторы:**

**Смолягин А. И.**, д.м.н., профессор, заведующий проблемной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Михайлова И. В.**, д.б.н., доцент, заведующая кафедрой фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Ермолина Е. В.**, к.б.н., с.н.с. проблемной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, Оренбург, Россия;

**Пушкарева Л. А.**, ст. лаборант кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, Оренбург, Россия;

**Исенгулова А. А.**, к.м.н., доцент, доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Кузьмичева Н. А.**, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Мирошниченко И. В.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Воздействие химических веществ в пренатальном периоде является актуальной медицин-

ской проблемой [1]. В связи с этим представляет интерес использование иммуномодуляторов для коррекции нарушений иммунной системы у потомства от куривших матерей.

**Целью** работы явилась оценка иммунологических параметров крысят, родившихся от крыс, подвергавшихся во время беременности пассивному курению и воздействию иммуномодуляторов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования были выполнены на 36 опытных и контрольных половозрелых крысах Вистар массой 160–180 г и на 175 крысятах в возрасте 21–22 дня. Опытные беременные крысы (3, 4, 5 группы) подвергались фумигации табачным дымом (ежедневно в течение 5 дней в неделю по 8 часов). Контрольные беременные крысы в аналогичный период помещались в камеру, вентилируемую атмосферным воздухом без табачного дыма. Начиная со 2-й недели беременности крысам вводился физраствор или иммуномодулятор в дозе 40 мкг/кг/сут 5 раз через день. Иммуномодуляторы: КК1 – препарат пептидной природы, обладающий ноотропным и психостимулирующим, повышающим устойчивость к стрессу и гипоксии; нейрокинин А – препарат, способствующий освобождению из тучных клеток и лейкоцитов простагланди-

на Е2, цитокинов и биогенных аминов, обладает противовоспалительным эффектом и активностью, сходной с субстанцией Р. Иммуномодуляторы синтезированы и любезно предоставлены А.А. Колобовым (ФГУП Гос.НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России). Контрольным не курившим крысам вводили: физраствор (1 гр.), КК1 (2 гр.), нейрокинин А (5 гр.). Опытным курившим крысам вводили: физраствор (3 гр.), КК1 (4 гр.), нейрокинин А (6 гр.). Эвтаназию крысят осуществляли дислокацией шейных позвонков под эфирным наркозом на 22–25 сутки после рождения.

В соответствии с рекомендациями [2] у крысят определяли: в крови число лейкоцитов и лейкоформулу; в тимусе, селезенке и костном мозге — массу и количество клеток, спонтанную и индуцированную конканавалином А секрецию спленоцитами ИФН $\gamma$  и ИЛ-6 в супернатантах. Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel и «STATISTICA 10.0».

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В качестве контроля были использованы иммунологические параметры крысят 1 гр., родившихся от не куривших крыс. Установлено снижение массы тела у опытных крысят 3 и 4 гр. по отношению к уровню данного параметра у крысят 1 гр. Напротив, масса опытных крысят 5 гр. достоверно превышала уровень контрольной группы. Выявлено отсутствие значимых изменений числа лейкоцитов во всех группах и уменьшение относительного содержания лимфоцитов у крысят 4 группы. Напротив уровень моноцитов у животных 3 и 6 групп был повышен. У опытных крысят (3 гр.), родившихся от пассивно куривших самок, по сравнению с контролем установлено снижение массы тимуса и селезенки, числа спленоцитов и миелокариоцитов.

Введение не курившим крысам иммуномодулятора КК1 приводило к: достоверному повышению массы тимуса, числа тимоцитов, спленоцитов у контрольных крысят 2 гр., а нейрокинина А — к выраженной тенденции к увели-

чению данных показателей у животных 5 гр. При введении беременным курившим самкам КК1 у крысят (4 гр.) отмечено снижение массы крыс и селезенки, а нейрокинина А — наиболее значительные изменения иммунологических параметров у крысят 6 гр., что выражалось в увеличении массы крысят, тимуса, селезенки, количества тимоцитов, спленоцитов.

Выявлена тенденция к увеличению индуцированной продукции ИФН $\gamma$  спленоцитами крысят 6 гр. и, напротив, к снижению спонтанного и индуцированного синтеза ИФН $\gamma$  у спленоцитов животных 2 гр. Установлено достоверное снижение спонтанной продукции ИЛ-6 спленоцитами опытных групп на фоне введения иммуномодуляторов КК1 (4 гр.) и нейрокинина А (6 гр.).

Полученные результаты свидетельствовали в пользу развития индуцированного варианта вторичного иммунодефицита у крысят, родившихся от пассивно куривших крыс во время беременности. Введение иммуномодуляторов как контрольным, так и опытным беременным крысам сопровождалось разнонаправленными изменениями иммунного статуса у родившихся крысят. Данные работы могут являться основанием для создания модели оценки нарушений иммунной системы и разработки методологии с ее использованием при определении эффективности новых иммуномодуляторов у экспериментальных животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Колесников С. И., Семенюк А. В., Грачев С. В. Импринтинг действия токсикантов в эмбриогенезе. В кн.: Медицинское информационное агентство, М., 1999, 263. [Kolesnikov S. I., Semeniuk S. V., Grachev S. V. Imprinting of action of toxicants in embryogenesis. In the book.: Medical information Agency, M., 1999, 263].
2. Волчегорский И. А., Долгушин И. И., Колесников О. Л., Цейликман В. Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. ЧГПУ, Челябинск, 2000, 167. [Volchegorsky I. A., Dolgushin I. I., Kolesnikov O. L., Tselikman V. E. Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions of the organism. Chelyabinsk state pedagogical University, Chelyabinsk, 2000, 167].

## ESTIMATION OF IMMUNOLOGICAL INDICATORS IN RATS BORN FROM PASSIVALLY SMOKED MALE. COMMUNICATIONS I

© 2019 A. I. Smolagin\*, I. V. Mikhailova, E. V. Ermolina, L. A. Pushkareva,  
A. A. Isengulova, N. A. Kuzmicheva, I. V. Miroshnichenko

\*E-mail: [problab.orenburg@mail.ru](mailto:problab.orenburg@mail.ru)

Federal state budgetary educational institution of higher education «Orenburg state medical  
University» of the Ministry of health of the Russian Federation, Orenburg, Russia

Received: 05.03.2019. Accepted: 21.03.2019

The results of changes in the immunological parameters of rat pups born to females, which during pregnancy were exposed to passive smoking and the effects of immunomodulators KK1 and neurokinin A, are presented.

*Key words:* passive smoking, rats, immunology, immunomodulators

### Authors:

**Smolyagin A. I.**, ✉ MD, Professor, Head of Problem Research Laboratory, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia. **E-mail:** [problab.orenburg@mail.ru](mailto:problab.orenburg@mail.ru);

**Mikhailova I. V.**, Doctor of Biological Sciences, associate Professor, head of the Department of pharmaceutical chemistry, of the FGBOU OrGMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Ermolina E. V.**, Candidate of Biological Sciences, senior researcher of the problem research laboratory of the FGBOU OrGMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Pushkareva L. A.**, Senior laboratory assistant of the Department of Normal Physiology of the FGBOU OrGMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Isengulova A. A.**, Candidate of Medical Science, associate professor, associate professor of the Normal Physiology of the FGBOU OrGMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Kuzmicheva N. A.**, Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry, of the FGBOU OrGMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia;

**Miroshnichenko I. V.**, MD, professor, head of the Department of Normal Physiology, of the FGBOU OrGMU of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russia.

## ПРИМЕНЕНИЕ ТЕЛЕСНО-ОРИЕНТИРОВАННОЙ ПСИХОКОРРЕКЦИИ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

© 2019 г. А. В. Смык

*E-mail: anna-v-smyk@mail.ru*

*ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии»,  
Новосибирск, Россия*

**Поступила:** 15.03.2019. **Принята:** 29.03.2019

Бронхиальная астма является распространенным хроническим рецидивирующим заболеванием. Психологические факторы оказывают существенное влияние на возникновение и течение астмы, в силу чего данное заболевание относят к психосоматической патологии. Важная роль в патогенезе данного заболевания отводится алекситимии, в связи с чем целью исследования была оценка эффективности применения психокоррекции алекситимии в комплексной терапии бронхиальной астмы. Нами установлено снижение уровня алекситимии до нормативных показателей и улучшение функции внешнего дыхания у пациентов, которым медикаментозная терапия была дополнена психокоррекционным воздействием. Наиболее выраженный эффект телесно-ориентированной психокоррекции на указанные показатели зарегистрирован у пациентов с доминантным левым полушарием головного мозга; у них же в последующие три месяца был достигнут полный контроль над астмой. Представленные результаты свидетельствуют о позитивном влиянии психокоррекции у больных бронхиальной астмой на течение патологического процесса, что является обоснованием целесообразности включения психокоррекционного воздействия в комплексную терапию указанного заболевания.

**Ключевые слова:** психосоматическая патология, астма, алекситимия, телесно-ориентированная психокоррекция, контроль над астмой

**DOI:** 10.31857/S102872210006970-2

**Адрес:** 630099. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория нейроиммунологии. Смык Анна Владимировна. Тел./факс: +7(383) 222-06-72, +7913 38890 16 (моб.).

**E-mail:** anna-v-smyk@mail.ru

**Авторы:**

**Смык А. В.**, младший научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Бронхиальная астма (БА) является довольно распространённым хроническим рецидивирующим заболеванием, основой которого является воспалительный процесс в дыхательных путях с участием разнообразных клеточных элементов. Основным и обязательным патогенетическим механизмом БА является изменённая реактивность бронхов, обусловленная специфическими иммунологическими (сенсibilизация и аллер-

гия) или неспецифическими механизмами. При этом ряд авторов не без основания относят БА к психосоматической патологии [1, 2, 3]. Психологические факторы могут оказывать существенное влияние на течение БА. Психологический стресс, а также эмоциональные реакции, плач или смех могут вызвать приступ удушья. Описаны летальные исходы обострений БА, вызванных высоким уровнем эмоционального стресса [2]. В настоящее время, в контексте понимания роли психологических механизмов в патогенезе психосоматических заболеваний, долговременного прогноза и организации профилактических мероприятий, внимание исследователей привлечено к так называемому алекситимическому радикалу в структуре преморбидной личности, как одному из возможных психологических факторов риска психосоматических расстройств [1, 2]. Разрабатываются методики определения уровня алекситимии у больных с психосоматическими

заболеваниями, а также психотерапевтические методы, направленные на снижение алекситимии путем преодоления определяющих ее личностных черт, поскольку наличие алекситимии существенно осложняет процесс вербальной психотерапии, в ряде случаев делая его невозможным.

**Целью** настоящей работы была оценка эффективности применения телесно-ориентированной психокоррекции алекситимии в комплексной терапии БА.

## МЕТОДЫ

В исследование было включено 87 пациентов (38 мужчин и 49 женщин), сопоставимых по возрасту, вариантам и степени тяжести астмы, находящихся на стационарном лечении в клинике иммунопатологии ФГБНУ «НИИФКИ». Пациенты были разделены на две группы, в одной из которых медикаментозная терапия была дополнена телесно-ориентированной психокоррекцией (ТОП). До и после лечения оценивались клинико-лабораторные показатели, уровень алекситимии, контроль над астмой.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

После проведённого лечения у всех больных была достигнута клиническая ремиссия. Степень выраженности алекситимии в группе пациентов после проведённого лечения с применением ТОП достоверно снизилась и приблизилась к нормативным значениям; в то время как в контрольной группе пациентов (без дополнения базовой медикаментозной терапии психокоррекционным воздействием) уровень алекситимии не изменялся. При анализе полученных результатов нами было установлено, что достоверное снижение уровня алекситимии после дополнения базовой медикаментозной терапии БА курсом ТОП было достигнуто за счёт изменения указанного показателя преимущественно у пациентов с доминирующей активностью левого полушария головного мозга, оцененной по 4 парным функциям [1], причём у мужчин более выраженное, чем у женщин;

Для клинической характеристики течения заболевания у всех пациентов проводилось обследование функции внешнего дыхания до и после лечения, которое показало (при отсутствии различий по данным показателям между указанными группами больных до лечения), что в процессе лечения в группе мужчин и женщин, которым

проводили курс ТОП, достигнуто увеличение абсолютных и относительных показателей объёма форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), в то время как в группе пациентов, получавших только базовую медикаментозную терапию, достоверных изменений указанных параметров отмечено не было.

Дальнейшее наблюдение больных БА выявило (по результатам теста контроля над астмой), что в течение трёх месяцев после выписки из стационара у тех из них, кому в процессе стационарного лечения был проведен курс ТОП и, тем самым, снижен уровень алекситимии, реже наблюдались ночные приступы астмы, они реже пользовались ингалятором с быстродействующим лекарством по сравнению с больными, которым ТОП не была проведена.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о позитивном влиянии ТОП у больных БА на течение патологического процесса, которое проявляется не только в снижении степени выраженности алекситимии, как патогенетического фактора БА, на который и было направлено указанное воздействие; но также и в повышении показателей функции внешнего дыхания, что, с одной стороны ещё раз подтверждает существенную роль алекситимии в патогенезе БА, а с другой – является обоснованием целесообразности включения курса ТОП в комплексную терапию указанного заболевания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Смык А. В., Маркова Е. В. Оригинальный метод коррекции алекситимии при психосоматической патологии на основе телесно-ориентированного воздействия. Современные исследования социальных проблем. 2013, 1 (13), 169–173. [Smyk A. V., Markova E. V. The original method of correction of alexithymia in psychosomatic pathology based on body-oriented effects. Modern studies of social problems. 2013, 1 (13), 169–173].
2. Маркова Е. В., Савкин И. В., Климова Т. В. Нейроиммунные механизмы психосоматической патологии. Красноярск, 2017. [Markova E. V., Savkin I. V., Klimova T. V. Neuroimmune mechanisms of psychosomatic pathology. Krasnoyarsk, 2017]
3. Idova G. V., Markova E. V., Gevorgyan M. M., Al'perina E. L., Zhanaeva S. Ya. Production by Splenic Cells in C57BL/6J Mice with Depression-Like Behavior Depends on the Duration of Social Stress. // Bull. Exp. Biol. Med. 2018, 164 (5), 645–649.

## APPLICATION OF BODY-ORIENTED PSYCHO-CORRECTION IN THE BRONCHIAL ASTHMA COMPLEX THERAPY

© 2019 A. V. Smyk

*E-mail: anna-v-smyk@mail.ru*

*Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Fundamental  
and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.*

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 29.03.2019

Asthma is a chronic relapsing disease. Psychological factors have a significant influence on the development and course of asthma, which is why the disease is considered to be a psychosomatic disease. An important role in the pathogenesis of this disease is given alexithymia, and therefore the purpose of the study was to assess the effectiveness of psychological correction of alexithymia in the complex therapy of asthma. There was a reduction in the level of alexithymia to the standard ratios and improve lung function in patients undergoing drug therapy with kinesiology psychocorrection. The most pronounced effect on these indicators registered in patients with a dominant left hemisphere of the brain. The next three months in these patients achieved complete asthma control. Our results demonstrate the positive therapeutic effect of kinesiology psychocorrection in patients with asthma that determines the feasibility of its inclusion in the complex therapy of said disease.

*Key words:* psychosomatic disorders, asthma, alexithymia, psychocorrection, asthma control

### **Authors:**

**Smyk A. V.**, Junior Researcher of the Neuroimmunology laboratory of the Federal State Budgetary Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ ИНТЕРФЕРОНА И КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМ АКТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

© 2019 г. Т. Ф. Соколова<sup>1</sup>, А. В. Мордык<sup>1</sup>, Е. Л. Щеглова<sup>2\*</sup>,  
Н. Н. Сокол<sup>2</sup>, А. Р. Ароян<sup>1</sup>

\*E-mail: [eleon\\_74@mail.ru](mailto:eleon_74@mail.ru)

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» МЗ России, Омск, Россия;

<sup>2</sup>БУЗОО «Городская детская клиническая больница № 2 им. В. П. Бисяриной», Омск, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 14.03.2019

Выявлены особенности изменений системы интерферона и клеточного иммунитета, структурно-функциональной организации иммунной системы по количеству устойчивых корреляционных связей между ее отдельными элементами у детей с активным туберкулезом легких. Проанализированы секреция IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ , субпопуляционный состав лимфоцитов крови, связи между показателями системы иммунитета. Установлено, что гипосекреция IFN $\gamma$  лимфоцитами *in vitro* при направленной индукции клеток регистрируется на фоне снижения численности CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup> лимфоцитов, увеличения числа связей между отдельными элементами иммунной системы со снижением ее мобильности.

**Ключевые слова:** туберкулез легких у детей, система интерферона, клеточный иммунитет

DOI: 10.31857/S102872210006971-3

**Адрес:** 644007 Омск, ул. Тарская, д. 55, БУЗОО «Городская детская клиническая больница № 2 им. В. П. Бисяриной», лаборатория клинической иммунологии, Щеглова Елена Леонидовна. Тел.: 8 999 459 18 47.

**E-mail:** [eleon\\_74@mail.ru](mailto:eleon_74@mail.ru)

**Авторы:**

**Соколова Т. Ф.**, д.м.н., доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» МЗ России, Омск, Россия;

**Мордык А. В.**, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой фтизиатрии, фтизиохирургии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» МЗ России, Омск, Россия;

**Щеглова Е. Л.**, к.м.н., врач КЛД БУЗОО «Городская детская клиническая больница № 2 им. В. П. Бисяриной» Омск, Россия;

**Сокол Н. Н.**, заведующая лабораторией БУЗОО «Городская детская клиническая больница № 2 им. В. П. Бисяриной» Омск, Россия;

**Ароян А. Р.**, ассистент кафедры фтизиатрии, фтизиохирургии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» МЗ России, Омск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Выявлены особенности изменений системы интерферона и клеточного иммунитета, структурно-функциональной организации иммунной

системы по количеству корреляционных связей между ее элементами у детей с туберкулезом легких. Проанализированы секреция IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ , субпопуляционный состав лимфоцитов крови, связи в системе иммунитета. Установлено, что гипосекреция IFN $\gamma$  лимфоцитами *in vitro* при направленной индукции клеток регистрируется на фоне снижения численности CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup> лимфоцитов, увеличения числа связей между элементами иммунной системы со снижением ее мобильности.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 49 детей от 4 до 11 лет, иммунологическое обследование которых проведено в лаборатории клинической иммунологии БУЗОО ГДКБ № 2 им. В. П. Бисяриной г. Омска. Из них 24 ребенка (основная группа) находились на лечении в КУЗОО СДТКБ г. Омска с диагнозом ТЛ (первичный туберкулезный комплекс, туберкулез внутригрудных лимфатических узлов). Диагнозы выставляли на основании комплексного стандартного клинического и лабораторно-инструментального

обследования. Контрольную группу составили 25 детей проходивших лечение в БУЗОО ГДКБ № 2 им. В. П. Бисяриной г. Омска с диагнозами: синдром вегетативной дисфункции, лабильная артериальная гипертензия, дисплазия соединительной ткани, нарушение сердечного ритма, не имеющие в анамнезе легочной патологии. Уровень базальной и ФГА-индуцированной секреции  $IFN\alpha$  и  $IFN\gamma$  оценивали в супернатантах культуры лимфоцитов иммуноферментным анализом при помощи тест-систем (АО «Вектор-Бест», Россия). Популяции и субпопуляции лимфоцитов:  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD16^+$ ,  $CD20^+$ ,  $HLA-DR^+$  клетки изучали на проточном цитометре «BC Navios» (США). Статистический анализ проведен с помощью Statistica 6.0. Значимость различий оценивали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Данные представлены в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей ( $P_{25}$ - $P_{75}$ ). Корреляционный анализ проводили по Спирмену. Критический уровень значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У детей больных ТЛ выявлено увеличение базальной секреции  $IFN\alpha$  и  $IFN\gamma$  ( $p < 0,05$ ). Содержание  $IFN\alpha$  у пациентов с ТЛ составило 3,61 (2,71–5,72) пг/мл, что в 36 раз больше, чем в контроле – 0,10 (0,01–0,96) пг/мл,  $IFN\gamma$  8,91 (5,64–17,46) пг/мл и 2,10 (1,09–2,64) пг/мл соответственно. ФГА-индуцированная активность клеток вызывала увеличение (по сравнению с базальным уровнем) продукции  $IFN\alpha$  у детей, не инфицированных *M. tuberculosis*. У детей больных ТЛ значимого повышения уровня  $IFN\alpha$  не происходило. Индекс стимуляции  $IFN\alpha$  в основной группе был в 6 раз ниже, чем в контроле – 1,44 (0,75–1,77) пг/мл против 9,0 (2,5–106,0) пг/мл, ( $p < 0,05$ ). Особого внимания заслуживает угнетение ФГА-индуцированной продукции  $IFN\gamma$  у детей больных ТЛ. Так, уровень  $IFN\gamma$  у них составил 105,5 (75,5–150,0) пг/мл, что в 14 раз было ниже контроля – 1508,0 (1196,0–2565,0) пг/мл, ( $p < 0,05$ ). Гипосекреция  $IFN\gamma$  у детей с ТЛ сопровождалась снижением количества лимфоцитов ( $p < 0,05$ ), несущих поверхностный маркер  $CD3$  – 1,83 (1,55–2,05) г/л против 2,36 (1,68–3,14) г/л,  $CD4$  – 1,07 (0,99–1,35) г/л против 1,46 (1,07–1,89) г/л,  $CD8$  – 23,0 (21,0–30,0)% против 28,0 (26,0–33,0)%,  $CD8$  – 0,69 (0,52–0,81) г/л против 1,02 (0,77–1,52) г/л,  $CD16$  – 0,34 (0,29–0,40) г/л против 0,44 (0,34–0,63) г/л,  $HLA-DR$  – 0,12 (0,09–0,14) г/л против 0,73

(0,55–1,54) г/л,  $CD20$  – 14,0 (12,0–17,0)% против 17,0 (13,0–20,0)%,  $CD20$  – 0,38 (0,3–0,53) г/л против 0,51 (0,44–0,97) г/л. При интегральной оценке функционального состояния иммунной и интерфероновой систем выявлено, что количество статистически значимых ( $p < 0,05$ ) коррелятивных связей в группе детей больных ТЛ было больше (12 связей), чем в группе неинфицированных детей (4 связи). При этом у детей с ТЛ выявлено наличие 5 связей между показателями системы интерферона и 7 связей между показателями интерфероновой и иммунной систем. Взаимосвязи в системе иммунитета у детей контрольной группы были малочисленны и касались преимущественно связей внутри системы интерферона. Увеличение числа связей между показателями системы иммунитета у детей больных ТЛ, приводит к переходу системы на работу по неадекватной и некорректируемой программе с повышенной степенью жесткости, что снижает ее мобильность и делает более уязвимой.

Таким образом, структурные и функциональные дефекты в интерфероновой и иммунной системе у детей с ТЛ можно охарактеризовать как стадию декомпенсации адаптационных реакций иммунной системы и развитие вторичного иммунодефицитного состояния.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Бердюгина О. В., Мезенцева А. В., Чугаев Ю. П. Особенности иммунологических показателей при туберкулезной инфекции органов дыхания у детей // Современные проблемы науки и образования, 2016. № 2. С. 34. [Berdyugina O. V., Mezentseva A. V., Chugaev Y. P. Characteristics of immunological parameters in cases of tuberculosis infections of the respiratory system among the children. Modern problems of science and education, 2016, no. 2, p. 34].
2. Правада Н. С., Серёгина В. А., Будрицкий А. М., Янченко В. В. Значение системы гамма-интерферона и туберкулинсвязывающих моноцитов у пациентов с распространёнными формами туберкулеза лёгких // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики, 2018, № 2. С. 1–13. [Pravda N. S., Seryogina V. A., Budritsky A. M., Yanchenko V. V. The meaning of the gamma-interferon system and tuberculin binding monocytes among patients with common forms of pulmonary tuberculosis. Modern problems of health service and medical statistics, 2018, no. 2, 1–13].
3. Писаренко М. С. Особенности секреции интерферона-гамма при лекарственно-устойчивом туберкулезе легких // Фундаментальные исследования, 2013. № 9, ч. 3. С. 444–447. [Pisarenko M. S. Peculiarities of  $IFN\gamma$  secretion in drug-resistant pulmonary tuberculosis, Fundamental research, 2013, no. 9(3), pp. 444–447].

**CHARACTERISTICS OF THE INTERFERON SYSTEM AND CELLULAR  
IMMUNITY OF THE CHILDREN WITH FIRST DIAGNOSED  
ACTIVE PULMONORY TUBERCULOSIS**

© 2019 T. F. Sokolova<sup>1</sup>, A. V. Mordyk<sup>1</sup>, E. L. Shcheglova<sup>2\*</sup>,  
N. N. Sokol<sup>2</sup>, A. R. Aroyan<sup>1</sup>

*E-mail: eleon\_74@mail.ru*

<sup>1</sup>Omsk State Medical University, Omsk, Russia;

<sup>2</sup>V.P. Bisyarina City Children's Clinical Hospital № 2, Omsk, Russia

**Received:** 28.02.2019. **Accepted:** 14.03.2019

The article reveals the features of changes in the system of interferon and cellular immunity, structural and functional organization of the immune system by the number of correlations between its elements among the children with pulmonary tuberculosis. The article gives an analysis of secretion of IFN $\alpha$  and IFN $\gamma$ , subpopulation composition of blood lymphocytes, communication in the immune system. It is stated that hypo secretion of IFN $\gamma$  by lymphocytes *in vitro* with directed induction of cells is registered against the background of a decrease in the number of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup> lymphocytes, an increase in the number of connections between elements of the immune system with a decrease in its mobility.

*Key words:* tuberculosis, interferon, cellular immunity

**Authors:**

**Sokolova T. F.**, MD, Prof. at the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology GBOU VO "Omsk State Medical University" Minzdrava RF, Omsk, Russia;

**Mordyk A. V.**, MD, Professor, Head of the Department of Phthysiology and Phthysiosurgery GBOU VO "Omsk State Medical University" Minzdrava RF, Omsk, Russia;

**Shcheglova E. L.**, ✉ PhD, Doctor of clinical immunology laboratories BUZOO «V. P. Bisyarina City Children's Clinical Hospital № 2», Omsk, Russia. **E-mail:** eleon\_74@mail.ru;

**Sokol N. N.**, The Head of the of Clinical Laboratory BUZOO «V. P. Bisyarina City Children's Clinical Hospital № 2», Omsk, Russia;

**Aroyan A. R.**, Assistant of the Sub-Department of Phthysiology and Phthysiosurgery GBOU VO "Omsk State Medical University" Minzdrava RF, Omsk, Russia.

## ИММУНОГЕННОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

© 2019 г. А. А. Солдатов\*, Ж. И. Авдеева, В. П. Бондарев,  
В. А. Меркулов

\*E-mail: Patosold@mail.ru

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Минздрава РФ, Москва, Россия

Поступила: 04.03.2019. Принята: 18.03.2019

Эффективность и безопасность применения биотехнологических (биотерапевтических, генно-инженерных) препаратов обусловлены их таргетным механизмом действия и отсутствием токсичности, в отличие от традиционных химических препаратов. Данные особенности биотерапевтических препаратов влияют и на профиль их безопасности. При лечении биотерапевтическими препаратами наиболее опасной побочной реакцией и первой по времени развития является так называемая реакция на инфузию. В основе развития реакции на инфузию биотерапевтического препарата может быть одна из следующих реакций: синдром высвобождения цитокинов (CRS), реакция гиперчувствительности I типа (IgE-зависимая аллергическая реакция) или IgG-опосредованная реакция. Данные реакции имеют сходную клиническую картину, поэтому сложно четко определить какие механизмы привели к развитию реакции на инфузию. Механизмы развития реакции на инфузию изучены еще слабо.

**Ключевые слова:** биотехнологические препараты, биотерапевтические препараты, моноклональные антитела, побочные реакции, реакция на инфузию, реакции гиперчувствительности, иммуногенность препаратов

DOI: 10.31857/S102872210006972-4

**Адрес:** 119002 Москва, Сивцев Вражек, д. 41, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» (ФГБУ «НЦ ЭСМП») Минздрава РФ, Солдатов Александр Алексеевич. Тел.: 8 (499) 241-25-34.

**E-mail:** Patosold@mail.ru

### Авторы:

**Солдатов А. А.**, д.м.н., главный эксперт ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия;

**Авдеева Ж. И.**, д.м.н., проф., главный эксперт ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия;

**Бондарев В. П.**, д.м.н., профессор, директор Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия;

**Меркулов В. А.**, д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия.

Появление биотехнологических (биотерапевтических, генно-инженерных) препаратов является революционным этапом в терапии тяжёлых хронических заболеваний, таких как опухолевые,

аутоиммунные, воспалительные, инфекционные и др. Высокая эффективность биотерапевтических препаратов обусловлена таргетным механизмом действия, т.е. способностью взаимодействовать с «рецептором/лигандом-мишенью», который играет ключевую роль в патогенезе заболевания. Кроме того, биотерапевтические препараты, в отличие от традиционных химических препаратов не обладают токсичностью, так как метаболизируются в организме больного, как эндогенные белки.

Появление нового класса (биотерапевтические) препаратов привело к появлению и новых проблем, связанных с их безопасностью. Именно биологическая природа и таргетный механизм действия являются причинами их иммуногенности и побочных реакций, развитие которых обусловлено изменением функциональной активности (активация или блокирование) клеток системы иммунитета в результате взаимодействия препаратов моноклональных антител с рецепторами соответствующих клеток.

Разработка и применение биотерапевтических препаратов являются молодым научным направлением и в настоящее время мы имеем ещё много белых пятен, касающихся вопросов безопасности данного класса препаратов. В тоже время именно проблемы безопасности ограничивают применение данных препаратов в клинической практике.

При лечении биотерапевтическими препаратами среди побочных реакций (ПР) наиболее опасным и ранним по времени появление является развитие, так называемой реакции на инфузию, клинические проявления которой развиваются либо в процессе введения препарата, либо в самые короткие сроки (в течение суток) после введения препарата. Клинически реакция на инфузию чаще всего проявляется различными формами анафилаксии, или поражениями кожи, по степени тяжести выделяют легкую, средней тяжести и тяжелую степень реакции. Механизм развития реакции на инфузию связан со следующими процессами: синдром высвобождения цитокинов (CRS), реакция гиперчувствительности I типа (IgE-зависимая реакция) и IgG-обусловленные реакции.

Взаимодействие биотерапевтического препарата с «рецептором-мишенью» на иммунокомпетентных клетках может инициировать выброс цитокинов (медиаторов), с развитием CRS синдрома. Наиболее тяжелая степень CRS получила название «цитокиновый шторм». Патогенез развития CRS зависит от препарата. Например, при лечении ритуксимабом (моноклональное антитело (mAb) против CD20) при первом введении препарата связывание ритуксимаба с CD20 на В-клетках, может активировать систему комплемента и лизис В-клеток. Гибель В-клеток сопровождается выделением цитокинов и хемокинов, которые активируют эффекторные клетки (макрофаги, моноциты, NK и цитотоксические Т-лимфоциты), что приводит к выбросу цитокинов данными клетками [1]. Основными медиаторами CRS синдрома являются фактор некроза опухоли альфа, интерферон гамма и ИЛ-6.

Клинические проявления CRS синдрома очень сложно дифференцировать от IgE-зависимой реакции, характерным признаком клинической картины CRS синдрома является его развитие уже при первом введении препарата. В то время как для развития IgE-зависимой реакции необходим период сенсибилизации. В некоторых случаях больные могут быть сенсибилизированы до начала лечения препаратом, например,

при клинических исследованиях цетуксимаба (mAb против рецептора эпидермального фактора роста) часть больных, употреблявших красное мясо, уже была сенсибилизирована к гликоэпитопу 1,3-gal [2]. Определение специфических IgE антител к биотерапевтическим препаратам является сложной задачей. Возможно в результате этого, нет единого мнения о роли специфических IgE в развитии реакции на инфузию. В ряде исследований не удалось выявить специфические IgE у больных с клинической картиной реакции на введение. В то же время Matusci A., с соавт. [3], используя аналитическую платформу ImmunoCAT, установили наличие специфических IgE антитела к препарату у 30% больных с реакцией на инфузию при введении инфликсимаба.

В процессе лечения биотерапевтическими препаратами могут вырабатываться антитела различных классов, но обычно преобладают IgG антитела. При моделировании различных процессов на мышах было продемонстрировано, что IgG антитела к препарату, связываясь с FcγRIII рецепторами на макрофагах и базофилах, могут индуцировать выброс цитокинов (медиаторов), которые приводят к развитию клинической картины анафилаксии [4]. Кроме того, через активацию системы комплемента, IgG могут косвенно активировать тучные клетки.

Развитие реакции на инфузию возможно при одновременном развитии CRS синдрома и IgE-зависимой или IgG-обусловленной реакций.

Таким образом, применение биотерапевтических препаратов сопровождается развитием побочных реакций, среди которых наиболее опасными являются реакции на инфузию. Развитие реакции на инфузию может быть связано не только с синдромом CRS, но и реакциями, обусловленными специфическими IgE и IgG антителами. Однако механизмы развития реакции на инфузию и основные маркеры изучены слабо.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Wing M.* Monoclonal antibody first dose cytokine release syndrome—mechanisms and prediction. *J Immunot.* 2008; 5(1): 11–5.
2. *Chung C. H., Mirakhur B., Chan E., Le Q. T., Berlin J., Morse M., Murphy B. A., Satinover S. M., Hosen J., Mauro D., Slebos R. J., Zhou Q., Gold D., Hatley T,*

- Hicklin D. J., Platts-Mills T. A. Cetuximab induced anaphylaxis and IgE specific for galactose- $\alpha$ -1,3-galactose. *N Engl J Med.* 2008; 358(11): 1109–17.
3. *Matucci A., Pratesi S., Petroni G., Nencini F., Virgili G., Milla M., Maggi E., Vultaggio A.* Allergological *in vitro* and *in vivo* evaluation of patients with hypersensitivity reactions to infliximab. *Clin Exp Allergy.* 2013; 43(6): 659–64.
4. *Finkelman F. D.* Anaphylaxis: lessons from mouse model. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 120(3): 506–15.

## IMMUNOGENICITY AND SAFETY OF BIOTECHNOLOGICAL MEDICINES

© 2019 A. A. Soldatov\*, Zh. I. Avdeeva, V. P. Bondarev, V. A. Merkylov

\*E-mail: [Patosold@mail.ru](mailto:Patosold@mail.ru)

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia

Received: 04.03.2019. Accepted: 18.03.2019

The efficacy and safety of the use of biotechnological (biotherapeutic, genetic engineering) preparations are due to their targeted mechanism of action and low of toxicity, in contrast to traditional chemicals drugs. These features of biotherapeutic preparations also affect their safety profile. When treating with biotherapeutic preparations, the most major adverse reaction and the first developmental time is the so-called infusion reaction. The basis of the development of the reaction to the infusion of a biotherapeutic preparation may be one of the following reactions: cytokine release syndrome (CRS), type I hypersensitivity reaction (IgE-dependent allergic reaction) or IgG-mediated reaction. These reactions have a similar clinical picture, so it is difficult to clearly determine which mechanisms led to the development of the reaction to the infusion. The mechanisms of development of the reaction to the infusion are still poorly studied.

*Key word:* biotechnological preparations, biotherapeutic preparations, monoclonal antibodies, adverse reactions, reaction to infusion, hypersensitivity reactions, immunogenicity of preparations

### Authors:

**Soldatov A. A.**, ✉ DM, Chief Expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations, Moscow, Russia. **E-mail:** [Patosold@mail.ru](mailto:Patosold@mail.ru);

**Avdeeva Zh. I.**, DM, professor, Chief Expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations, Moscow, Russia;

**Bondarev V. P.**, DM, professor, Director of Centre of expertise of the medical immunobiological preparations quality, Moscow, Russia;

**Merkylov V. A.**, DM, professor, Deputy Director General for the expertise of drugs of Center for examination and control of medical immunobiological preparations, Moscow, Russia.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ВОСПАЛЕНИЯ, ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ИНСУЛЬТА

© 2019 г. Э. Ю. Соловьева\*, О. А. Баранова, А. В. Чеканов, Е. А. Тютюмова, А. И. Федин

\*E-mail: [ellasolovieva@yandex.ru](mailto:ellasolovieva@yandex.ru)

ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова МЗ РФ, Москва

Поступила: 13.03.2019. Принята: 26.03.2019

Проведено исследование индуцированной агрегации тромбоцитов, уровня маркеров иммунного воспаления, эндотелиальной дисфункции у пациентов в восстановительном периоде инсульта. Установлено, что и в раннем, и в позднем постинсультном периоде сохраняются признаки хронического иммунного воспаления, ассоциированного с эндотелиальной дисфункцией. Выделены группы риска повторного инсульта у пациентов в восстановительном периоде.

**Ключевые слова:** инсульт, воспаление, миелопероксидаза, sICAM-1

DOI: 10.31857/S102872210006974-6

**Адрес:** 117997 Москва, ул. Островитянова, д. 1, ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, НИЛ биомедицинских исследований в неврологии, Соловьева Элла Юрьевна. Тел./факс: +7(495) 3700011, 8(903) 5490518 (моб.).

**E-mail:** [ellasolovieva@yandex.ru](mailto:ellasolovieva@yandex.ru)

**Авторы:**

**Соловьева Э. Ю.**, д.м.н., профессор кафедры неврологии ФДПО, заведующий НИЛ биомедицинских исследований в неврологии, Москва, Россия;

**Баранова О. А.**, к.б.н., с. н. с. НИЛ биомедицинских исследований в неврологии, Москва, Россия;

**Чеканов А. В.**, к.б.н., с. н. с. НИЛ биомедицинских исследований в неврологии, Москва, Россия;

**Тютюмова Е. А.**, аспирант кафедры неврологии ФДПО; врач-невролог 1 неврологического отделения ЦКБ Святителя Алексия г. Москвы, Москва, Россия;

**Федин А. И.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедры неврологии ФДПО, Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение этиологических и патогенетических механизмов развития инсульта продолжает оставаться важной задачей современной медицины, так как инсульт является одной из основных причин смерти и глубокой и длительной инвалидизации населения. Среди всех нарушений мозгового кровообращения (НМК) ишемические инсульты (ИИ) диагностируются в 75–80% случаев [1]. У пациентов, уже перенесших инсульт или транзиторную ишемическую атаку, вероятность повторного инсульта возрастает

в 10 раз, причем наибольший риск наблюдается в течение первого года [2]. Повторные инсульты составляют около 25% от общего количества церебральных инсультов [3].

Одним из центральных звеньев патогенеза ишемического инсульта является активация хронического иммунного воспаления и связанного с ним оксидативного стресса, а также эндотелиальная дисфункция (ЭД), которые, в свою очередь, оказывают существенное влияние на процессы гемостаза, вплоть до развития тромбоза или эмболии. Отсюда вытекает цель данного исследования: выявить изменения в уровнях маркеров эндотелиальной дисфункции, воспаления, межклеточной адгезии и тромбоцитарного звена гемостаза у больных в раннем и позднем восстановительном периодах инсульта с целью выделения группы риска развития повторного острого эпизода нарушения мозгового кровообращения.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе кафедры неврологии ФДПО ГБОУ ВПО РНИМУ имени Н. И. Пирогова, заведующий кафедрой профессор, д.м.н. А. И. Федин. Набор материала осуществлялся в период с 2014 по 2018 гг. в неврологическом отделении № 1 ЦКБ Святителя Алексия г. Москва.

В исследование было включено 103 пациента, 73 из которых перенесли ишемический инсульт, атеротромботический подтип, а 30 человек составили группу контроля. Медиана возраста  $Me=65$  ( $LQ=60$ ;  $UQ=75$ ). Пациенты, включенные в исследование, были разделены на 2 группы в зависимости от срока давности инсульта: 1-я группа – пациенты с инсультом давностью от 1 до 6 месяцев (ранний восстановительный период), 2-я группа – пациенты с давностью инсульта от 7 до 12 месяцев (поздний восстановительный период).

Оценка сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза проводилась путем исследования агрегации тромбоцитов с индуктором аденозиндифосфат (АДФ) с помощью оптического агрегометра AggRAM, Helena (Великобритания) с использованием реагентов производства НПО «Ренам» (Россия), параметр оценки – степень агрегации (%). Определение концентраций маркера воспаления миелопероксидазы, маркеров эндотелиальной дисфункции ICAM-1, E-селектина проводили ИФА – методом с использованием стандартных наборов реагентов Hucult biotech, Голландия, кат. № НК324 (миелопероксидаза), наборов реагентов Bender MedSystems, Австрия, кат. № BMS241 (sICAM-1) и кат. № BMS205 (sE-селектин).

Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft, USA) версия 6. Для оценки характера распределения количественных данных проводился тест Шапиро-Уилка. В качестве критерия достоверности при сравнении двух несвязанных групп применялся критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми считались различия при  $p<0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании агрегации тромбоцитов выявлено усиление АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в обеих исследуемых группах пациентов, разделенных по сроку давности инсульта (группа 1–6 месяцев 85,6%, группа 7–12 месяцев 81,7%, норма – 50–80%), что свидетельствует о повышении активности тромбоцитов, гемостатической активации у пациентов в восстановительном периоде инсульта.

При оценке активности иммунного воспаления путем определения содержания миелопероксидазы в плазме крови было продемонстрировано достоверное повышение уровня МПО (нг/мл) у постинсультных пациентов по

сравнению с группой контроля (группа условно здоровых лиц  $Me=89$  ( $LQ=30,7$ ;  $UQ=103,9$ ), пациенты  $Me=544$  ( $LQ=490$ ;  $UQ=684,8$ ),  $p<0,05$ ).

При сравнении уровня МПО в двух группах пациентов, распределенных в зависимости от срока давности инсульта, статически достоверных отличий не выявлено, что указывает на наличие именно хронического иммунного воспаления, отсутствие острого прогрессирования ишемии мозга.

Принимая во внимание сочетание усиления АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов и увеличения уровня МПО, можно предполагать усиление лейкоцитарно-тромбоцитарных взаимодействий с формированием лейкоцитарно-тромбоцитарных агрегатов, их адгезией к поврежденному эндотелию, последующим нарастанием эндотелиальной дисфункции, гиперкоагуляции, усилением развития атеротромбоза.

В связи с тем, что иммунное воспаление в патогенезе атеротромбоза и его осложнений (в том числе и инсульта) ассоциировано с эндотелиальной дисфункцией, проводилось исследование ее маркеров путем определения содержания в плазме крови ICAM-1 (молекул межклеточной адгезии) и E-селектина. Показано, что количество sICAM-1 (нг/мл) в плазме крови был достоверно выше у пациентов по сравнению с группой контроля (группа условно здоровых лиц  $Me=230,3$  ( $LQ=129,9$ ;  $UQ=297,4$ ), пациенты  $Me=3584,2$  ( $LQ=2973,5$ ;  $UQ=4353,7$ ),  $p<0,05$ ).

При сравнительном анализе концентрации sICAM-1 в исследуемых группах постинсультных пациентов, выявлены достоверные различия – уровень sICAM-1 был достоверно выше в группе пациентов с давностью инсульта 7–12 месяцев ( $Me=3338,5$  ( $LQ=2900,2$ ;  $UQ=4106,3$ ),  $Me=4214,3$  ( $LQ=3584,5$ ;  $UQ=5013$ ),  $p=0,0045$ ).

Литературных данных, объясняющих возможную причину повышения концентрации молекул межклеточной адгезии у пациентов в позднем восстановительном периоде инсульта, не встречается, но, по нашему мнению, это можно представить следующим образом: в острой фазе инсульта за счет напряжения противовоспалительного ответа организма происходит компенсация воспаления и эндотелиальной дисфункции [4], однако в связи с продолжающейся активностью воспалительных процессов в сосудистой стенке и истощением противовоспалительных механизмов, хроническое эндотелиальное воспаление прогрессирует, что находит свое отражение в виде повышения концентрации молекул адгезии (sICAM-1) в позднем восстано-

вительном периоде инсульта, что может способствовать усугублению процесса развития сосудисто-мозговой недостаточности и реализации острого нарушения мозгового кровообращения. Таким образом, пациенты в позднем восстановительном периоде могут быть выделены в группу повышенного риска повторного инсульта.

При определении содержания sE-селектина ожидаемого повышения его уровня параллельно с sICAM-1 не обнаружено. Напротив, содержание sE-селектина (нг/мл) достоверно ниже у постинсультных пациентов по сравнению с группой контроля (Me=24 (LQ=20,2; UQ=34,2), Me=50,5 (LQ=17,5; UQ=88,1), соответственно). Подобные противоречивые данные встречаются и в литературе [5]. Механизмы снижения уровня sE-селектина у постинсультных пациентов требуют уточнения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Суслина З. А., Танащян М. М., Лагода О. В. Атеросклероз и ишемические нарушения мозгового кровообращения. Атеротромбоз. 2009, 3(2), 60–67.
2. European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008. *Cerebrovasc Dis.* 2008, 25(5), 457–507. doi: 10.1159/000131083.
3. Панченко Е. П. Атеротромбоз: механизмы развития и реально проводимая терапия. Атеротромбоз. 2008, 1, 22–27. [Panchenko E. P. Aterotromboz: mekhanizmy razvitija i real'no provodimaja terapija. *Aterotromboz.* 2008, 1, 22–27].
4. Максимова М. Ю., Комелькова Л. В., Охтова Ф. Р. Факторы межклеточного взаимодействия при ишемическом инсульте. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2014, 2, 15–20. [Maksimova M. Yu, Komel'kova L. V., Okhtova F. R. Factors of intercellular interaction in acute ischemic stroke. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S. S. Korsakova.* 2014, 114(2), 15–20.]
5. Fathollahi A., Massoud A., Amirzargar A. A., Aghili B., Nasli Esfahani E., Rezaei N. sICAM-1, sVCAM-1 and sE-Selectin Levels in Type 1 Diabetes. *Fetal Pediatr Pathol.* 2018, 37(1), 69–73. doi: 10.1080/15513815.2017.1405467.

### THE RELATIONSHIP OF INFLAMMATION, ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND CELLULAR LINK HEMOSTASIS IN PATIENTS DURING THE RECOVERY PERIOD OF STROKE

© 2019 E. Yu. Soloveva\*, O. A. Baranova, A. V. Chekanov, E. A. Tyutyumova, A. I. Fedin

\*E-mail: ellasolovieva@yandex.ru

Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow, Russia

Received: 13.03.2019. Accepted: 26.03.2019

A study of induced platelet aggregation, the level of markers of immune inflammation, endothelial dysfunction in patients during the recovery period of stroke. It has been established that both in the early and in the late post-stroke period, signs of chronic immune inflammation associated with endothelial dysfunction persist. The risk groups for recurrent stroke in patients during the recovery period were identified.

*Key words:* stroke, inflammation, myeloperoxidase, sICAM-1

#### Authors:

**Solovyova E. Yu.**, ✉ MD, PhD, Professor of the Department of Neurology, Faculty of Pediatric Surgery, Head of the Laboratory for Biomedical Research in Neurology, Moscow, Russia. E-mail: ellasolovieva@yandex.ru;

**Baranova O. A.**, PhD, Senior Researcher, Scientific Research Laboratory of Biomedical Research in Neurology, Moscow, Russia;

**Chekanov A. V.**, Ph.D., Senior Researcher, Scientific Research Laboratory of Biomedical Research in Neurology, Moscow, Russia;

**Tyutyumova E. A.**, Post-Graduate Student, Department of Neurology, FDPO, doctor 1 neurological department of the Central Clinical Hospital of St. Alexis of Moscow, Moscow, Russia;

**Fedin A. I.**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Neurology, FDPO, Moscow, Russia.

## ДИФФЕРЕНЦИРОВКА CD8<sup>+</sup> ЛИМФОЦИТОВ И ИХ ЦИТОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ У ЖЕНЩИН С УГРОЖАЮЩИМИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫМИ РОДАМИ

© 2019 г. Н. Ю. Сотникова, Н. Ю. Борзова, Н. Р. Раджабова\*

\*E-mail nailaradjabova@yandex.ru

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия

Поступила: 13.03.2019. Принята: 29.03.2019

Целью работы было установить особенности дифференцировки эффекторных цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) у женщин с угрожающими преждевременными родами (УПР). Обследовано 100 беременных женщин в сроки 24–34 недели: основную группу составили 44 женщины с УПР, группу контроля – 56 женщин с неосложненным течением гестации. Было исследовано относительное содержание CD8<sup>+</sup> клеток, наивных CD8<sup>+</sup> клеток (Tn), CD8<sup>+</sup> клеток памяти: центральных (Tcm), претерминально-дифференцированных (Tem) и терминально-дифференцированных (Temra). Содержание CD8<sup>+</sup> клеток, продуцирующих Perforin, оценивали в общей популяции лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>Perf<sup>+</sup>), а также в популяциях CD8<sup>+</sup> Tcm, Tem, Temra. Результаты исследования показали, что для женщин с УПР было характерно достоверное повышение относительного содержания CD8<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Perf<sup>+</sup> клеток. В популяции CD8<sup>+</sup> лимфоцитов у женщин с УПР достоверно повышалось содержание наивных клеток и имела тенденция к снижению уровня центральных клеток памяти. Кроме того, отмечалось достоверное повышение по сравнению с контролем содержания Perforin-продуцирующих клеток во фракциях Tcm, Tem и Temra клеток памяти.

**Ключевые слова:** угрожающие преждевременные роды, беременность, цитотоксические Т-лимфоциты, клетки памяти, цитотоксические молекулы, перфорин

DOI: 10.31857/S102872210006975-7

Адрес: 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения РФ, научный отдел акушерства и гинекологии. Раджабова Наиля Рустамовна. Тел.: 8905 155 67 27(моб.).

E-mail: nailaradjabova@yandex.ru

**Авторы:**

**Сотникова Н. Ю.**, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия;

**Борзова Н. Ю.**, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела акушерства и гинекологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия;

**Раджабова Н. Р.**, младший научный сотрудник отдела акушерства и гинекологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В. Н. Городкова» Минздрава России, Иваново, Россия.

Преждевременные роды остаются одной из актуальных проблем современного акушерства и имеют множество причин, однако, основным патогенетическим механизмом, через которые они реализуются, является конфликт материнского организма и плода [1]. По данным ли-

тературы преждевременное развитие родовой деятельности во многом ассоциируется с усилением цитотоксических реакций Т-лимфоцитов, обусловленных нарушением иммунной толерантности материнского организма, в ряде случаев в результате инфекционного процесса [2]. Эти данные позволяют предположить, что при преждевременных родах происходит избыточная стимуляция ЦТЛ с последующим формированием эффекторных клеток памяти, обладающих высоким цитотоксическим потенциалом. В настоящее время установлена динамика содержания клеток памяти в популяции ЦТЛ при неосложненной беременности, а также показано, что нарушение их дифференцировки является одним из патогенетических механизмов невынашивания беременности в ранние сроки [3, 4]. Однако, до сих пор нет данных о содержании и функциональной активности этих клеток при УПР.

**Целью** работы было установить особенности дифференцировки эффекторных цитотоксических Т-лимфоцитов у женщин с угрожающими преждевременными родами.

На базе акушерской клиники Ивановского НИИ МиД им. В. Н. Городкова Минздрава России проводилось обследование 100 беременных женщин в сроки 24–34 недели: основную группу составили 44 женщины с угрожающими преждевременными родами, группу контроля – 56 женщин с неосложненным течением гестации. Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь. Методом многоцветной проточной цитофлуориметрии на приборе FACSCantoII (Becton Dickinson, США) в популяции лимфоцитов исследовали относительное содержание CD8<sup>+</sup> клеток, наивных CD8<sup>+</sup> клеток с фенотипом CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> (Tn), CD8<sup>+</sup> клеток памяти: центральных CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>+</sup> (Tcm), претерминально-дифференцированных CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>-</sup> (Tem) и терминально-дифференцированных CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup> (Tetra). Содержание CD8<sup>+</sup> клеток, продуцирующих Perforin, оценивали в общей популяции лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>Perf<sup>+</sup>), а также в популяциях CD8<sup>+</sup>Tcm, Tem, Tetra. Статистическая обработка данных проводилась по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения в пакете прикладных лицензионных программ «Statistica 6.0», Microsoft Excel из пакета «Microsoft Office 2007». Для определения достоверности различий величин использовался t-критерий Стьюдента.

Результаты исследования показали, что для женщин с УПР было характерно достоверное повышение относительного содержания CD8<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>Perf<sup>+</sup> клеток по сравнению с показателями в контрольной группе (p<0,001 в обоих случаях). В популяции CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-лимфоцитов у женщин с УПР достоверно повышалось содержание наивных клеток (p<0,05) по сравнению с контролем. Кроме того, отмечалось достоверное повышение по сравнению с контролем содержания Perforin-продуцирующих клеток во фракциях центральных (p<0,02), претерминально-дифференцированных (p<0,001) и терминально-дифференцированных (p<0,05) клеток памяти.

Полученные данные о повышении относительного содержания ЦТЛ, вероятно, в результате повышения уровня наивных клеток, позволя-

ют предположить, что усиление цитотоксических реакций при преждевременных родах может быть одним из патогенетических механизмов, что косвенно подтверждается литературными данными. Однако, повышение содержания эффекторных CD8<sup>+</sup> клеток памяти, продуцирующих Perforin, свидетельствует о том, что эти же факторы стимулируют проявление их функциональной активности. Накопление Perforin в составе цитоплазматических гранул цитотоксическими Т-клетками происходит по мере их рожденных клеток, способных к осуществлению антиген-специфических цитотоксических реакций, в том числе и в отношении антигенов плодового происхождения. Perforin – одна из основных эффекторных молекул цитотоксических Т-лимфоцитов, приводящая к запуску процессов, индуцирующих апоптоз [5]. Таким образом, наше исследование может косвенно свидетельствовать об активации апоптоза на уровне фетоплацентарного комплекса, опосредованного действием эффекторных клеток памяти, у женщин с угрожающими преждевременными родами.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Romero R., Chaemsaihong P., Chaiyasit N., Ducheve N., Dong Z., Kim C.J., Kim Y.M., Kim J.S., Qureshi F., Jacques S.M., Yoon B.H., Chaiworapongsa T., Yeo L., Hassan S.S., Erez O., Korzeniewski S.J. CXCL10 and IL-6: Markers of two different forms of intra-amniotic inflammation in preterm labor. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2017;78(1):1–62.
2. Lee J., Romero R., Xu Y., Kim J.S., Topping V., Yoo W., Chaiworapongsa T., Mittal P., Hassan S.S., Kim C.J. A signature of maternal anti-fetal rejection in spontaneous preterm birth: chronic chorioamnionitis, anti-human leukocyte antigen antibodies *Histopathology* 2011; 59(5): 928–38.
3. Кудряшова А. В., Кадырова Л. В. Дифференцировка CD<sup>+</sup> клеток памяти при беременности. *Российский иммунологический журнал* 2014, 8(17), 1, 79–82. [Kudryashova A. V., Kadyrova L. V. Differentiation of the CD cells of memory during pregnancy. *Russian journal of immunology* 2014, 8(17), 1, 79–82.]
4. Кадырова Л. В., Борзова Н. Ю., Иваненкова Н. И. Особенности дифференцировки Т-лимфоцитов при невынашивании в ранние сроки гестации. / *Российский иммунологический журнал* 2013, 7(16), 2–3, 275. [Kadyrova L. V., Borzova N. Yu., Ivanenkova N. I. Features of differentiation of T-lymphocytes in the miscarriage in early terms of gestation. / *Russian journal of immunology* 2013, 7(16), 2–3, 275]
5. Barry M., Bleackley R. C. Cytotoxic T-lymphocytes: all roads lead to death. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002, Vol. 2, no. 6, pp. 401–409.

## DIFFERENTIATION OF CD8<sup>+</sup> LYMPHOCYTES AND THEIR CYTOLYTIC ACTIVITY IN WOMEN WITH THREATED PRETERM LABOR

© 2019 N. Yu. Sotnikova, N. Yu. Borzova, N. R. Radjabova\*

\*E-mail [nailaradjabova@yandex.ru](mailto:nailaradjabova@yandex.ru)

Federal State Institution "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov" the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia

Received: 13.03.2019. Accepted: 29.03.2019

The aim of this work was to determine the features of differentiation of effector cytotoxic T lymphocytes (CTL) in women with threatened preterm labor. Under observation were 100 pregnant women of 24–34 weeks of pregnant: the main group consisted of 44 women with threatened preterm labor, control group – of 56 women with uncomplicated course of gestation. The relative content of CD8 cells, CD8 naïve cells (Tn), CD8 memory cells: Central (Tcm), preterminal-differentiated (Tem) and terminal differentiated (Temra) was studied in peripheral blood. The content of CD8 cells producing Perforin was assessed in the total population of lymphocytes (CD8 Perf), as well as in populations of CD8 Tcm, Tem, Temra cells. The results of the study showed that women with threatened preterm labor was characterized by a significant increase in the relative content of CD8 and CD8 Perf<sup>+</sup> lymphocytes. The content of naive cells was significantly increased in the population of CD8 CTLs in women with exercise. In addition, there was a significant increase compared to that in control group the content of Perforin-producing cells in the fractions of Tcm, Tem and Temra cell memory.

*Key words:* threatened preterm labor, pregnancy, cytotoxic T-lymphocytes, memory cells, cytotoxic molecules, perforin

### Authors:

**Sotnikova N. Y.**, MD, head of the laboratory of clinical immunology, Federal State Budget Establishment Institution "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov" at the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Borzova N. Yu.**, MD, assistant professor, senior researcher of Department of obstetrics and gynecology, Federal State Budget Establishment Institution "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov" at the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia;

**Radjabova N. R.**, ✉ junior researcher of the Department of Obstetrics and Gynecology Neonatology, Federal State Institution "Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkov" the Ministry of Health of Russia, Ivanovo, Russia.

**E-mail:** [nailaradjabova@yandex.ru](mailto:nailaradjabova@yandex.ru)

## СОВРЕМЕННЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ СЕПСИСА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЫШЕЙ: ДОСТОИНСТВА И НЕДОСТАТКИ

© 2019 г. О. В. Старкина, Н. А. Илюкина, Ч. Л. Василев\*

\*E-mail: [tchavdarv@gmail.com](mailto:tchavdarv@gmail.com)

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 12.03.2019

Сепсис изучается *in vivo* с использованием моделей на мышах. Золотым стандартом является модель, основанная на индукции перитонита с перевязкой слепой кишки и проколом. Также часто используется модель, основанная на введении липополисахарида. В настоящее время активно ведется обсуждение недостатков этих моделей и невозможность применения результатов, полученных на данных моделях, к септическим состояниям человека. О несостоятельности существующих моделей сепсиса было заявлено в публикации Ж.-М. Кавайона «New Approaches to Treat Sepsis: Animal Models «Do Not Work» [1]. В своем обзоре автор поставил под сомнение актуальность используемых экспериментальных моделей, однако не упомянул модель, предложенную Фальком Гоннертом и соавторами в статье «Characteristics of Clinical Sepsis Reflected in a Reliable and Reproducible Rodent Sepsis Model». В данном обзоре пойдет речь о преимуществах данной модели сепсиса перед моделями, использованными ранее.

**Ключевые слова:** иммунология, сепсис, экспериментальная модель сепсиса

DOI: 10.31857/S102872210006976-8

Адрес: 603950, Н. Новгород, проспект Гагарина, 23, ИББМ ФГАОУ ВО ННГУ им. Н. И. Лобачевского, кафедра нейротехнологий, Старкина О. В.

E-mail: [tchavdarv@gmail.com](mailto:tchavdarv@gmail.com)

Авторы:

Старкина О. В., м.н.с. кафедры нейротехнологий ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н. И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия;

Илюкина Н. А., студент ИББМ ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н. И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия;

Василев Ч. Л., с.н.с. кафедры нейротехнологий ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н. И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия.

Сепсис вызывает больше смертей, чем рак предстательной железы, рак молочной железы и ВИЧ/СПИД вместе взятые. В глобальном масштабе ежегодно регистрируется 20–30 миллионов случаев сепсиса. Эксперты в этой области считают, что сепсис фактически отвечает за большую часть смертности, связанной с ВИЧ/СПИДом, малярией, пневмонией и другими инфекциями [2]. В связи с этим особую важность в изучении заболевания и поиске путей лечения играет моделирование процесса с использованием лабораторных животных. На сегодняшний

день по ряду причин (низкая стоимость, малые размеры, высокая скорость размножения) мыши наиболее часто используются в лабораториях в качестве экспериментальных животных. В рамках модели сепсиса следует учитывать устойчивость мышей к возбудителям инфекции. В связи с этим важно правильно рассчитывать бактериальную нагрузку для эксперимента. Немаловажно знать, что не все линии мышей одинаково восприимчивы к возбудителям болезни. Кроме того, самцы и самки мышей имеют разную чувствительность к инфекциям. Также на устойчивость к инфекциям влияет возраст особи: молодые мыши более устойчивы к летальным дозам заражения [3].

Перейдем к основным лабораторным моделям для изучения сепсиса.

1. *Модель сепсиса путем перевязки и пункции слепой кишки (cecal ligation and puncture, CLP)*. Модель предложена в 1979 году Иршадом Чаудри. Данная модель имитирует перитонит с ишемией тканей. Ограничения: – плохая воспроизводимость эксперимента (масштаб зара-

жения трудно контролировать); – бактериальный состав кишечника грызуна и технические особенности проведения методики влияют на прогрессирование сепсиса и смертность [4]; – CLP больше напоминает внутрибрюшное образование ограниченного абсцесса, чем диффузный перитонит.

2. *Модель in vivo с введением липополисахарида (LPS)*. Широко используется для изучения патофизиологии сепсиса, проста в исполнении, хорошо воспроизводима. Ограничения: – не отражает сложности процесса сепсиса у человека; – невозможность переноса результатов на человека (чувствительность мыши и человека к липополисахариду отличаются).

3. *Модель сепсиса, основанная на внутрибрюшинном введении фекальной суспензии*. Данная модель предложена Фальком Гоннертоном и соавторами и подробно изложена в их статье [5]. Фекальная суспензия (смесь образцов от трех здоровых доноров), используемая в этой модели, содержит большое разнообразие различных микроорганизмов. Инъекция фекальной суспензией ведет к диффузному перитониту, сопровождающемуся системным воспалением. Измерение биохимических маркеров позволило подтвердить, что реакция сопровождается нарушениями в функционировании органов. Дисфункция печени считается критическим событием в ходе сепсиса человека [6]. Преимущество данной модели – возможность вызвать сепсис различной степени тяжести, путем изменения количества вводимой фекальной суспензии или изменения схемы лечения. Еще одним важным преимуществом данной модели является простота метода. Процедура приготовления фекальной суспензии, а также самой инъекции может быть выполнена стандартизированным способом, с минимальным количеством переменных, влияющих на результат. Показатели выживаемости могут быть изменены при помощи лечения антибиотиками. Физиологические и воспалительные изменения при этих условиях в вышеуказанной статье исследованы не были. Воспроизводимость является обязательным требованием для любой

экспериментальной модели. Авторы данной модели проверяли ее воспроизводимость в рамках лаборатории в течение 16 месяцев с использованием аликвот, взятых из одной порции замороженного фекального биоматериала. Бактерии могут сохраняться в течение нескольких лет при хранении при  $-80^{\circ}\text{C}$  [7]. Однако микробиологический анализ, проведенный через 3 года после первоначального анализа, показал, что количество КОЕ бактерий существенно снизилось, хотя смертность в результате инъекций оставалась на том же уровне. В заключении хочется еще раз отметить, что описанная модель индукции сепсиса при помощи внутрибрюшинного введения фекальной суспензии имеет ряд ключевых преимуществ, что делает ее альтернативой другим существующим моделям сепсиса на мышах.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Jean-Marc Cavaillon*. New Approaches to Treat Sepsis: Animal Models «Do Not Work» (Review), *General Reanimatology*, 2018, 14; 3.
2. *Jean-Louis Vincent*. Increasing awareness of sepsis: World Sepsis Day, *Critical Care*. 2012, 16:152.
3. *Gingles N. A., Alexander J. E., Kadioglu A., Andrew P. W., Kerr A., Mitchell T. J., Hopes E., Denny P., Brown S., Jones H. B., Little S., Booth G. C., McPheat W. L.* Role of genetic resistance in invasive pneumococcal infection: identification and study of susceptibility and resistance in inbred mouse strains. *Infect. Immun.* 2001, 69 (1): 426–34.
4. *Angele M. K., Pratschke S., Hubbard W. J., Chaudry I. H.* Gender differences in sepsis: cardiovascular and immunological aspects. *Virulence*. 2014, 1; 5(1):12–9.
5. *Falk A. Gonnert M. D., Peter Recknagel, Madlen Seidel, Nayla Jbeily, M. S., Katja Dahlke, Clemens L. Bockmeyer, M. D., Johannes Winning, M. D., Wolfgang Losche, M. D., Ralf A. Claus and Michael Bauer, M. D.* Characteristics of Clinical Sepsis Reflected in a Reliable and Reproducible Rodent Sepsis Model, *Journal of Surgical Research*. 2011, 170, 123.
6. *Dyson A., Singer M.* Animal models of sepsis: Why does preclinical efficacy fail to translate to the clinical setting? *Crit Care Med*. 2009, 37(1 Suppl):30–7.
7. *Dan M., Richardson J., Miliotis M. D., Koornhof H. J.* Comparison of preservation media and freezing conditions for storage of specimens of feces, *J Med Microbiol*. 1989, 28(2):151–4.

**EXPERIMENTAL MICE SEPSIS MODELS: ADVANTAGES AND PITFALLS**

© 2019 O. V. Starkina, N. A. Ilyukina, T. L. Vassilev\*

\*E-mail: tchavdarv@gmail.com

Lobachevsky State University of Nizhniy Novgorod, Nizhniy Novgorod, Russia

**Received:** 28.02.2019. **Accepted:** 12.03.2019

Sepsis is studied *in vivo* by using experimental mice models. The golden standard is the model which utilizes peritonitis induction by cecal ligation and puncture. Lipopolysaccharide injection is often used for induction of septic process as well. Currently, the researches discuss disadvantages of these models and poor modeling capability of mice sepsis compared to septic processes which take place in humans. The throughout discussion is present in the article by Cavaillon J. M. “New Approaches to Treat Sepsis: Animal Models Do Not Work” [1]. In this review the author questioned the sepsis animal models used nowadays, but he didn’t mentioned the experimental model described by Gonnert F. A. et al. in their work «Characteristics of Clinical Sepsis Reflected in a Reliable and Reproducible Rodent Sepsis Model». Our review briefly discusses the advantages of this model compared to the other animal sepsis models.

*Key words:* sepsis, sepsis experimental models

**Авторы:**

**Starkina O. V.**, junior scientist, Neurotechnologies Department Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhniy Novgorod, Russia; Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhniy Novgorod, Russia;

**Ilyukina N. A.**, student, Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhniy Novgorod, Russia;

**Vassilev T. L.**, ✉ senior scientist, Neurotechnologies Department Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhniy Novgorod, Russia. **E-mail:** tchavdarv@gmail.com

## ВКЛАД МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В ФОРМИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СТРАТЕГИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2019 г. М. Н. Стахеева<sup>1,2\*</sup>, М. Р. Патьшева<sup>1</sup>, Н. А. Тарабановская<sup>1</sup>,  
Ю. Г. Кжышкова<sup>2</sup>, Н. В. Чердынцева<sup>1,2</sup>

\*E-mail: stakheyevam@oncology.tomsk.ru

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный  
университет», Томск, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 14.03.2019

Выполнена оценка фенотипических и экспрессионных характеристик моноцитов периферической крови во взаимосвязи с противоопухолевым и опухолестимулирующим состоянием иммунной системы. Показано, что благоприятное состояние иммунной системы, связанное с длительной клинической ремиссией, характеризуется более высоким уровнем функциональной активации моноцитов периферической крови, что проявляется в более выраженной экспрессии генов TNF $\alpha$  и YLK-39 и более высокой доли TLR2<sup>+</sup> моноцитов по сравнению с соответствующими показателями у пациенток с неблагоприятным статусом.

**Ключевые слова:** иммунная система, рак молочной железы, моноциты

DOI: 10.31857/S102872210006977-9

**Адрес:** 634050 Томск, пер. Кооперативный, 5, НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, лаборатория молекулярной онкологии и иммунологии. Стахеева Марина Николаевна. Тел.: +79039158528.

**E-mail:** stakheyevam@oncology.tomsk.ru

**Авторы:**

**Стахеева М. Н.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии ТНИМЦ РАН, Томск, Россия; старший научный сотрудник лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ, Томск, Россия;

**Патьшева М. Р.**, врач-лаборант лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Тарабановская Н. А.**, к.м.н., научный сотрудник отделения общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия;

**Кжышкова Ю. Г.**, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ, Томск, Россия;

**Чердынцева Н. В.**, д.б.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, ведущий научный сотрудник лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины НИ ТГУ, Томск, Россия.

В настоящее время известно, что наряду с противоопухолевой функцией иммунной системе присуща активность, способствующая опухоле-

вому росту и прогрессии [1, 2]. В своих предыдущих работах мы сформулировали представление о противоопухолевой и опухолестимулирующей стратегии функционирования иммунной системы, реализуемой на системном уровне и связанной с клиническим течением и исходом онкологического заболевания [3].

Интегральное состояние складывается из активности отдельных элементов многокомпонентной иммунной системы, которые обладают как противоопухолевой, так и опухолестимулирующей активностью. Так, M1-поляризованные макрофаги проявляют цитотоксичность в отношении опухолевых клеток. M2-поляризованные макрофаги способствуют опухолевой прогрессии [4]. Однако для предшественников тканевых макрофагов – моноцитов – в настоящее время не выявлена подобная дуальность свойств в отношении опухоли.

**Целью исследования** явилось изучение взаимосвязи особенностей моноцитов периферической крови с интегрированным состоянием иммунной системы (противоопухолевым или опухолестимулирующим) у больных РМЖ.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 34 пациентки с впервые установленным и морфологически подтвержденным РМЖ. Пациентки были разделены на 2 группы в зависимости от интегрального состояния иммунной системы, которое оценивали в соответствии с авторским методом [3]. Исследование иммунологических параметров, необходимых для включения в интегральную модель, проводили до начала противоопухолевого лечения. Для характеристики пула моноцитов исследовали их фенотипические особенности методом проточной цитофлуориметрии. Для анализа уровня экспрессии генов проводили количественную ПЦР в режиме реального времени.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка состояния иммунной системы с использованием авторского метода на основе визуализации многомерных данных Novospark Visualizer выявила у 20 больных РМЖ неблагоприятное состояние иммунной системы, ассоциированное с развитием прогрессирования опухолевого процесса. Благоприятное состояние иммунной системы, которое связано с длительной клинической ремиссией, было отмечено у 14 пациенток. У больных РМЖ с благоприятным состоянием иммунной системы, было выявлено более высокое количество моноцитов, экспрессирующих TLR2 (CD282) молекулу на клеточной поверхности:  $89,69 \pm 2,50\%$  от всего пула моноцитов периферической крови в сравнении с  $72,62 \pm 5,68\%$  у пациенток с неблагоприятным состоянием иммунной системы ( $p < 0,05$ ). Вероятно, в случае злокачественного роста, увеличение популяции моноцитов, экспрессирующих TLR, не столько отражает воспалительный процесс, сколько обеспечивает такое преимущество, как индукцию врожденного иммунного ответа, в том числе и на антигены опухолевой природы. Благоприятное состояние иммунной системы у больных РМЖ связано с более высоким уровнем экспрессии генов TNF $\alpha$  и YLK-39,

чем у пациенток с неблагоприятным статусом ( $0,75 \pm 0,17$  против  $0,30 \pm 0,07$  и  $0,85 \pm 0,17$  против  $0,47 \pm 0,09$  соответственно,  $p < 0,05$ ). Поскольку, ген TNF $\alpha$  относится к маркерам провоспалительных M1-поляризованных клеток моноцитарно-макрофагального ряда, в то время как YLK-39 связывают с M2-поляризацией, то следует связать благоприятное состояние иммунной системы не с определенным типом поляризации клеток моноцитарной линии гемопоэза, а с некоторой общей функциональной активацией данного пула.

Таким образом, проведенное исследование показало, что моноциты периферической крови вносят вклад в реализацию интегральной стратегии иммунной системы в отношении злокачественной опухоли молочной железы. Благоприятное состояние иммунной системы, связанное с длительной клинической ремиссией, характеризуется более высоким уровнем функциональной активации моноцитов периферической крови, что проявляется в более выраженной экспрессии генов TNF $\alpha$  и YLK-39 и более высокой доли TLR2<sup>+</sup> моноцитов по сравнению с соответствующими показателями у пациенток с неблагоприятным статусом.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17–29–06037).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Swann J. B., Smyth M. J. Immune surveillance of tumors. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007, 117(5), 1137–1146.
2. Zitvogel L., Galluzzi L., Smyth M. J., Kroemer G. Mechanism of Action of Conventional and Targeted Anti-cancer Therapies: Reinstating Immunosurveillance. *Immunity*. 2013, 39, 74–88.
3. Stakheyeva M., Eidenzon D., Cherdynitseva N., Slonimskaya E., Cherdynitsev E. Multidimensional Visualization for the Immune System State Presentation in Breast Cancer Patients. 5th International Scientific Conference on New Operational Technologies (NEWOT); 2015, AIP Conf. Proc. 1688, 080003–1–080003–4.
4. Biswas S. K., Mantovani A. Macrophages: biology and role in the pathology of diseases. New York: Springer. 2014, 7–11.

## CONTRIBUTION OF PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES IN THE FUNCTIONAL STRATEGY OF THE IMMUNE SYSTEM IN BREAST CANCER

© 2019 M. N. Stakheyeva<sup>1,2\*</sup>, M. R. Patysheva<sup>1</sup>, N. A. Tarabanovskaya<sup>1</sup>, J. G. Kzhyshkowska<sup>2</sup>, N. V. Cherdyntseva<sup>1,2</sup>

\*E-mail: [stakheyevam@oncology.tomsk.ru](mailto:stakheyevam@oncology.tomsk.ru)

<sup>1</sup>Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the RAS, Tomsk, Russia;

<sup>2</sup>Tomsk State University, Tomsk, Russia;

Received: 28.02.2019. Accepted: 14.03.2019

The phenotypic and expression characteristics of peripheral blood monocytes were evaluated in relationship to the antitumor and tumor-stimulating state of the immune system. It has been shown that the favorable state of the immune system associated with prolonged clinical remission is characterized by a higher level of functional activation of peripheral blood monocytes, which is manifested in a more pronounced expression of the TNF $\alpha$  and YLK-39 genes and a higher proportion of TLR2<sup>+</sup> monocytes compared with the corresponding indicators in patients with unfavorable status.

*Key words:* The immune system, breast cancer, monocytes

### Authors:

**Stakheyeva M. N.**, ✉ MD, PhD, the leading of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the RAS, Tomsk, Russia; the senior researcher of the laboratory of translational cellular and molecular biomedicine, Tomsk State University, Tomsk, Russia. **E-mail:** [stakheyevam@oncology.tomsk.ru](mailto:stakheyevam@oncology.tomsk.ru);

**Patysheva M. R.**, junior researcher of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia;

**Tarabanovskaya N. A.**, PhD, researcher of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia;

**Kzhyshkowska J. G.**, PhD, Professor, the Head of the Laboratory of translational cellular and molecular biomedicine, Tomsk State University, Tomsk, Russia;

**Cherdyntseva N. V.**, PhD, Professor, Corresponding member of Russian Academy of Sciences, the Head of the Laboratory of Molecular oncology and immunology of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia; The leading researcher of Laboratory of translational cellular and molecular biomedicine, Tomsk State University, Tomsk, Russia.

## ОЦЕНКА ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ -819С/Т, -592С/А IL-10 У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ КАК ГЕНЕТИЧЕСКОГО ФАКТОРА РИСКА

© 2019 г. Д. С. Сташкевич<sup>1\*</sup>, Т. А. Сулова<sup>1,2</sup>, А. Л. Бурмистрова<sup>1</sup>

\*E-mail: stashkevich\_dary@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», Челябинск, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 14.03.2019

В исследовании проведена оценка распределения частот встречаемости аллелей, генотипов и комбинаций генотипов, образованных SNPs -819, -592 IL-10. Установлено, в группе больных РА распределение соответствует таковому в европеоидных популяциях. Не выявлена ассоциация генетического полиморфизма SNPs -819, -592 IL-10 с предрасположенностью к РА у русских Челябинской области.

**Ключевые слова:** генетический полиморфизм, интерлейкин 10, ревматоидный артрит

DOI: 10.31857/S102872210006978-0

Адрес: 454001 Челябинск, ул. Братьев Кашириных, 129, ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», биологический факультет, Сташкевич Дарья Сергеевна. Тел.: +7 (351) 799 71 54

E-mail: stashkevich\_dary@mail.ru

Авторы:

**Сташкевич Д. С.**, канд. биол. наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия;

**Сулова Т. А.**, канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», зав. ОМБД ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», Челябинск, Россия;

**Бурмистрова А. Л.**, д-р мед. наук, заведующая кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия.

Ревматоидный артрит (РА) — это хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся синовитом и постоянным воспалением суставов, одним из ключевых компонентов которого является дисбаланс про/противовоспалительных цитокинов [1]. Синовиальные макрофаги и фибробласты синтезируют в суставе множество провоспалительных факторов, вовлеченных в цитокиновые сети, включая IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , запускающие деструктивные процессы в хрящевой ткани. Провоспалительные

цитокины могут быть уравновешены супрессирующими цитокинами, например IL-10, однако, их концентрации в синовиальной ткани ниже требуемых для подавления воспаления [2, 3]. Интерлейкин-10 (IL-10) является наиболее мощным противовоспалительным цитокином благодаря своей способности подавлять активацию макрофагов и презентацию антигена, а также выступать в роли ингибиторного фактора во время активации В-клеток и секреции аутоантител, провоспалительных цитокинов в суставах больных ревматоидным артритом [2]. Во многих исследованиях по всему миру изучается ассоциация генетического полиморфизма IL-10 с индивидуальной генетической восприимчивостью к РА, но результаты противоречивы [2, 3]. Три полиморфных сайта -1082, -819, -592 в промоторной области гена IL-10, ассоциированные, согласно литературным данным, с продукцией IL-10 [4], исследуются во всем мире на взаимосвязь с предрасположенностью к ревматоидному артриту [3, 5].

**Цель:** оценить дискриминацию распределения аллелей и генотипов и комбинаций генотипов SNPs -819 С/Т, -592 С/А IL-10 в группах больных ревматоидным артритом и условно здоровых лиц русской популяции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа относится к ретроспективному типу исследований «случай-контроль». Исследуемые группы: 77 больных РА, 135 практически здоровых лиц русской популяции [1]. В группу контроля входили потенциальные доноры стволовой клетки ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови». Принадлежность к популяционной группе оценивалась согласно рекомендациям Международного Уоркшопа (1980 г., Лос-Анджелес, США). Определение SNPs в полиморфных сайтах -819С/Т и -592С/А гена IL-10 проводилось аллель-специфической ПЦР реактивами ООО НПФ «Литех» (г. Москва) с последующей УФ-детекцией результатов в 3% агарозном геле. Статистическая обработка проводилась стандартными иммуногенетическими методами: для степени свободы =1 – критерии  $\chi^2$ ,  $\chi^2$  с поправкой Йейтса, точный двухсторонний критерий Фишера, отношение шансов (OR) с расчетом 95% доверительного интервала (CI). Во всех случаях различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ , незначимыми при  $p > 0,10$ ; для промежуточных значений  $p$  ( $0,05 \leq p \leq 0,10$ ) обсуждали тенденцию к различиям.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе было проведено сравнение наблюдаемых частот генотипов с ожидаемыми, согласно равновесию Харди-Вайнберга в исследуемых группах. Наблюдаемые в исследовании доли генотипов в выборках больных РА и практически здоровых лиц русской популяции соответствуют ожидаемым, данные популяции находятся в состоянии равновесия. При сравнении частот встречаемости аллелей и генотипов SNPs -819 С/Т, -592 С/А IL-10 между исследуемыми выборками не выявлено значимых различий. Распределение частот у больных РА соответствовало таковому в популяциях европеоидного происхождения: низкая частота аллеля с заменой и его гомозиготного генотипа, частота гетерозиготных генотипов колебалась в диапазоне от 35% до 39%, преобладание носительства предкового аллеля и его гомозиготного генотипа. При оценке комбинаций генотипов -819 С/Т и -592 С/А в выборках больных РА и практически здоровых лиц установлено, что в группе больных РА носительство гомозиготного генотипа по редкому аллелю -819 Т/Т сопровождается носительством генотипа -592 А/А (гомозигота по аллелю с за-

меной), тогда как в группе сравнения подобной картины не наблюдалось. Для обеих выборок было характерно преобладание комбинаций дигетерозиготных генотипов «-819 С/Т -592 С/А» (32% vs 32%) и комбинаций гомозиготных генотипов по предковому аллелю «-819 С/С -592 С/С» (58% vs 51%). Подобное распределение генотипов может объясняться наличием неравновесного сцепления при формировании гаплотипов.

Таким образом, в нашем исследовании не подтвердился вклад генетического полиморфизма в точках -819 С/Т и -592 С/А гена IL-10 в формирование восприимчивости к ревматоидному артриту у русских Челябинской области.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Сташкевич Д. С.* Аллели и генотипы генов основных цитокинов и их межгенные и внутривыгодные связи в ассоциации с ревматоидным артритом у русской и башкирской популяций. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Челябинск, 2009, 23с. [*Stashkevich D. S.* Alleles and genotypes of the main cytokine genes and their intergenic and intragenic connections in association with rheumatoid arthritis in the Russian and Bashkir populations. Extended abstract of candidate's thesis, Chelyabinsk, 2009, 23 p.]
2. *Zhang T.-P., Lv, T.-T., Xu, S.-Z., Pan, H.-F., & Ye, D.-Q.* Association of interleukin-10 gene single nucleotide polymorphisms with rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Postgraduate Medical Journal*, 2018, 94(1111), pp. 284–288.
3. *Liu Q., Yang J., He I H., Yu Y., Lyu J.* Associations between interleukin-10 polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a meta-analysis and meta-regression. *Clinical Rheumatology*, 2018, available at: <https://doi.org/10.1007/s10067-018-4329-2>
4. *Аклеев А. А., Блинова Е. А., Котикова А. И.* Особенности цитокинового профиля и связи полиморфизмов генов иммунной системы с уровнями сывороточных цитокинов у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию. *Российский иммунологический журнал*, 2018, Т. 12 (21), № 3 С. 199–204. [*Akleev A. A., Blinova E. A., Kotikova A. I.* Peculiarities of the cytokine profile and the association of polymorphisms of the immune system genes with the levels of serum cytokines in persons exposed to chronic radiation exposure. *The Russian Immunological Journal*, 2018, Vol. 12 (21), No. 3, p. 199–204.]
5. *Lagha A., Zidi S., Stayoussef M., Gazouani E., Kochkar R., Kochbati S., Almawi W.Y., Yacoubi-Loueslati B.* Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-1-Ra, Interleukin-10, and tumor necrosis factor- $\alpha$  polymorphisms in Tunisian patients with rheumatoid arthritis. *Pathol Biol*, 2015, 63(4–5), pp.179–84.

**EVALUATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS  
-819C/T, -592C/A IL-10 IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS  
AS A GENETIC RISK FACTOR**

© 2019 D. S. Stashkevich<sup>1\*</sup>, T. A. Suslova<sup>1,2</sup>, A. L. Burmistrova<sup>1</sup>

\*E-mail: stashkevich\_dary@mail.ru

<sup>1</sup>Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia;

<sup>2</sup>Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russia

**Received:** 01.03.2019. **Accepted:** 14.03.2019

The frequency distribution of the occurrence of alleles, genotypes and combinations of genotypes formed by SNPs -819, -592 IL-10 was assessed in this research. It was established that in the group of patients with RA, the distribution corresponds to that in European populations. No association of genetic polymorphism of SNPs -819, -592 IL-10 with a predisposition to RA in the Russians of the Chelyabinsk region was found.

*Key words:* genetic polymorphism, interleukin 10, rheumatoid arthritis

**Authors:**

**Stashkevich D. S.**, ✉ cand. biol. Sci., Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia. **E-mail:** stashkevich\_dary@mail.ru;

**Suslova T. A.**, cand. med. Sci., Associate Professor of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, head. OMBD Chelyabinsk Regional Blood Transfusion Station, Chelyabinsk, Russia;

**Burmistrova A. L.**, dr. med. Sci., Head of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia.

## ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ АЛЬФА ЧЕЛОВЕКА В СРЕДСТВЕ ДОСТАВКИ НА МЫШАХ С МЕЛАНОМОЙ V16-F10

© 2019 г. Г. М. Сысоева<sup>1\*</sup>, Е. И. Рябчикова<sup>2</sup>, С. Г. Гамалей<sup>1</sup>,  
Л. Р. Лебедев<sup>1</sup>, Е. А. Волосникова<sup>1</sup>, Е. Д. Даниленко<sup>1</sup>

\*E-mail: sysoeva\_gm@vector.nsc.ru

<sup>1</sup>Институт медицинской биотехнологии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,  
Бердск, Новосибирская область, Россия

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия

Поступила: 12.03.2019. Принята: 26.03.2019

На модели меланомы мышей V16-F10 установлено, что рекомбинантный фактор некроза опухолей альфа человека в средстве доставки обладает выраженным противоопухолевым и иммуномодулирующим действием. Препарат статистически значимо ингибировал рост экспериментальной опухоли (ТРО 60%), усиливал инфильтрацию опухоли клетками иммунной системы (CD3<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>) и повышал активность иммунокомпетентных клеток, опосредующих противоопухолевый ответ.

**Ключевые слова:** фактор некроза опухолей альфа, меланома V16-F10, макрофаги, спленоциты, CD3, CD11b маркеры

DOI: 10.31857/S102872210006979-1

Адрес: 633010, г. Бердск-10 Новосибирской области, ул. Химзаводская, 9, а/я 112; Сысоева Галина Михайловна.  
Телефон: 383 363-80-14. Факс: (383) 363-80-16.

E-mail: kanz\_imbt@vector.nsc.ru

Авторы:

**Сысоева Г. М.**, ведущий научный сотрудник отдела биологических исследований ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Бердск, Новосибирская область, Россия;

**Рябчикова Е. И.**, д.б.н., руководитель группы микроскопических исследований ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, Россия

**Гамалей С. Г.**, зав. отделом биологических исследований ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Бердск, Новосибирская область

**Лебедев Л. Р.**, д.б.н., зав. лабораторией нуклеиновых кислот и рекомбинантных белков ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Бердск, Новосибирская область, Россия;

**Волосникова Е. А.**, к.б.н., зав. отделом биологических исследований ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Бердск, Новосибирская область, Россия;

**Даниленко Е. Д.**, к.б.н., директор ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Бердск, Новосибирская область, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Использование терапевтических средств, обладающих, наряду с противоопухолевым действи-

ем, способностью восстанавливать активность иммунных реакций организма-опухоленосителя, может приводить к улучшению отдаленных результатов противоопухолевого лечения. К числу таких веществ относятся цитокины, прежде всего, фактор некроза опухолей альфа (ФНО-альфа).

В ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» разработана оригинальная молекулярная конструкция, на основе двуспиральной РНК и полисахарида декстрана для депонирования, стабилизации и транспортировки ФНО-альфа.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение противоопухолевого и иммуномодулирующего действия препарата рекомбинантного фактора некроза опухолей альфа человека в составе средства доставки на экспериментальной модели меланомы V16-F10.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали препарат рекомбинантного фактора некроза опухолей альфа в составе молекулярной конструкции (ВПЧ-ФНО-альфа) производства ИМБТ ФБУН ГНЦ

ВБ «Вектор», с концентрацией белка 0,16 мг/мл и специфической цитолитической активностью  $3,1 \times 10^6$  МЕ/мл.

В качестве экспериментальной модели для изучения противоопухолевого и иммуномодулирующего действия ВПЧ-ФНО-альфа была использована перевиваемая меланома мышей В16-F10 (штамм получен из банка РОНЦ РАМН). Исследования выполнены на мышах линии С57В1/6 массой 18–23 г., полученных из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», г. Новосибирск. Препарат вводили в дозе  $5 \times 10^4$  МЕ на мышь трехкратно, внутривенно, через день. На 16 сутки после перевивки определяли массу опухоли, рассчитывали процент торможения роста опухоли (ТРО).

Эффекторные клетки иммунной системы в ткани меланомы В16-F10 выявляли иммуногистохимически с помощью антител к белкам CD3 (маркер Т-лимфоцитов) и CD11b (маркер моноцитов и гранулоцитов). Иммуногистохимический анализ с первичными антителами к белкам CD3, CD11b проводили в соответствии с рекомендациями производителей. Положительную реакцию визуализировали с помощью готового к использованию набора AEC Singlesolutionsystem (Abcam, Великобритания).

Системное иммуномодулирующее действие препарата ВПЧ-ФНО-альфа изучали на мышах с привитой меланомой В16-F10. На 11, 13 и 15 сутки после перевивки (через сутки после каждой инъекции препарата в дозе  $5 \times 10^4$  МЕ на мышь) животных подвергали эвтаназии, взвешивали лимфоидные органы (тимус, селезенка) и забирали на исследование селезенку и перитонеальный экссудат. Спонтанную пролиферативную активность спленоцитов оценивали по уровню восстановления клетками 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенил тетразолиум бромида (МТТ-тест) [1]. Функцию макрофагов исследовали в краткосрочной культуре клеток по показателям образования ими активных форм кислорода (АФК), определяя уровень восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) в спонтанном тесте, либо в тесте с активатором метаболического дыхания макрофагов зимозаном [2].

Экспериментальные данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью пакета программ «Statgraphics, Vers.5.0» (Statistical Graphics Corp., USA). Для оценки значимости отличий использовали t-критерий Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние ВПЧ-ФНО-альфа на рост первичного опухолевого узла оценивали по динамике роста меланомы В16-F10. Было показано, что трехкратное внутривенное введение препарата в дозе  $5 \times 10^4$  МЕ/мышь оказывало достоверное ингибирующее действие на рост первичной опухоли у мышей: через сутки после третьей инъекции препарата ТРО составлял 60%. На срезах опухолевых узлов меланомы В16-F10 в опытной группе мышей отмечено увеличение числа CD3-позитивных клеток в поврежденной и неповрежденной ткани опухоли (в 3 и 1,5 раза, соответственно). В разрушенных участках меланомы у мышей, получавших ВПЧ-ФНО-альфа, достоверно возрастало число CD11b-позитивных клеток по сравнению с аналогичными участками в опухолях мышей контрольной группы.

Исследование морфофункционального состояния иммунокомпетентных органов и клеток мышей с меланомой В16-F10 показало, что развитие опухолевого процесса приводило к увеличению массы селезенки и тимуса животных контрольной и опытной групп, по сравнению с показателями интактных мышей. Введение препарата ВПЧ-ФНО-альфа вызывало достоверное увеличение массы селезенки мышей опытной группы по сравнению с контрольными. Повышение этого показателя сопровождалось в те же сроки повышением спонтанной пролиферативной активности спленоцитов по отношению к показателям контрольных мышей-опухоленосителей и интактных мышей ( $0,68 \pm 0,02$ ;  $0,54 \pm 0,02$ ;  $0,46 \pm 0,06$  о.е. при 620 нм,  $P < 0,05$ , соответственно).

Известно, что в системе противоопухолевой защиты организма важная роль принадлежит факторам естественной резистентности, составляющими элементами которой являются макрофаги [3, 4]. В работе было показано, что препарат ВПЧ-ФНО-альфа повышал активность перитонеальных макрофагов, по сравнению с показателями интактных и контрольных животных. Уровень НСТ, восстановленного зимозан-индуцированными макрофагами мышей опытной группы, в 1,6 раза превышал контрольный показатель.

Таким образом, в экспериментах на мышах с трансплантированной меланомой В16-F10 установлено, что ФНО-альфа в средстве доставки оказывает выраженное ингибирующее действие на рост опухоли. Препарат обладает способностью повышать активность сплено-

цитов и перитонеальных макрофагов, а также усиливать инфильтрацию опухоли эффекторными клетками иммунной системы. Полученные данные подтверждают наличие у препарата ФНО-альфа в средстве доставки иммуномодулирующих свойств, характерных для механизмов противоопухолевого действия ФНО-альфа.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Meth.* 1983; 65 (1–2): 55–63.
2. Rook G. A. W., Steele J., Umar S., Dockrell H. M. A simple method for the solubilisation of reduced NBT, and its use as a colorimetric assay for activation of human macrophages by gamma-interferon. *J. Immunol. Meth.* 1985; 82 (1): 161–167.
3. Kogan G., Sandula J., Korolenko T. A., Falameeva O. V., Poteryaeva O. N., Zhanaeva S. Y., Levina O. A., Filatova T. G., Kaledin V. I. Increased efficiency of Lewis lung carcinoma chemotherapy with a macrophage stimulator-yeast carboxymethyl glucan. *Int. Immunopharmacol.* 2002, 2; 6:775–781.
4. Deryagina V. P., Ryzhova N. I., Krivosheeva L. V., Salchinskaya L. A., Golubeva I. S., Reutov V. P. Functional activity of effector cells of innate immunity in tumor bearing mice. *Modern science*, 2016, № 11, 69–76.

### ANTI-TUMOR AND IMMUNOMODULATING EFFECTS OF RECOMBINANT HUMAN TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA IN A DELIVERY SYSTEM IN B16-F10 MELANOMA MICE

© 2019 G. M. Sysoeva<sup>1\*</sup>, E. I. Ryabchikova<sup>2</sup>, S. G. Gamaley<sup>1</sup>, L. R. Lebedev<sup>1</sup>, E. A. Volosnikova<sup>1</sup>, E. D. Danilenko<sup>1</sup>

\*E-mail: sysoeva\_gm@vector.nsc.ru

<sup>1</sup>Institute of Medical Biotechnology FBRI SRC VB «Vector» Rospotrebnadzor, Berdsk, Novosibirsk Region, Russia;

<sup>2</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Received: 12.03.2019. Accepted: 26.03.2019

It was established that recombinant human tumor necrosis factor alpha in a delivery system has pronounced antitumor and immunomodulating effects in murine B16-F10 melanoma model. The preparation significantly inhibited the growth of experimental tumor (TGI 60%), increased tumor infiltration by immune system cells (CD3<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>) and increased the activity of immunocompetent cells mediating antitumor response.

*Key words:* tumor necrosis factor alpha, B16F10 melanoma, macrophages, splenocytes, CD3, CD11b markers

#### Authors:

**Sysoeva G. M.**, ✉ SRF, Institute of Medical Biotechnology FBRI SRC VB «Vector» Rospotrebnadzor, Berdsk, Novosibirsk Region, Russia. E-mail: kanz\_imbt@vector.nsc.ru;

**Ryabchikova E. I.**, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia;

**Gamaley S. G.**, Head of Department of Biological Research, Institute of Medical Biotechnology FBRI SRC VB «Vector» Rospotrebnadzor, Berdsk, Novosibirsk Region, Russia;

**Lebedev L. R.**, Dr. habil., Head of the laboratory of Nucleic Acids and Recombinant Proteins, Institute of Medical Biotechnology FBRI SRC VB «Vector» Rospotrebnadzor, Berdsk, Novosibirsk Region, Russia;

**Volosnikova E. A.**, PhD, Head of Laboratory of Obtaining and Analysis of Bio substances, Institute of Medical Biotechnology FBRI SRC VB «Vector» Rospotrebnadzor, Berdsk, Novosibirsk Region, Russia;

**Danilenko E. D.**, PhD, director, Institute of Medical Biotechnology FBRI SRC VB «Vector» Rospotrebnadzor, Berdsk, Novosibirsk Region, Russia.

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛЛИНОЗА

© 2019 г. О. В. Тарабрина<sup>1\*</sup>, С. М. Юдина<sup>1</sup>, М. Ю. Коршикова<sup>1,2</sup>,  
Т. С. Русанова<sup>1</sup>

\*E-mail: tarabrinaksmu@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия

<sup>2</sup>БМУ «Курская областная клиническая больница» Комитета здравоохранения Курской области,  
Курск, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 13.03.2019

В статье проведен анализ спектра сенсибилизации и представлены результаты исследования цитокинового профиля, показателей клеточного и гуморального иммунитета у жителей с поллинозом г. Курска и г. Железногорска.

**Ключевые слова:** поллиноз, сенсибилизация, клеточный и гуморальный иммунитет, цитокины.

DOI: 10.31857/S102872210006980-3

**Адрес:** 305041 Курск, ул. Карла Маркса, д. 3, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии. Тарабрина Ольга Владимировна. Тел./факс +7 (4712) 567399, 8 920 708 86 05 моб.

**E-mail:** tarabrinaksmu@yandex.ru

### Авторы:

**Тарабрина О. В.**, ассистент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Юдина С. М.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Коршикова М. Ю.**, к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия; зав. отделением аллергологии и иммунологии, врач аллерголог-иммунолог БМУ «Курская областная клиническая больница» комитета здравоохранения Курской области, Курск, Россия;

**Русанова Т. С.**, к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Курск, Россия.

Одним из наиболее распространенных аллергических заболеваний верхних дыхательных путей является поллиноз, заболеваемость которым в России варьирует от 13,7% до 24% [1]. Каждый регион имеет специфическую растительность и под воздействием неблагоприятной

экологии возможен рост аллергопатологии [2]. В Курской области поллиноз является широко распространенной патологией, особенно в регионах с неблагоприятной экологической обстановкой. Большинство исследователей отводят ключевую роль в развитии и особенностях течения поллинозов иммуногенетическим механизмам [3, 4]. С учетом этого, изучение регионально-эпидемиологических особенностей и роли иммунных факторов в формировании аллергических болезней является актуальным для уточнения механизмов развития, выявления факторов риска и разработки методов профилактики.

**Цель работы:** исследование спектра сенсибилизации и особенностей иммунного статуса больных поллинозом, проживающих в г. Курске и г. Железногорске.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 112 жителей г. Курска и г. Железногорска, страдающих поллинозом, в стадии обострения (средний возраст  $26,1 \pm 4,25$  года), длительность заболевания до 5 лет. Диагноз ставили на основании клинических данных и результатов кожных аллергопроб. Контрольную группу составили 20 здоровых лиц (средний возраст  $35,1 \pm 2,1$  года). Определение уровня сывороточных IgA, IgM, IgG, общего IgE, цитокинов

проводилось методом ИФА с использованием тест-системы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программного комплекса Statistica 6.0, используя среднее значение показателя, среднее стандартное отклонение показателя, коэффициент Стьюдента ( $p \leq 0,05$ ) и процент случаев в анализируемой группе пациентов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам кожных аллергопроб выявлена поливалентная сенсibilизация к пыльцевым аллергенам. У 53 больных отмечалась выраженная степень сенсibilизации к пыльце березы — 42,9%. Среди трав наиболее распространена сенсibilизация к пыльце полыни (67%) и амброзии (66%). Исследование цитокинового статуса выявило, что у жителей г. Курска уровень ИЛ-1 $\beta$  превышал в 1,5 раза значения доноров, как в сыворотке, так и в назальном смыве, тогда как у жителей г. Железнодорожска — в 2,1 раза. Отмечено увеличение уровня ИЛ-8 у больных из города Курска в 3,5 раза в сыворотке крови и в 2 раза в назальном смыве, а у жителей Железнодорожска — в 3,8 и в 2,5 раза соответственно. Содержание ИФН $\gamma$  было снижено в 1,8 раза как в сыворотке крови, так и в назальном смыве у всех жителей по сравнению с значениями доноров ( $p < 0,001$ ). Уровень ИЛ-10 превышал в 12,4 раза в сыворотке крови и в 18,5 раза в назальном секрете ( $p < 0,001$ ) у жителей г. Курска, а у жителей г. Железнодорожска в 14,8 и в 19,7 раза соответственно. При определении содержания ИЛ-4 у пациентов из г. Курска выявлено увеличение в 2 и в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ) как в сыворотке крови, так и в назальном смыве, тогда как у пациентов из г. Железнодорожска — в 2,4 и в 2,7 раза соответственно. Анализ показателей клеточного иммунитета выявил, что у жителей г. Курска количество лимфоцитов CD3 $^-$ CD19 $^+$  фенотипа было увеличено в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ), а у жителей Железнодорожска — в 4,2 раза по сравнению с показателями доноров. Уровень CD3 $^+$ CD8 $^+$  клеток был снижен в 1,8 раза и в 2,1 раза соответственно ( $p < 0,001$ ). При этом значимых отличий в количестве CD3 $^+$  и CD3 $^+$ CD4 $^+$  клеток в сравнении с показателями здоровых лиц не отмечалось. Исследование гуморального звена иммунитета у большинства жителей г. Железнодорожска и г. Курска выявило повышение сывороточного IgE в 24 раза и в 20

раз значений доноров. Содержание IgA было повышено ( $2,46 \pm 0,12$ ,  $p < 0,01$ ) на фоне снижения уровня IgG ( $15,66 \pm 1,14$ ,  $p < 0,05$ ) в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой ( $1,74 \pm 0,11$  и  $18,58 \pm 1,53$  соответственно).

## ВЫВОДЫ

Региональными особенностями сенсibilизации Курского региона является гиперчувствительность к пыльце березы, полыни и амброзии. Иммунный статус больных поллинозом характеризуется активацией гуморального иммунного ответа с увеличением CD3 $^-$ CD19 $^+$  клеток и концентрации цитокинов — регуляторов Th2-ответа (ИЛ-4 и ИЛ-10) в назальном секрете и сыворотке крови, на фоне снижения функциональной активности Th1-клеток. Это сочеталось с повышением провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8) и уровня общего IgE, Ig A. На основании изложенного, изучение спектра сенсibilизации и особенностей иммунного статуса больных поллинозом является необходимым для выявления факторов риска формирования аллергопатологии, изучения патогенетических механизмов с целью оптимизации методов диагностики и профилактики.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES.

1. Новиков Д. К., Новиков П. Д., Карпук И. Ю., Смирнова О. В., Выхристенко Л. Р., Величинская О. В. Новые методы диагностики и лечения аллергии // Аллергология и иммунология. — 2015. — Т. 16, № 4. — С. 334–339. [Novikov D. K., Novikov P. D., Karpuik I. Yu., Smirnova O. V., Vyhristenko L. R., Velichinskaya O. V. New methods of diagnosis and treatment of allergies // Allergology and Immunology. — 2015. — V. 16, № 4. — p. 334–339].
2. Monteseirin J. Neutrophils and asthma // J. Invest. Allergol. Clin. Immunol. — 2009. — Vol. 19, N5. — P. 340–354.
3. Akids M., Verhagen J., Taylor A., Karamloo F., Karagiannidis C., Crameri R., Thunberg S., Deniz G., Valenta R., Fiebig H., Kegel C., Disch R., Schmidt-Weber C. B., Blaser K., Akdis C. A. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells // J. Exp. Med. — 2004. — Vol. 199, N11. — P.1567–1575.
4. Симбирцев А. С. Цитокины в иммунопатогенезе и лечении аллергии // Рос. Аллергол. Журн. — 2007. — № 1. — С. 5–19. [Simbircev A. S. Cytokines in the immunopathogenesis and treatment of allergies // Ros. Allergol. Log — 2007. — № 1. — p. 5–19].

## PREVALENCE AND REGIONAL PECULIARITIES OF POLLINOSIS

© 2019 O. V. Tarabrina<sup>1\*</sup>, S. M. Yudina<sup>1</sup>, M. Yu. Korshikova<sup>1,2</sup>,  
T. S. Rusanova<sup>1</sup>

\*E-mail: tarabrinaksmu@yandex.ru

<sup>1</sup>Kursk State Medical University, Kursk, Russia

<sup>2</sup>Kursk Regional Clinical Hospital” of the Health Committee of the Kursk Region,  
Kursk, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 13.03.2019

The article analyzes the spectrum of sensitization and presents the results of a study of the cytokine profile, indicators of cellular and humoral immunity in residents with pollinosis of the Kursk region.

*Key words:* pollinosis, sensitization, cellular and humoral immunity, cytokines

**Authors:**

**Tarabrina O. V.**, ✉ Assistant, department of clinical immunology, allergology and phthisiopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. E-mail: tarabrinaksmu@yandex.ru;

**Yudina S. M.**, MD, Professor, Head of department of clinical immunology, allergology and phthisiopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Korshikova M. Yu.**, PhD, Associate Professor, department of clinical immunology, allergology and phthisiopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia; Head department of allergology and immunology, allergist-immunologist physician at the Kursk Regional Clinical Hospital of the Kursk Region, Kursk, Russia;

**Rusanova T. S.**, Ph D., Associate Professor, department of clinical immunology, allergology and phthisiopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

## УРОВЕНЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2019 г. М. С. Тулупова<sup>1</sup>, М. Б. Хамошина<sup>1</sup>, Т. А. Невежкина<sup>2\*</sup>,  
О. Н. Сидорова<sup>2</sup>

\*E-mail: [www.tanya.ru9292@mail.ru](mailto:www.tanya.ru9292@mail.ru)

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования Российской Федерации, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 19.03.2019

Обследовано 28 пациенток с инфекциями, передающимися половым путем (ИППП), или папилломавирусной инфекцией (ПВИ). Пациенток разделили на основную группу (ОГ) и группу контроля (ГК) (n=10). Основная группа была разделена на 2 группы: I группа (n=8) – ИППП с ПВИ, II группа (n=10) – ИППП без ПВИ. Установлено одновременное повышение ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке крови женщин с невынашиванием беременности, что свидетельствует о роли процессов повреждения межклеточного матрикса в его патогенезе. Выявлены различия соотношения ММП-9 к ТИМП-1 в зависимости от наличия ВПЧ. У женщин с ИППП без ВПЧ преобладает продукция ТИМП, способного оказывать профибриногенный эффект.

**Ключевые слова:** невынашивание беременности, ММП-9, ТИМП-1, иммунитет, папилломавирусная инфекция

DOI: 10.31857/S102872210006981-4

**Адрес:** 690002, Россия, Приморский край, г. Владивосток, пр-т Острякова, д. 2, ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, кафедра нормальной и патологической физиологии, Невежкина Татьяна Андреевна. Тел.: +7(914) 6728945 (моб.).

**E-mail:** [www.tanya.ru9292@mail.ru](mailto:www.tanya.ru9292@mail.ru)

### Авторы:

**Тулупова М. С.**, к.м.н., докторант кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования Российской Федерации, Москва, Россия;

**Хамошина М. Б.**, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования Российской Федерации, Москва, Россия;

**Невежкина Т. А.**, аспирант кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, Владивосток, Россия;

**Сидорова О. Н.**, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, Владивосток, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Воспалительные процессы, ассоциированные инфекцией передаваемой половым путем (ИППП), влияют на репродуктивную функцию женщины, повышая вероятность потери бере-

менности [1]. За последние 10 лет исследования показали, что при воспалении частота встречаемости бактериального возбудителя почти в 2 раза сократилась с 71% до 37%, а участие вирусного фактора возросло почти в треть. Одним из вирусов, которые способны усиливать воспалительный процесс является вирус папилломы человека (ВПЧ) [2]. Известно, что протекание вирусного процесса зависит от иммунной системы. Одними из медиаторов, которые вырабатываются и влияют на течение воспалительного процесса, при персистенции ВПЧ, является система металлопротеиназ (ММП) и их тканевые ингибиторы (ТИМП). ММП играет важную роль в процессе воспаления. ТИМП образуют высокоаффинные необратимые комплексы с ММП, тем самым снижая патологическое влияние ММП. ТИМП ингибирует апоптоз в В-клетках, что также свидетельствует об их независимом функционировании в различных путях поддержки выживания и роста клеток в противоположность его функции ингибирования ММП [3]. Однако, в настоящее время, остается малоизу-

ченным вопрос о влиянии матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов на невынашивание беременности при папилломавирусной инфекции (ПВИ).

**Цель.** Оценить уровни ММП-9, ТИМП-1 в сыворотке крови пациенток с невынашиванием беременности и папилломавирусной инфекцией.

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Обследовано 28 пациенток, из них 18 женщин имеют в анамнезе 1 и более репродуктивную потерю. Женщины были обследованы на инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), согласно стандартам обследования пациентов на ИППП, из них у 8 пациенток была выявлена ПВИ, средний возраст составил  $30,6 \pm 2,3$  лет. Пациенток разделили на основную группу (ОГ) и группу контроля (ГК) ( $n=10$ ). Основная группа была разделена на 2 группы: I группа ( $n=8$ ) – ИППП с ПВИ, II группа ( $n=10$ ) – ИППП без ПВИ. Определение уровня ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке венозной крови проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (USA) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Количество выражали в нг/мл. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ «Statistica 10». Данные представляли в виде медианы и двух квартилей ( $Me$ ,  $Q_{25}$ ,  $Q_{75}$ ).

### ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Было установлено достоверное повышение содержания ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке крови пациенток ОГ в сравнении с ГК. Уровни ММП-9 были повышены в I и II группах ОГ (I группа – 438,9 (436,57; 441,3) нг/мл; II группа – 325,2 (290,8; 359,6) нг/мл; ГК – (291,28 (168,44; 305,11) нг/мл). При этом концентрация ММП-9 в I группе была достоверно выше, чем во II группе ( $p < 0,05$ ). ТИМП-1 более значимо повышался во II группе пациенток ( $p < 0,01$ ) в сравнении с I группой (I группа – 259,9 (248,4; 261,5) нг/мл; II группа – 308,7 (301,87; 315,5) нг/мл; ГК – 205,08 (180,21; 222,11) нг/мл).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты, полученные в нашем исследовании, подтверждают наблюдения Е. В. Маш-

киной [3], где было показано, что увеличение ММП-9 может быть ассоциировано с повышением риска невынашивания беременности. Таким образом, можно сделать предположение, что ММП-9 участвует в невынашивании беременности. Экспрессия ТИМП-1, действуя как ингибитор ММП-9, способствует подавлению воспалительного процесса, однако повышенное содержание ММП-9 и ТИМП-1 связано с прогрессированием воспалительного процесса, что может трактоваться как неблагоприятный показатель для вынашивания беременности [4]. Расчет коэффициента ММП-9 к ТИМП-1 выявил разнонаправленные изменения в исследуемых группах: у I группы его уровень повышался, а у II группы, напротив, достоверно ( $p < 0,01$ ) снижался по сравнению с контролем.

Таким образом установлено одновременное повышение ММП-9 и ТИМП-1 в сыворотке крови женщин с невынашиванием беременности, что свидетельствует о роли процессов повреждения межклеточного матрикса в его патогенезе. Выявлены различия соотношения ММП-9 к ТИМП-1 в зависимости от наличия ВПЧ. У женщин с ИППП без ВПЧ преобладает продукция ТИМП, способного оказывать профибриногенный эффект.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Ведищев С. И., Прокопов А. Ю., Жабина У. В., Османов Э. М.* Современные представления о причинах невынашивания беременности // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. 2013, 18; 4, 1309–1311. [Veditshev S., Prokopov A. Y., Zhabina U. V., Osmanov E. M. Modern ideas about the causes of miscarriage // Bulletin of the Tambov University. Series: Natural and Technical Sciences. 2013, 18; 4, 1309–1311].
2. *Петров Ю. А., Алехина А. Г., Блесманович А. Е.* Беременность, роды, состояние плода и новорожденного у матерей с папилломавирусной инфекцией // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 2 – С. 22. [Petrov Y. A., Alekhina A. G., Blesmanovich A. E. Pregnancy, childbirth, the state of the fetus and newborn mothers with human papillomavirus infection // Modern problems of science and education. 2018. № 2. – С. 22;].
3. *Машкина Е. В., Коваленко К. А., Мараховская Т. А., Сараев К. Н., Беланова А. А., Шкурят Т. П.* Исследование ассоциации полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ с репродуктивными потерями в I триместре беременности // Генетика. 2016, 52; № 8, 958–965. [Mashkina Y. V., Kovalenko K. A., Marakhovskaya T. A., Saraev K. N., Belanova A. A., Shkurat T. P. Study of the association of polymorphic variants of matrix metalloproteinases

- genes with reproductive losses in the first trimester of pregnancy // *Genetics*. 2016, 52; 8, 958–965].
4. *Kapral M., Wawszczyk J., Jurzak M., Hollek A., Weglarz L.* The effect of inositol hexaphosphate on

the expression of selected metalloproteinases and their tissue inhibitors in IL-1 $\beta$ -stimulated colon cancer cells // *International Journal of Colorectal Disease*. 2012. 27;11. 1419–1428.

## LEVEL OF MATRIX METAL PROTEINASES AND THEIR TISSUE INHIBITORS IN WOMEN WITH NON-CARE OF PREGNANCY

© 2019 M. S. Tulupova<sup>1</sup>, M. B. Hamoshin<sup>1</sup>, T. A. Nevezhkina<sup>2\*</sup>,  
O. N. Sidorova<sup>2</sup>

\*E-mail: [www.tanya.ru9292@mail.ru](mailto:www.tanya.ru9292@mail.ru)

<sup>1</sup>FGOAO HE “Russian University of Peoples’ Friendship” of the Ministry of Education  
of the Russian Federation, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Pacific State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation,  
Vladivostok, Russia

Received: 01.03.2019. Accepted: 19.03.2019

Surveyed 28 patients with sexually transmitted infections (STIs), or papillomavirus infection (PVI). The patients were divided into the main group (FG) and the control group (GC) (n = 10). The main group was divided into 2 groups: Group I (n = 8) – STIs with MWI, Group II (n = 10) – STIs without MWI. A simultaneous increase in MMP-9 and TIMP-1 in the serum of women with miscarriage was established, which indicates the role of the processes of damage to the extracellular matrix in its pathogenesis. Differences in the ratio of MMP-9 to TIMP-1 depending on the presence of HPV were revealed. Women with STIs without HPV are dominated by products of TIMP that can have a profibrinogenic effect.

*Key words:* miscarriage, MMP-9, TIMP-1, papillomavirus infection

### Authors:

**Tulupova M. S.**, Ph.D., Doctoral Candidate of the Department of Obstetrics and Gynecology with a course of Perinatology, Russian University of Peoples’ Friendship, Ministry of Education of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Khamoshina M. B.**, MD, Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology with a course in Perinatology, Russian University of Peoples’ Friendship, Ministry of Education of the Russian Federation, Moscow, Russia;

**Nevezhkina T. A.**, ✉ Post-Graduate Student, Department of Normal and Pathological Physiology, Vladivostok, Russia. 690002, Russia, PrimorskyKrai, Vladivostok, Ostryakova Ave., 2. E-mail: [www.tanya.ru9292@mail.ru](mailto:www.tanya.ru9292@mail.ru);

**Sidorova O. N.**, Ph.D., Associate Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, FSBEI HE TSMU of the Ministry of Health of Russia, Vladivostok, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ ДИСБАЛАНСА СИСТЕМЫ ЦИТОКИНОВ, АДИПОКИНОВ, МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 9 И ЕЕ ИНГИБИТОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ АТЕРОСКЛЕРОЗА

© 2019 г. Е. П. Турмова<sup>1</sup>, Е. В. Маркелова<sup>1</sup>, П. Ф. Кикун<sup>2</sup>

\*E-mail: Patphis-vl@mail.ru

<sup>1</sup>ГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 15.03.2019

Обследовано 140 пациентов с атеросклерозом коронарных артерий (АКА) и ишемической болезнью сердца (ИБС) и 120 человек с облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей (ОАНК). Исследовано содержание IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-10, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, IL-2, IL-17, растворимые рецепторы к цитокинам: IL-2R, IL-6R, TNF $\alpha$  RI и TNF $\alpha$  RII, MMP-9, ее тканевой ингибитор 1 типа, комплексов MMP-9/TIMP-1, MMP-9/TIMP-2, адипокины (лептин и адипонектин) в сыворотке крови. У пациентов с ОАНК зарегистрировано увеличение уровня IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , TNF $\alpha$  RII, IL-6 и TIMP-1 ( $p < 0,05$ ) Методом факторного анализа ведущая патогенетическая значимость при ОАНК определена у IFN $\gamma$ , IL-2, TNF $\alpha$  и IL-6. У пациентов с АКА (ИБС) выявлено повышение уровня лептина, увеличение содержания и высокая патогенетическая значимость IL-1 $\beta$ , IL-17.

**Ключевые слова:** атеросклероз цитокины металлопротеиназы адипокины

DOI: 10.31857/S102872210006982-5

**Адрес:** 690002, Российская Федерация, Дальневосточный федеральный округ, Приморский край, г. Владивосток, проспект Острякова, дом 2. Телефон: 8 (423) 245-07-00.

**E-mail:** eturmova@mail.ru; patphis-vl@mail.ru

**Авторы:**

**Турмова Е. П.**, д.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации, Владивосток, Россия;

**Маркелова Е. В.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии ГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации, Владивосток, Россия.

**Кикун П. Ф.**, д.м.н., к.т.н., профессор кафедры профилактической медицины. Школы биомедицины. ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Мировая медико-социальная значимость атеросклероза (АС) обусловлена высокой смертностью от его осложнений. Среди клинических проявлений атеросклероза лидирует ишемическая болезнь сердца (ИБС), наблюдается рост заболеваемости облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей (ОАНК),

являющегося преимущественным проявлением системного клинически выраженного процесса с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений [1, 2]. Важное место среди многочисленных теорий и концепций атеросклероза заняла воспалительная теория, рассматривающая его с позиций хронического аутоиммунного воспаления в артериальной стенке с нарушением обмена липидов, в котором система цитокинов выполняет регуляторную роль на всех этапах патогенеза [2]. Однако в литературе сохраняется противоречивость мнений о закономерностях и особенностях изменений системы цитокинов в комплексе с метаболическими нарушениями при различной локализации и выраженности клинических проявлений атеросклероза [2, 3].

**Целью** работы явилось: выявить наиболее значимые изменения в содержании цитокинов, адипонектинов (лептин и адипонектин), матриксной металлопротеиназы-9 и ее тканевых ингибиторов у пациентов с различной распространенностью и выраженностью атеросклероза.

## ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Обследованы 260 пациентов с атеросклерозом, верифицированным по результатам коронарографии и ангиографии, из них с атеросклерозом коронарных артерий и клиническими проявлениями ИБС – 140 человек и 120 человек с ОАНК. В исследуемых группах преобладали мужчины, удельный вес которых занимал более 80%, доля женщин составляла менее 20% в каждой группе. Возраст обследуемых составлял  $57,2 \pm 2,7$  лет. Группу контроля составляли 50 практически здоровых доноров (30–50 лет), сопоставимых по полу, без клинических проявлений артериальной недостаточности, острых и хронических заболеваний в фазе обострения, не курящих, не употребляющих каких-либо лекарственных препаратов, не злоупотребляющих алкоголем. Содержание цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-10, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, IL-2, IL-17, растворимых рецепторов к цитокинам: IL-2R, IL-6R, TNF $\alpha$  RI и TNF $\alpha$  RII, MMP-9, ее тканевого ингибитора 1 типа, комплексов MMP-9/TIMP-1, MMP-9/TIMP-2, адипокинов (лептин и адипонектин) определяли в сыворотке крови методом ИФА с использованием специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (USA). Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Расчеты количества показателей осуществляли путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы, выражали в пг/мл или нг/мл. Для статистической обработки полученных данных использовали программу «StatPlus 2010», регистрационный номер «3-b1WdC-7k32t». Сравнение средних значений в выборках осуществляли с помощью непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни, сопряженность признаков оценивали с помощью факторного анализа и критерия  $\chi^2$ . Корреляционный анализ проводили методом ранговой корреляции по Спирмену.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что у пациентов с АКА (ИБС) определялось высокое содержание IL-1 $\beta$ , IL-17 и лептина, увеличение удельного веса IL-1 $\beta$ , снижение доли IL-2 и IL-10 в сыворотке крови ( $p < 0,05$ ). У пациентов с ОАНК зарегистрировано увеличение содержания IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , TNF $\alpha$  RII, IL-6 ( $p < 0,05$ ), повышение доли IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  в цитокиновом профиле сыворотки крови. Избыток TIMP-1 ( $p < 0,05$ ), при нормальном уровне MMP-9 у пациентов с ОАНК в крови отражал

более выраженную, по сравнению с АКА (ИБС), активацию процессов связывания желатиназы В в условиях ишемии нижних конечностей. Методом факторного анализа установлена патогенетическая значимость исследуемых показателей при различных клинических проявлениях АС. При ОАНК зарегистрировано 9 главных компонентов факторов со значимой нагрузкой (более 0,7). Максимальной была доля I комплексного компонента, представленного: IFN $\gamma$ , IL-2, TNF $\alpha$  и IL-6, что характеризует выраженную провоспалительную активность Th-1 типа. Выявлена прямая связь между MMP-9 и IL-1 $\beta$  ( $r=0,71$ ,  $p < 0,05$ ) у пациентов с ОАНК, что подтверждает их взаимодействие в ходе ремоделирования тканей при системном атеросклеротическом поражении. При АКА (ИБС) установлено 6 главных компонентов значимости факторов, 3 из которых были комплексными. При этом максимальный удельный вес отмечался у I компонента, представленного комплексом цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-2 и IL-10. III комплексный компонент был сформирован IL-6 и IL-17, что подтверждает синергичное действие этих цитокинов в патогенезе ишемии миокарда. Составляющими V комплексного компонента были лептин и TIMP-1, что характеризует их взаиморегуляцию и совместное участие в процессах сосудистого ремоделирования при коронарном атеросклерозе. Выявленные изменения у пациентов с АКА (ИБС) указывают на активацию клеток врожденного иммунитета (высокая значимость нагрузки  $>0,7$  для IL-1 $\beta$ ) и нейтрофилов (высокая значимость нагрузки  $>0,7$  для IL-6) и Th-17 (высокая значимость нагрузки  $>0,7$  для IL-17) у пациентов с АКА (ИБС). В группе пациентов с АКА (ИБС) зарегистрированы многочисленные прямые корреляции IL-1 $\beta$  с другими показателями: с IL-2 и с его растворимым рецептором (IL-2R) ( $r=0,60$  и  $0,42$ ,  $p < 0,001$ ); с IL-10 ( $r=0,27$   $p=0,02$ ); с TIMP-1 ( $r=0,44$ ,  $p=0,008$ ); с MMP-9/TIMP-2 ( $r=0,35$ ,  $p=0,005$ ); с TNF $\alpha$  ( $r=0,48$ ,  $p=0,001$ ); IL-17 ( $r=0,28$ ,  $p=0,01$ ); IL-6 ( $r=0,28$ ,  $p=0,03$ ); лептином ( $r=0,24$ ,  $p=0,05$ ) и обратная корреляция IL-1 $\beta$  с адипонектином ( $r=-0,26$ ,  $p=0,05$ ), что доказывает его мультифакторное влияние на различные звенья иммуноопосредованного воспаления и процессы ремоделирования при ишемическом повреждении миокарда. Интерлейкин-6 у пациентов с АКА (ИБС) прямо коррелировал с IL-17 ( $r=0,34$ ,  $p=0,01$ ); с IL-10 ( $r=0,35$ ,  $p=0,03$ ); TNF $\alpha$  ( $r=0,45$ ,  $p=0,002$ ) и с TNF $\alpha$  RII ( $r=0,36$ ,  $p=0,05$ ). Определялась прямая корреляция IL-10 с IL-17 ( $r=0,33$ ,  $p=0,005$ ). Выявленные корреляции подтвержда-

ют синергичную провоспалительную активность IL-6 и IL-17 в ходе ишемического повреждения миокарда. Зарегистрированы прямые корреляции лептина с TIMP-1 и MMP-9/TIMP-1 ( $r=0,23$  и  $0,4$ ,  $p<0,05$ ) у пациентов с АКА (ИБС), что характеризует участие этого адипокина в процессах связывания MMP-9 в ходе ремоделирования миокарда.

Таким образом, при клинически выраженном облитерирующем атеросклерозе нижних конечностей иммунный ответ реализуется за счет увеличения функциональной активности Th-хелперов 1 типа, тогда как, при атеросклерозе коронарных артерий с клиническими проявлениями ишемической болезни сердца, — за счет преимущественной активации клеток врожденного иммунитета и Th-17. Требуется дальнейшие комплексные исследования участия цитокинов, их рецепторов, системы MMP и адипокинов в динамике прогрессирования атеросклероза, что позволит расширить представления о патогенезе заболевания и найти дополнительные диагностические критерии повреждения артериального русла.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Грачев Н. И., Красников В. Е., Турмова Е. П., Маркелова Е. В., Рублев В. Ю., Назаренко С. А. Анализ показателей матричной металлопротеиназы-9, тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ 1-го типа и их комплекса у пациентов с острым инфарктом миокарда, подвергшихся чрескожным коронарным вмешательствам. Тихоокеанский медицинский журнал. 2018, 4, 45–48. [Grachev N. I., Krasnikov V. E., Turmova E. P., Markelova E. V., Rublev V. Yu., Nazarenko S. A. Analysis of indicators of matrix metalloproteinase-9, TIMP-1 and their complex in patients with acute myocardial infarction undergoing percutaneous coronary interventions. Pacific Medical Journal. 2018, 4, 45–48].
2. Фатхуллина А. Р., Пешкова Ю. О., Кольцова Е. К. Роль цитокинов в развитии атеросклероза (обзор). Биохимия. 2016, 81 (11), 1614–1627. [Fatkhullina A. R., Peshkova Yu. O., Koltsova E. K. The role of cytokines in the development of atherosclerosis (review). Biochemistry. 2016, 81 (11), 1614–1627].
3. Yetkin E., Ozturk S., Yetkin G. I. Inflammation in Coronary Artery Ectasia Compared to Atherosclerosis. Int. J. Mol. Sci. 2018, 19(10). E2971. doi: 10.3390/ijms19102971. (Типовая, англоязычная).

## FEATURES OF CYTOKINES, ADIPOKINES, MATRIX METALLOPROTEINASE-9 AND ITS INHIBITORS IMBALANCE, DEPENDING ON THE CLINICAL MANIFESTATIONS OF ATHEROSCLEROSIS

© 2019 E. P. Turmova<sup>1\*</sup>, E. V. Markelova<sup>1</sup>, P. F. Kiku<sup>2</sup>

\*E-mail: Patphis-vl@mail.ru

<sup>1</sup>Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Pacific state medical university» Health Ministry of Russian Federation, Vladivostok, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Far Eastern Federal University» (FEFU), Vladivostok, Russia

Received: 27.02.2019. Accepted: 15.03.2019

140 patients with coronary atherosclerosis (CA), ischemic heart disease (IHD) and 120 people with obliterating atherosclerosis of lower extremities (OALE) were examined. The levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-10, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, IL-2, IL-17, soluble cytokine receptors: IL-2R, IL-6R, TNF $\alpha$  RI and TNF $\alpha$  RII, metalloproteinase-9 and its inhibitors (MMP-9, TIMP-1, MMP-9/TIMP-1, MMP-9/TIMP-2 complexes), adipokines (leptin and adiponectin) in serum. In patients with OALE, increase of IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , TN- $\alpha$  RII, IL-6 and TIMP-1 ( $p<0.05$ ) was registered. By the factor analysis method, it was determined, that the IFN $\gamma$ , IL-2, TNF $\alpha$  and IL-6 have leading pathogenetic significance in OALE. In patients with IHD, pathogenetic significance and increase of the IL-1 $\beta$ , IL-17 and increase of the leptin was revealed.

*Key words:* atherosclerosis, cytokines, metalloproteinases, adipokines

### Authors:

**Turmova E. P.**, ☒ PhD, associate professor of the normal and pathological physiology department FSBE Institution of Higher Education «Pacific state medical university» Health Ministry of Russian Federation, Vladivostok, Russia. E-mail: eturmova@mail.ru;

**Markelova E. V.**, PhD, professor, head of the normal and pathological physiology department FSBE Institution of Higher Education «Pacific state medical university» Health Ministry of Russian Federation, Vladivostok, Russia;

**Kiku P. F.**, Ph.D., professor of Biomedicine school (Preventive medicine department). Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Far Eastern Federal University» (FEFU), Vladivostok, Russia.

## ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ В СОЧЕТАНИИ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ

© 2019 г. А. И. Турянская<sup>1\*</sup>, В. А. Сабыныч<sup>1,2</sup>

\*E-mail: alinakld@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>КГБУЗ «Владивостокский клинико-диагностический центр», Минздрава РФ,  
Владивосток, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 18.03.2019

Изучено содержание про- и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-13) и уровень продукции IFN $\gamma$  в сыворотке крови 110 детей больных бронхиальной астмой в возрасте 3–11 лет. Контрольную группу составили 30 здоровых сверстников. Исследование указанных цитокинов проводили в сыворотке крови в сэндвич-варианте твердофазного иммуноферментного анализа реактивами фирмы «R&D Diagnostics Inc» (USA). У детей больных БА было установлено значительное повышение уровня IL-4, IL-10, IL-13 и выраженное снижение уровня IFN $\gamma$  как в период ремиссии, так и при обострении заболевания. Выявленная тенденция так же характерна для детей с сочетанным течением бронхиальной астмы и аллергического ринита.

**Ключевые слова:** цитокины, интерлейкины, бронхиальная астма, аллергический ринит, дети

DOI: 10.31857/S102872210006983-6

Адрес: 690002 Владивосток, проспект Острякова д. 2, ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, кафедра КЛД, общей и клинической иммунологии, Турянская Алина.

Тел. 89143438985 (моб).

E-mail: irjndj@mail.ru

**Авторы:**

Турянская А. И., ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

Сабыныч В. А., к. м. н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия.

Бронхиальная астма (БА) является хроническим воспалительным заболеванием дыхательных путей, приводящим к повторяющимся приступам сужения бронхов с развитием в последующем структурных изменений в бронхиальной стенке [1, 2]. Механизмы развития воспаления и бронхообструкции реализуются на уровне его медиаторов. Первым источником цитокинов при развитии БА являются тучные клетки, содержащие преформированные провоспалительные цитокины IL-4, IL-13 [1, 3, 4, 5].

По данным литературы, исследованию цитокинового профиля при БА посвящено значительное количество работ, менее изучен этот вопрос при сочетании БА с другими аллергическими заболеваниями. Значимый интерес представляет изучение роли и влияния цитокинового профиля в иммунопатогенезе БА в сочетании с аллергическим ринитом (АР).

**Цель исследования.** Определить уровень сыровоточного содержания цитокинов IL-4, IL-10, IL-13 и продукции IFN $\gamma$  у детей с изолированным течением бронхиальной астмы и в сочетании с аллергическим ринитом

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 120 детей в (возрасте 3–11 лет) с верифицированным диагнозом бронхиальной астмы с клиническим течением средней степени тяжести (n=35) и с верифицированным диагнозом бронхиальной астмы в сочетании с аллергическим ринитом (n=85). Группу сравнения составили 30 здоровых доноров, не имеющих в анамнезе диагноза БА.

Все пациенты наблюдались в городском алерго-респираторном центре КГБУЗ «Владивостокский клиничко-диагностический центр» (главный врач А. А. Кабиева). Материалом исследования являлась сыворотка крови. Уровни интерлейкинов 4, 13, 10 (IL-4, IL-13, IL-10) и интерферон-гамма (IFN $\gamma$ ) в сыворотке крови исследовали в сэндвич-варианте твердофазного иммуноферментного анализа реактивами фирмы «R&D Diagnostics Inc» (USA). Для статистической обработки цифровых данных использовали методы описательной, параметрической статистики программы «Statistica 10», с критическим уровнем значимости  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании у здоровых детей определены показатели цитокинового профиля: IL-4 –  $1,49 \pm 0,03$  пг/мл, IL-13 –  $5,06 \pm 0,43$  пг/мл, IL-10 –  $1,45 \pm 0,15$  пг/мл, уровень продукции IFN $\gamma$  составил –  $29,63 \pm 0,57$  пг/мл. В период клинической ремиссии у детей с БА исследуемые показатели составили: IL-4 –  $6,53 \pm 0,18$  пг/мл, IL-13 –  $15,53 \pm 0,92$  пг/мл, IL-10 –  $8,06 \pm 0,66$  пг/мл, IFN $\gamma$  –  $5,42 \pm 0,43$  пг/мл. При обострении заболевания данные показатели достоверно ( $p > 0,05$ ) не изменялись: IL-4 –  $7,41 \pm 0,24$  пг/мл, IL-13 –  $15,64 \pm 1,31$  пг/мл, IL-10 –  $7,52 \pm 0,92$  пг/мл, IFN $\gamma$  –  $4,67 \pm 0,33$  пг/мл. У детей с верифицированным диагнозом бронхиальной астмы в сочетании с аллергическим ринитом в период клинической ремиссии показатели составили: IL-4 –  $6,39 \pm 0,16$  пг/мл, IL-13 –  $15,97 \pm 0,85$  пг/мл, IL-10 –  $7,17 \pm 0,34$  пг/мл, IFN $\gamma$  –  $5,00 \pm 0,27$  пг/мл. В период обострения исследуемые показатели не изменялись ( $p > 0,05$ ): IL-4 –  $7,70 \pm 0,33$  пг/мл, IL-13 –  $17,49 \pm 1,35$  пг/мл, IL-10 –  $8,91 \pm 0,97$  пг/мл, IFN $\gamma$  –  $4,61 \pm 0,20$  пг/мл. В результате проведенного исследования при сравнении изучаемых показателей детей с БА и здоровых сверстников в период клинической ремиссии установ-

лена значительная ( $p < 0,001$ ) активация продукции IL-4, IL-10, IL-13 и угнетение спонтанной продукции IFN $\gamma$  ( $p < 0,001$ ). В период обострения уровни цитокинов значимо не изменялись ( $p > 0,05$ ). В группе детей больных БА и АР наблюдалась аналогичная тенденция. Статистически значимых межгрупповых различий исследуемых параметров ( $p > 0,05$ ) зафиксировано не было.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Agache I., Akdis C., Jutel M., Virchow J. C.* Untangling asthma phenotypes and endotypes // *Allergy*. 2012. Vol. 67. P. 835–846.
2. *Борисова Т. В., Сокуренок С. И., Караулов А. В.* Особенности цитокинового профиля, фенотипа и фагоцитарной активности нейтрофилов в крови больных бронхиальной астмой в период обострения. *Клиническая практика*. 2013; Т. 15, (3):11–19. [*Borisova T. V., Sokurenko S. I., Karaulov A. V.* Features of the cytokine profile, phenotype and phagocytic activity of neutrophils in the blood of patients with bronchial asthma during the exacerbation. *Clinical practice*. 2013; T.15, (3): 11–19].
3. *Борисова Т. В., Кисилевский М. В., Анисимова Н. Ю., Бондаренко Н. Л., Караулов А. В.* Изменения цитокинового профиля, клеточного и гуморального иммунитета и их коррекция при бронхиальной астме // *Аллергология и иммунология*. – 2017. – № 3. – С. 164–167. [*Borisova T. V., Kisilevsky M. V., Anisimova N. Yu., Bondarenko N. L., Karaulov A. V.* Changes in the cytokine profile, cellular and humoral immunity and their correction in bronchial asthma // *Allergol. and immunology*. – 2017. – № 3. – p. 164–167.]
4. *Резанович А. И.* Фенотипы бронхиальной астмы, определяемые типом воспаления // *Науч.–мед. вестн. Югры*. – 2016. – № 2 (10). – С. 48–53. [*Rezhanovich A. I.* Phenotypes of bronchial asthma, determined by the type of inflammation // *Scientific. notable Ugra*. – 2016. – № 2 (10). – p. 48–53].
5. *Симбирцев А. С.* Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. СПб: Фолиант, 2018. 512с. [*Simbirtsev A. S.* Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases. St. Petersburg: Foliant, 2018. 512 p].

**PECULIARITIES OF THE CYTOKINE PROFILE IN CHILDREN  
WITH BRONCHIAL ASTHMA IN COMBINATION  
WITH ALLERGIC RHINITIS**

© 2019 A. I. Turyanskaya<sup>1</sup>, V. A. Sabynych<sup>1,2</sup>

\*E-mail: irjndj@mail.ru

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Pacific State Medical University” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Vladivostok, Russia;

<sup>2</sup>Regional State Budgetary Healthcare Institution “Vladivostok Clinical and Diagnostic Centre”, Vladivostok, Russia

**Received:** 27.02.2019. **Accepted:** 18.03.2019

We have studied the content of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10, IL-13) and level of IFN $\gamma$  – production in blood serum of 110 children with bronchial asthma aged 3–11 years old. The control group consisted of 30 healthy children of the same age. The said cytokines were analyzed in blood serum using sandwich ELISA technique and chemical reagents by R&D Diagnostics Inc (USA). Both during remission and exacerbation, levels of IL-4, IL-10, IL-13 in children with BA was found to be significantly higher, and the level of IFN $\gamma$  – considerably lower. The identified tendency is also typical for children with combined bronchial asthma and allergic rhinitis.

*Key words:* cytokines, interleukin, bronchial asthma, children

**Authors:**

**Turyanskaya A. I.**, ✉ Assistant of Department of Clinical Laboratory Diagnostics and General and Clinical Immunology, “Pacific State Medical University”, Vladivostok, Russia. **E-mail:** irjndj@mail.ru;

**Sabynych V. A.**, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Department of Clinical Laboratory Diagnostics and General and Clinical Immunology, “Pacific State Medical University”, Vladivostok, Russia.

## РАННИЕ ЦИТОКИНОВЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ОСТРОГО ОТТОРЖЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ

© 2019 г. Т. В. Федоренко<sup>1,2</sup>, Н. В. Колесникова<sup>1\*</sup>, И. А. Пашкова<sup>2</sup>

\*E-mail: nvk24071954@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия;

<sup>2</sup>Краевой координационный центр органного донорства ГБУЗ «НИИ ККБ № 1» им. С. В. Очаповского, Краснодар, Россия

Поступила: 12.02.2019. Принята: 26.02.2019

Изучение протективной роли цитокинов крови, оцениваемых методом мультиплексного анализа перед трансплантацией почки у реципиентов с хронической болезнью почек, показало, что предикторами острого отторжения трансплантата почки у реципиентов можно считать высокое содержание в плазме IL-17A, IL-1RA, IL-33, CCL2, а также дефицит BDNF и CCL1. Ранними признаками благоприятного посттрансплантационного периода является полное отсутствие или крайне низкий уровень IL-1β, IL-6, IL-17A, снижение содержания LIF, IL-33, CXCL12), а также высокий уровень CXCL8, CXCL10, IFNγ и CCL5.

**Ключевые слова:** цитокины, острое отторжение, трансплантат, диагностика

DOI: 10.31857/S102872210006984-7

**Адрес:** 350063, Краснодар, ул. Седина, д. 4, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, кафедра клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС. Колесникова Наталья Владиславовна.  
Тел. 89186252525 (моб).

**E-mail:** nvk24071954@mail.ru

**Авторы:**

**Федоренко Т. В.**, аспирант кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России; биолог лаборатории Краевого координационного центра органного донорства ГБУЗ «НИИ ККБ № 1» им. С. В. Очаповского, Краснодар, Россия;

**Колесникова Н. В.**, д.б.н., профессор, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия;

**Пашкова И. А.**, д.м.н., руководитель Краевого координационного центра органного донорства ГБУЗ «НИИ ККБ № 1» им. С. В. Очаповского, Краснодар, Россия.

Неблагоприятные прогнозы трансплантации донорских органов не ограничиваются детекцией антигенной системы HLA и аллогенных антител против других антигенных систем [1], к тому же их обнаружение как до, так и после трансплантации, не является абсолютным признаком отторжения трансплантата [2]. Это обуславливает интерес к поиску более надежных и ранних критериев посттрансплантационного

отторжения и в этом отношении перспективно изучение цитокинов, о роли которых в развитии аллоиммунного воспалительного ответа, свидетельствуют некоторые данные современной литературы [3], и оценка их содержания непосредственно перед трансплантацией может оказать неоценимую помощь в ранней диагностике посттрансплантационных осложнений. В этой связи **целью исследования** явилось изучение протективной роли различных групп цитокинов крови (интерлейкинов, интерферонов, факторов роста, хемокинов), оцениваемых до трансплантации почки у реципиентов с хронической болезнью почек с благоприятным и отягощенным (острое отторжение) посттрансплантационным периодом с учетом индукции антител к антигенам гистосовместимости (HLA).

Под наблюдением находилось 58 реципиентов донорской почки по поводу терминальной стадии хронической болезни почек (ХБП), которые в зависимости от характера течения посттрансплантационного периода (180 дней) и обнаружения HLA-антител в этот период, были распределены на 3 клинические группы: 1 группа – 43 (74,1%) пациента без HLA-антител и с неосложненным течением послеоперационного периода (без острого отторжения);

2 группа – 7 (12,1%) пациентов с HLA-антителами, но без клинических проявлений отторжения; 3 группа – 8 (13,8%) пациентов с осложненным течением послеоперационного периода (с острым отторжением) с обнаружением HLA-антител. За 6 часов до трансплантации аллогенной почки в плазме крови у реципиентов методом мультиплексного анализа с использованием панели цитокинов Simplex Procarta Plex (Bioscience, США) и технологии xMAP (принцип проточной цитометрии) определяли содержание про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IL-4, IL-6, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-18, IFN $\alpha$ , IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ), факторов роста (GM-CSF, NGF- $\beta$ , BDNF, EGF, HGF, LIF, PDGF-BB, PIGF-1, SCF, VEGF-A, VEGF-D, IL-2, -7, -15, -33), а также хемокинов семейства CC (CCL11, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5) и семейства CXC (CXCL1, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12). Идентификацию HLA-антител также осуществляли методом мультиплексного иммунологического анализа, с использованием соответствующих тест-систем (Gen-Prob, США) и проточного анализатора Luminex 200 по технологии xMap (бимолекулярные реакции на поверхности микросфер). Статистическую обработку полученных данных выполняли с применением статистической программы «GraphPadPrism 6.0» с оценкой непараметрического U теста Манна-Уитни (Mann-Whitney U). Достоверными считались различия при  $p \leq 0,05$  ( $\leq 5\%$ ).

Результаты исследования про- и противовоспалительных интерлейкинов реципиентов с ХБП накануне трансплантации аллогенной почки, свидетельствуют о том, что достоверным предиктором острого отторжения с высокой степенью вероятности можно считать только возрастание провоспалительного IL-17A, поскольку в группах с неосложненным посттрансплантационным периодом (1 и 2 группа), а также у здоровых лиц он не был обнаружен в плазме крови за 6 часов до трансплантации. Остальные про- и противовоспалительные цитокины, по-видимому, следует рассматривать как показатели клинической тяжести ХБП (наиболее выраженное возрастание провоспалительного IL-6 и противовоспалительного IL-1RA в 3 группе пациентов с ХБП), тогда как критериями благоприятного исхода трансплантации почки (без развития отторжения и образования HLA-антител) следует считать отсутствие или крайне низкий уровень провоспалительных интерлейкинов – IL-1 $\beta$ , IL-6,

IL-17A. В этой связи уместно вспомнить, что IL-17A, стимулируя продукцию макрофагами IL-6 и TNF $\alpha$ , вовлечен в механизмы повреждения трансплантата [4], тогда как его дефицит или блокада анти-IL-17A-антителами способствует благоприятному течению послеоперационного периода и выживаемости трансплантата [5]. Результаты исследований концентрации провоспалительных IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$  продемонстрировали ее однонаправленное увеличение, однако прогностически благоприятным следует считать возрастание IFN $\gamma$  в диапазоне от 44,50 до 74,42 пг/мл, поскольку более значительный рост концентрации IFN $\gamma$  (более чем в 2,5 раза выше нормы) создает угрозу выживаемости трансплантата и коррелирует с образованием HLA-антител даже в группе с неосложненным течением посттрансплантационного периода. Кроме того, исходно высокий уровень содержания TNF $\alpha$  у реципиентов с ХБП накануне трансплантации, не позволяет считать его надежным прогностически значимым критерием отторжения из-за сходства направленности изменений во всех клинических группах. Результаты исследования плазменных факторов роста позволили считать ранним признаком острого отторжения трансплантируемой почки увеличение концентрации IL-33 и резкое снижение содержания фактора, стимулирующего и поддерживающего развитие нейронов (BDNF), а маркером благоприятного течения посттрансплантационного периода – достоверное снижение содержания фактора, ингибирующего лейкозные клетки (LIF) и IL-33, соответственно. Изучение диагностической значимости хемокинов семейства CXC не позволило выявить среди них предикторы острого отторжения, но ранними предтрансплантационными биомаркерами благоприятного течения послеоперационного периода с выработкой HLA антител вполне можно считать возрастание концентрации IL-8 (CXCL8), IP-10 (CXCL10), и снижение содержания SDF-1 $\alpha$  (CXCL12), независимое от выявления HLA-антител. Между тем среди CC-хемокинов были обнаружены предикторы острого отторжения, поскольку только у реципиентов 3 группы было обнаружено достоверное увеличение в плазме концентрации MCP-1 (CCL2) и выраженный дефицит эотаксина CCL11, а, кроме того, биомаркером неосложненного течения посттрансплантационного периода с выработкой HLA-антител можно считать резкое (более чем в 5 раз) увеличение плазменной концентрации RANTES (CCL5). Анализируя в целом ре-

зультаты проведенного исследования, следует заключить, что предикторами острого отторжения трансплантата почки у реципиентов с ХБП накануне трансплантации можно считать высокий уровень в плазме IL-17A, IL-1RA (в 13 раз), IL-33, IFN $\gamma$  (более чем в 3 раза), MCP-1 (CCL2), а также количественный дефицит фактора развития нейронов (BDNF) и эотаксина CCL11. При этом прогностически значимыми ранними признаками благоприятного посттрансплантационного периода является полное отсутствие или крайне низкий уровень IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17A, снижение фактора, ингибирующего лейкозные клетки (LIF), IL-33, SDF-1 $\alpha$  (CXCL12), а также повышение в плазме крови до трансплантации IL-8 (CXCL8), IP-10 (CXCL10), IFN $\gamma$  и резкое (более чем в 5 раз) увеличение плазменной концентрации RANTES (CCL5). Исходя из значимости прогностических биомаркеров для ранней диагностики и мониторинга любого клинического состояния после трансплантации почки [6], полученные в исследовании данные о спектре цитокинов различных классов, как предикторов благоприятного и осложненного течения периода после трансплантации почки, могут найти широкое практическое применение.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Reinsmoen N. L., Lai C. H., Mirocha J., Cao K., Ong G., Naim M., Wang Q., Haas M., Rafiei M., Czer L., Patel J., Kobashigawa J.* Increased negative impact of donor HLA-specific together with non-HLA-specific antibodies on graft outcome. *Transplantation*, 2014, 97, 595–601.
2. *Cozzi E., Calabrese F., Schiavon M., Feltracco P., Seveso M., Carollo C. Loy M., Cardillo M., Rea F.* Immediate and catastrophic antibody-mediated rejection in a lung transplant recipient with anti-angiotensin II receptor type 1 and anti-endothelin-1 receptor type A antibodies. *Am J Transplant*, 2017, 17, 557–564.
3. *Rotondi M., Netti G. S., Lazzeri E., Stallone G., Bertoni E., Chiovato L., Grandaliano G., Gesualdo L., Salvadori M., Schena F. P., Romagnani P., Serio M.* High pre-transplant serum levels of CXCL9 are associated with increased risk of acute rejection and graft failure in kidney graft recipients. *TransplInt*, 2010, 23, 465–475.
4. *Lemaître P. H., Vokaer B., Charbonnier L. M., Iwakura Y., Estenne M., Goldman M., Leo O., Rimmelink M., Le Moine A.* IL-17A mediates early post-transplant lesions after heterotopic trachea allotransplantation in Mice. *PloS one*, 2013, 8, 7, 70236.
5. *Yin X. T., Zobell S., Jarosz J. G., Stuart P. M.* Anti-IL-17 Therapy Restricts and Reverses Late-Term Corneal Allorejection. *The Journal of Immunology*, 2015, 194, 8.– С. 4029–4038.
6. *Lo D. J., Kaplan B., Kirk A. D.* Biomarkers for kidney transplant rejection. *Nat Rev Nephrol.*, 2014, 10, 215–225.

## EARLY CYTOKINE PREDICTORS OF ACUTE REJECTION OF KIDNEY TRANSPLANT

© 2019 T. V. Fedorenko<sup>1,2</sup>, N. V. Kolesnikova<sup>1\*</sup>, I. A. Pashkova<sup>2</sup>

\*E-mail: nvk24071954@mail.ru

<sup>1</sup>“Kuban state medical University” of the Ministry of health care of the Russian Federation, Krasnodar, Russia;

<sup>2</sup>Regional coordination center of organ donation of the Regional clinical hospital № 1, Krasnodar, Russia

Received: 12.02.2019. Accepted: 26.02.2019

The study of the protective role of blood cytokines evaluated by multiplex analysis before kidney transplantation in recipients with chronic kidney disease showed that the predictors of acute kidney transplant rejection in recipients can be considered high plasma levels of IL-17A, IL-1RA, IL-33, CCL2, as well as BDNF and ccl1 deficiency. The early signs of a favorable post-transplant period are complete absence or extremely low levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17A, decreased levels of LIF, IL-33, CXCL12), as well as high levels of CXCL8, CXCL10, IFN $\gamma$  and CCL5.

*Key words:* cytokines, acute rejection, graft, diagnosis

### Authors:

**Fedorenko T. V.**, post-graduate student of the Department of Clinical immunology, allergology and laboratory diagnostics Kuban state medical University of the Ministry of health care of the Russian; laboratory biologist of the Regional coordination center of organ donation of the Regional clinical hospital-1, Krasnodar, Russia;

**Kolesnikova N. V.**, ✉ professor of the Department of Clinical immunology, allergology and laboratory diagnostics Kuban state medical University of the Ministry of health care of the Russian. **E-mail:** nvk24071954@mail.ru;

**Pashkova I. A.**, head of the Regional coordination center of organ donation of the Regional clinical hospital-1, Krasnodar, Russia.

## ЭФФЕКТ АЛЛОИММУНИЗАЦИИ ЛИМФОЦИТАМИ МУЖА НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЖЕНЩИНЫ ПРИ ВЫСОКОМ СХОДСТВЕ ПАРТНЕРОВ ПО АНТИГЕНАМ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ

© 2019 г. А. В. Федорова<sup>2</sup>, Н. А. Хонина<sup>1\*</sup>

\*E-mail: nkhonina@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>«Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»  
Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

В работе исследован уровень пролиферативного ответа мононуклеарных клеток женщины на антигены партнера в однонаправленной смешанной культуре лимфоцитов при различном сходстве партнеров по антигенам II класса главного комплекса гистосовместимости. Установлено, что пары с высокой степенью сходства (по 5–6 антигенам) характеризуются достоверно более низким уровнем пролиферации лимфоцитов на аллоантигены по сравнению с группой, у которых такое сходство отсутствует. Проведение аллоиммунизации лимфоцитами партнера сопровождается усилением пролиферации клеток на аллоантигены. Однако при сходстве по 3 и более антигенам регистрируется достоверно более низкий пролиферативный ответ, чем при минимальном или полном отсутствии совместимости по антигенам II класса.

**Ключевые слова:** бесплодие, антигены гистосовместимости, пролиферативный ответ, смешанная культура лимфоцитов

DOI: 10.31857/S102872210006985-8

Адрес: 630099 Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, ФГБНУ НИИФКИ Хонина Наталья Алексеевна.

Тел./факс: +7(383)2282101

E-mail: nkhonina@mail.ru

Авторы:

**Федорова А. В.**, студентка 5 курса «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» Новосибирск, Россия.

**Хонина Н. А.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

Бесплодие неясного генеза остается одной из наиболее сложных проблем в репродуктивной медицине. У женщин могут отсутствовать анатомические дефекты репродуктивной системы, гинекологические заболевания, эндокринная патология, исключен мужской фактор, но беременность либо не наступает, либо прерывается на ранних стадиях. Одним из факторов, негативно влияющих на имплантацию и ранние сроки беременности, являются иммунные дис-

функции, которые вызывают нарушение формирования иммунологической толерантности и, как следствие, невынашивание беременности [1]. Отсутствие толерантности к аллоантигенам плода может быть следствием высокого сходства партнеров по HLA антигенам главного комплекса гистосовместимости (ГКС), что проявляется снижением пролиферативного ответа на аллоантигены и недостаточной продукцией блокирующих факторов. Аллоиммунизация лимфоцитами (АИЛ) мужа направлена на коррекцию иммунных дисфункций у женщин с бесплодием [2, 3, 4]. Однако не ясно насколько АИЛ способна усилить пролиферативный ответ клеток на антигены партнера при высокой степени ГКС.

В настоящей работе проведен сравнительный анализ уровня пролиферации лимфоцитов женщины на антигены партнера до и после проведения АИЛ в зависимости от степени их сходства по антигенам II класса ГКС.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 282 женщины, обследованные в НИИФКИ в период с 2013 по 2017 гг., с первичным и вторичным (ПНБ) бесплодием. Возраст женщин варьировал от 24 до 39 лет (в среднем  $32,4 \pm 2,4$  года). У женщин с первичным бесплодием ( $n=130$ ) не была выявлена причина infertility (регулярный овуляторный менструальный цикл, проходимость маточных труб, фертильная сперма партнера, отсутствие анатомических дефектов репродуктивных органов). У женщин с вторичным бесплодием ( $n=152$ ) в анамнезе регистрировалось не менее 3 беременностей, которые закончились потерей плода. Пролиферативный ответ мононуклеарных клеток женщины (МНК) оценивали в однонаправленной смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ), где МНК женщины ( $0,1 \times 10^6$ ) культивировали с МНК партнера ( $0,1 \times 10^6$ ), обработанных митомицином С (40 мкг/мл), в течение 5 суток в присутствии 10% сыворотки мужа или сыворотки женщины. Интенсивность пролиферации МНК оценивали радиометрически по включению  $^3\text{H}$ -тимидина. Всем женщинам была проведена процедура АИЛ клетками мужа, при наличии у него отрицательных анализов на содержание HBS антигенов, антител к гепатиту С, RW и ВИЧ. Первый курс АИЛ состоял из 3 подкожных инъекций МНК ( $20-25 \times 10^6$  клеток), выделенных из периферической крови мужа. После завершения курса АИЛ проводили повторное иммунологическое обследование.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень пролиферативного ответа клеток женщин в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ) варьировал от 898 до 30112 имп/мин и в среднем составил – 4365 имп/мин. В зависимости от степени сходства по антигенам II класса ГКС (DRB1, DQA1, DQB1) пары были разделены на 4 группы: 1-ю группу составили пары с отсутствием сходства по антигенам ГКС; во 2-ю группу вошли пары со сходством по 1–2 антигенам; в 3-ю группу включили пары со сходством по 3–4 антигенам и 4-ю группу составили пары с высокой степенью гистосовместимости (5–6 антигенов). Исследования показали, что уровень пролиферации МНК в группе 1 и 2 был сопоставим ( $5254$  vs  $5009$  имп/мин;  $p=0,08$ ), в 3-й группе отмечена тенденция к более низкому пролиферативному ответу по сравнению с 1 группой

( $4602$  vs  $5009$  имп/мин;  $p=0,1$ ). У женщин из 4-й группы уровень пролиферации был на 60% ниже и достоверно отличался от такового в 1-й группе ( $3210$  vs  $5009$  имп/мин;  $p=0,04$ ). Проведение АИЛ сопровождалось повышением ответа МНК на аллоантигены во всех группах. При этом достоверное повышение уровня пролиферации клеток получено только в 1-й и 2-й группах, где регистрировалось отсутствие или минимальное сходство партнеров по антигенам ГКС. У пациентов из 3-й и 4-й групп отмечалось усиление пролиферации клеток на уровне тенденций. Уровень пролиферативного ответа клеток после проведения АИЛ был максимальный в группе 1 и достоверно отличался от такового в группе 3 ( $5634$  vs  $6253$  имп/мин;  $p=0,04$ ) и группе 4 ( $4571$  vs  $6253$  имп/мин;  $p=0,04$ ). Однако, различия между параметрами в оппозиционных группах (с отсутствием сходства и высокой степенью гистосовместимости) после проведения АИЛ снижались и составили 27%.

Полученные результаты свидетельствуют, что при высокой степени гистосовместимости партнеров регистрируется более низкий пролиферативный ответ лимфоцитов на антигены мужа по сравнению с парами, у которых отсутствует сходство по антигенам ГКС. Проведение АИЛ сопровождается повышением уровня пролиферации клеток, однако, данный показатель остается наиболее низким при высокой степени гистосовместимости партнеров.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Shankarkumar U., Pawar A., Gaonkar P., Parasannavar D., Salvi V., Ghosh K. HLA allele associations in idiopathic recurrent spontaneous abortion patients from India. *J Hum Reprod Sci.* 2008, 1, 19–24.
2. Cavalcante M. B., Sarno M., Niag M. Lymphocyte immunotherapy for recurrent miscarriages: Predictors of therapeutic success. *Am J Reprod Immunol.* 2018, 79: e12833. doi: 10.1111/aji.12833.
3. Günther V., Alkatout I., Junkers W., Maass N., Ziemann M., Görg S., von Otte S. Active Immunisation with Partner Lymphocytes in Female Patients Who Want to Become Pregnant – Current Status. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2018, 178, 260–273. doi: 10.1055/s-0044-101609.
4. Khonina N. A., Broitman E. V., Shevela E. Y., Pashman N. M., Chernykh E. R. Mixed lymphocyte reaction blocking factors (MRL-Bf) as potential biomarker for indication and efficacy of paternal lymphocyte immunization in recurrent spontaneous abortion. *Arch Gynecol Obstet.* 2013, 288, 933–7. doi: 10.1007/s00404-013-2832-x.

**THE EFFECT OF ALLOIMMUNIZATION BY HUMAN LYMPHOCYTES  
ON THE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF WOMAN CELLS  
WITH A HIGH FREQUENCY OF HLA SHARING**

© 2019 A. V. Fedorova<sup>2</sup>, N. A. Khonina<sup>1\*</sup>

\*E-mail: [nkhonina@mail.ru](mailto:nkhonina@mail.ru)

<sup>1</sup>*Federal Budget Institution of Science «Research Institute of fundamental and clinical immunology», Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 28.03.2019

The level of the proliferative response of female cells to partner antigens in women with a high degree of HLA sharing in couples is significantly lower than in women with no HLA similarity. The alloimmunization of the partner's lymphocytes is accompanied by an increase in the proliferative response in all groups of women regardless of HLA sharing. However, woman with a high sharing of HLA antigens have a lower level of cell proliferation than woman with no sharing of HLA antigens.

*Key words:* infertility, HLA sharing, proliferative response, mixed lymphocyte culture

**Authors:**

**Fedorova A. V.**, student of NSU, Novosibirsk, Russia;

**Khonina N. A.**, ✉ MD, PhD, Leading Researcher of the Laboratory of Cell Immunotherapy of Federal Budget Institution of Science «Research Institute of fundamental and clinical immunology», Novosibirsk, Russia. **E-mail:** [nkhonina@mail.ru](mailto:nkhonina@mail.ru)

## АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПУТИ АКТИВАЦИИ ХЕМОТАКСИСА КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА

© 2019 г. А. Б. Филина<sup>1,3\*</sup>, О. А. Свитич<sup>1,3</sup>, А. К. Голенков<sup>2</sup>,  
Е. Ф. Клинушкина<sup>2</sup>, В. В. Зверев<sup>1,3</sup>

\*E-mail: byzonka@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России  
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

Одними из основных факторов врожденного иммунитета, участвующих в опухолевой прогрессии и метастазировании, являются TLRs, лиганды TLRs, хемокины и их рецепторы. Взаимосвязь вышеназванных факторов и онкологического процесса стала изучаться не так давно, однако последнее десятилетие активно исследуется учеными всего мира. Несмотря на большой интерес к данной проблеме, до сих пор более детальное изучение касается лишь нескольких хемокинов, таких как CXCL12, CCL8 и их рецепторов, а также TLRs и их лигандов. Таким образом, в нашей работе мы хотели изучить возможные варианты опосредованного хемотаксиса клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), а также влияние активации гетерологичных рецепторов друг на друга.

**Ключевые слова:** хемотаксис, лейкоз, TLRs, CXCL12, хемокины

DOI: 10.31857/S102872210006986-9

Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д. 5а  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» лаборатория молекулярной иммунологии, Филина Александра Борисовна.

Тел.: +79096915157; E-mail: byzonka@yandex.ru.

**Авторы:**

**Филина А. Б.**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

**Свитич О. А.**, чл.- корр. РАН, д.м.н, директор ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

**Клинушкина Е. Ф.**, врач гематолог, заведующая отделением клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия;

**Голенков А. К.**, д.м.н., профессор, врач гематолог, руководитель клиники клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия;

**Зверев В. В.**, академик РАН, профессор, д.б.н., научный руководитель ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия.

Роль факторов врожденного иммунитета в опухолевом процессе активно изучается последнее десятилетие, и из многочисленных исследований показано, что эта роль является немаловажной. Одними из основных факторов врожденного иммунитета, участвующих в опухо-

левой прогрессии и метастазировании, являются TLRs, лиганды TLRs, хемокины и их рецепторы. Взаимосвязь вышеназванных факторов и онкологического процесса стала изучаться не так давно, однако последнее десятилетие активно исследуется учеными всего мира. Несмотря на большой интерес к данной проблеме, до сих пор более детальное изучение касается лишь нескольких хемокинов, таких как CXCL12, CCL8 и их рецепторов, а также TLRs и их лигандов [1–3]. На настоящий момент существует достаточно большое количество исследований, направленных лишь на один из вышеперечисленных факторов, в то время как взаимовлияние их друг на друга недостаточно изучено.

Таким образом, **целью работы** было изучение влияния хемокинов и TLRs лигандов на миграцию клеток лейкоза, а также на экспрессии CXCL12 и CCR4 в мигрировавших клетках.

### МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

В качестве материала исследования были использованы клеточные линии K562, Reh (лаборатория экспериментальной иммунологии

ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова) и мононуклеарные клетки (МНК), выделенные от пациентов с острым миелоидным лейкозом (М4) до и после химиотерапии (пациенты отделения клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского). В качестве хемоаттрактанта использовался CXCL12 (ThermoFisher, США). В качестве лиганда TLR9 использовался DNA\_lig, синтезированный на базе лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова. Исследование хемотаксиса клеток проводилось через 15, 60 минут и через сутки с использованием камеры Бойдена с размерами пор 5 и 8 мкм (MERCK MultiScreen Migration Invasion and Chemotaxis Filter Plate, Германия). Экспрессия генов CXCL12, CCR4, TLR9 изучалась с использованием метода ПЦР-РВ на амплификаторе ДТпрайм («ДНК-Технология», РФ). Статистический анализ проводили с использованием компьютерной статистической программой BioStat, а также программы Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследовались спонтанная и индуцированная миграция клеточных линий и МНК, выделенных от здоровых доноров и пациентов с ОМЛ до и после химиотерапии. Получены данные о снижении миграции клеток линии K562 после воздействия DNA\_lig через 15 и 60 минут, и об активирующем действии CXCL12 на миграцию клеточной линии Reh через 60 минут и сутки. Исследование миграции МНК, выделенных от здоровых доноров показало снижение миграции клеток после воздействия DNA\_lig через 60 минут от начала эксперимента. Индуцированный CXCL12 хемотаксис МНК здоровых пациентов достоверно выше относительно контроля в два раза на протяжении всего эксперимента, в то время как миграция МНК пациентов с ОМЛ до начала химиотерапии достоверно ниже контроля через 60 минут и достоверно ниже нормы через 15 и 60 минут в 2 и 10 раз соответственно. После проведения химиотерапии CXCL12 обладает активирующим эффектом на миграцию МНК, которая достоверно выше относительно контроля через 60 минут в 2 раза, но достоверно ниже нормы через 60 минут в 3,5 раза. На втором этапе была изучена экспрессия CXCL12 и CCR4 под действием CXCL12 в МНК здоровых доноров и пациентов с ОМЛ до химиотерапии. Выявлена повышенная экспрессия гена CXCL12 в МНК здоровых доноров через 24 часа и CCR4 через 15 и 60 ми-

нут в контроле относительно CXCL12-стимулированных клетках. Экспрессия CXCL12 в МНК, выделенных от пациентов с ОМЛ до химиотерапии в контроле выше чем в CXCL12-стимулированных клетках в 13 и 4 раз через 15 и 60 минут соответственно. Экспрессия CCR4 в мигрировавших МНК, выделенных от пациентов с ОМЛ до начала химиотерапии, под действием CXCL12 была достоверно выше контроля через 15 минут в 16 раз и ниже в 18 раз относительно контроля через сутки.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенном нами исследовании было выявлено, что DNA\_lig снижает миграцию клеток миелоидного ряда (клеточная линия K562), что возможно опосредованно более высокой экспрессией эндосомальных TLRs, нежели в клетках лимфоидного ряда. DNA\_lig подавляет миграцию МНК здоровых доноров, а также экспрессию CXCL12, что опосредованно может влиять на снижение аутоактивации хемотаксиса. Было выявлено, что МНК от пациентов с острым миелоидным лейкозом вырабатывают самостоятельно хемокин CXCL12 в уровнях, превышающих выработку в МНК здоровых доноров, что может приводить к неответственности этих клеток на внешне вводимый CXCL12 и десенситизации рецепторов CXCL12. Данный феномен приводит к нарушению хоминга клеток в красный костный мозг. Также в группе с ОМЛ до химиотерапии после воздействия CXCL12 происходит кратковременное повышение экспрессии CCR4, затем резкое снижение, что, может говорить о десенситизации гетерологичных рецепторов. Из вышесказанного следует, что миграция клеток лейкоза не так однозначна, так как помимо хемоаттрактантов, она может опосредованно регулироваться другими группами цитокинов, а также лигандами TLRs, что требует дальнейшего изучения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mills S. C., Goh P. H., Kudatsih J., Ncube S., Gurung R., Maxwell W., & Mueller A. (2016). Cell migration towards CXCL12 in leukemic cells compared to breast cancer cells. *Cellular Signalling*, 28(4), 316–324
2. Pradere J. P., Dapito D. H., & Schwabe R. F. (2013). The Yin and Yang of Toll-like receptors in cancer. *Oncogene*, 33(27), 3485–95.
3. Webb R. N., Cruse J. M., & Lewis R. E. (2007). Differential cytokine and Toll-like receptor expression in leukemia. *Experimental and Molecular Pathology*, 83(3), 464–470.

## ALTERNATIVE WAYS TO ACTIVATE THE CHEMOTAXIS OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA CELLS

© 2019 A. B. Filina<sup>1,3\*</sup>, O. A. Svitich<sup>1,3</sup>, A. K. Golenkov<sup>2</sup>,  
E. F. Klinushkina<sup>2</sup>, V. V. Zverev<sup>1,3</sup>

\*E-mail: byzonka@yandex.ru

<sup>1</sup>Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>SBHI of MA MRRCI n.a. M. F. Vladimirovskiy, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>First Moscow I. M. Sechenov State Medical University, Moscow, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 01.04.2019

One of the main factors of innate immunity involved in tumor progression and metastasis are TLRs, ligands of TLRs, chemokines and their receptors. The relationship between the above factors and the oncological process was studied not recently, but the last decade has been actively studied by scientists from all over the world. Despite the great interest in this issue, a more detailed study so far concerns only a few chemokines, such as CXCL12, CCL8 and their receptors, as well as TLRs and their ligands. Thus, in our work, we wanted to explore possible options for mediated chemotaxis of leukemia cells, as well as the effect of heterologous receptor activation on each other.

*Key words:* chemotaxis, leukemia, TLRs, CXCL12, chemokines

### Authors:

**Filina A. B.**, ✉ Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: byzonka@yandex.ru;

**Svitich O. A.**, Cor. Memb. RAS, Ph D., director of the Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

**Klinushkina E. F.**, hematologist, head of the department of clinical hematology and immunotherapy, SBHI of MA MRRCI n.a. M. F. Vladimirovskiy, Moscow, Russia;

**Golenkov A. K.**, PhD, professor, hematologist, head of the clinic of clinical hematology and immunotherapy, SBHI of MA MRRCI n.a. M. F. Vladimirovskiy, Moscow, Russia;

**Zverev V. V.**, PhD, Academician of RAS, DSc, Scientific Director of the Research, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia.

## УРОВНИ IL-6 И IFN- $\gamma$ У ДЕТЕЙ С ШИЗОФРЕНИЕЙ И РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА С РАЗЛИЧНЫМИ ФЕНОТИПАМИ СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ

© 2019 г. Ю. Ю. Филиппова\*, А. Л. Бурмистрова

\*E-mail: [julse@rambler.ru](mailto:julse@rambler.ru)

ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 29.03.2019

В работе приведены результаты исследования уровней важных регуляторных медиаторов нейрогенеза и нейропластичности: IL-6 и IFN- $\gamma$ , в плазме крови детей с шизофренией и расстройствами аутистического спектра с различными фенотипами социального поведения. Обнаружено, что дети с шизофренией имеют значимо высокие уровни исследуемых цитокинов как по сравнению с типично развивающимися детьми, так и с детьми с аутизмом. Гетерогенная группа детей с аутизмом – «Регресс», особенностью которой является частичная потеря ранее приобретённых социальных навыков, характеризуется промежуточными значениями IL-6 и IFN- $\gamma$  и, как мы предполагаем, может включать детей с шизофренией.

**Ключевые слова:** IL-6, IFN- $\gamma$ , дети, шизофрения, расстройства аутистического спектра

DOI: 10.31857/S102872210007012-8

**Адрес:** 454001 Челябинск, ул. Братьев Кашириных, 129  
ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет»,  
кафедра микробиологии, иммунологии и общей биологии,  
Филиппова Юлия Юрьевна.

Тел.: +7 (351) 799 71 76, 8 908 053 94 22 (моб.).

E-mail: [julse@rambler.ru](mailto:julse@rambler.ru)

**Авторы:**

**Филиппова Ю. Ю.**, к. б. н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия;

**Бурмистрова А. Л.**, д. м. н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия.

Шизофрения и расстройства аутистического спектра (РАС) считаются расстройствами нейроразвития, возникающими в результате атипичного развития нервной системы вследствие множества причин [1, 2]. РАС обычно выявляются в раннем детстве (до 3 лет) и характеризуются высокой степенью гетерогенности клинических фенотипов [1]. Диагноз шизофрении ставится только в подростковом или взрослом возрасте после первого психотического эпизода, хотя у таких людей могут быть ретроспектив-

но описаны ранние отклонения от нормальной траектории развития [2]. РАС и шизофрения имеют схожие пренатальные факторы риска (внутриутробные вирусные инфекции, активация иммунитета матери во время беременности), общность клинических проявлений (трудности социальной коммуникации, искаженные социальные взаимодействия) и перекрытие коморбидных заболеваний [3, 2, 4]. Тем не менее, вопрос о том имеют ли РАС и шизофрения схожие патогенетические механизмы, а также может ли гетерогенная группа детей с РАС включать пациентов с шизофренией, остаётся открытым.

**Цель:** провести сравнительный анализ уровней IL-6 и IFN- $\gamma$  в плазме крови детей с шизофренией и детей с РАС с различными фенотипами социального поведения.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 9 детей с шизофренией (5 мальчиков и 4 девочки, средний возраст  $14,7 \pm 1,2$  года), с диагнозами по МКБ 10: сенестопатическая шизофрения (F20.8) и шизоаффективное расстройство, маниакальный тип (F25.0); и 68 де-

тей с РАС (53 мальчика и 15 девочек, средний возраст  $6,5 \pm 2,2$  года), диагнозы: детский аутизм (F84.0), атипичный аутизм (F84.1) и задержка психоречевого развития с аутистически подобным поведением (F83.1). По результатам оценки индивидуального фенотипа социального поведения (возможность установления и поддержания зрительного контакта, узнавание матери, наличия общения с другими детьми), а также проявления признаков регресса (одномоментная или пролонгированная потеря уже приобретенных навыков в возрасте от 1 до 3 лет), дети с РАС были разделены на группы: 28 детей с нарушенным социальным поведением/социальным дефицитом (БСК) и 40 детей с регрессом («Регресс»). Группа «Регресс» была определена как смешанная группа, в составе которой находились дети в состоянии, определяемом как регресс и недавно вышедшие из этого состояния, но не достигшие в социальном поведении уровня возрастной нормы. Группу сравнения составили 45 типично развивающихся детей (ТРД) соответствующего пола и возраста. У всех родителей получено информированное согласие об участии. Концентрацию цитокинов: IL-6 и IFN- $\gamma$  («Вектор Бест», Новосибирск) оценивали в плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для статистической обработки использовали критерий Краскела-Уоллиса с апостериорными парными сравнениями по Коноверу-Инману. Различия считали статистически значимыми при  $P \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уровни IL-6 и IFN- $\gamma$ , как важных регуляторов медиаторов нейрогенеза и пластичности нервной системы, были измерены в плазме крови ТРД, детей с шизофренией и детей с РАС с различными фенотипами социального поведения.

Значительные изменения уровней исследуемых цитокинов по сравнению с ТРД были характерны только для детей с шизофренией. Так, для детей с шизофренией были значимо повышены уровни IL-6 и IFN- $\gamma$  (IL-6 –  $5,51 \pm 0,74$  пг/мл, IFN- $\gamma$  –  $15,09 \pm 1,31$  пг/мл), как по сравнению с ТРД (IL-6 –  $2,40 \pm 0,33$  пг/мл и IFN- $\gamma$  –  $10,62 \pm 0,67$  пг/мл), так и по сравнению с детьми с РАС: группы БСК (для IL-6), групп БСК

и «Регресс» (для IFN- $\gamma$ ). Наши данные согласуются с данными Goldsmith с соавторами (2016) о повышенных уровнях IL-6 в крови пациентов с шизофренией. Известно, что уровни IL-6 находятся под контролем сигнального пути ядерного фактора каппа В (NF- $\kappa$ B), активация которого является неотъемлемым компонентом нерегулируемого воспалительного каскада при психических расстройствах [5]. Концентрация в плазме крови IL-6 и IFN- $\gamma$  у детей группы БСК (IL-6 –  $2,59 \pm 0,89$  пг/мл и IFN- $\gamma$  –  $11,88 \pm 0,78$  пг/мл) не отличалась от таковой в группе ТРД детей и была значимо понижена по сравнению с показателями детей с шизофренией. Интересно отметить, что группа «Регресс» имела промежуточные между ТРД и детьми с шизофренией значения исследуемых показателей (IL-6 –  $4,0 \pm 0,81$  пг/мл, IFN- $\gamma$  –  $12,15 \pm 0,64$  пг/мл). Как сообщают Vorstman и Burbach (2014) регресс в различных областях функционирования является отличительным признаком шизофрении, при этом у некоторых детей с шизофренией (диагноз которой был поставлен в более позднем возрасте) регресс части ранее приобретённых навыков происходит в возрасте до 7 лет [4] [5]. Поэтому можно предположить, что гетерогенность группы детей с РАС – «Регресс» может быть связана, в том числе, с наличием в её составе детей, которым в подростковом возрасте будет поставлен диагноз шизофрения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Baron-Cohen S.* Editorial Perspective: Neurodiversity – a revolutionary concept for autism and psychiatry. *J. Child. Psychol. Psychiatry*, 2017, 58(6), 744–747.
2. *Owen M. J., O'Donovan M. C., Thapar A., Craddock N.* Neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *Br. J. Psychiatry*, 2011, 198(3), 173–175.
3. *Barlati S., Deste G., Ariu C., Vita A.* Autism spectrum disorder and schizophrenia: do they overlap? *Int. J. Emerg. Mental Health and Human Res.*, 2016, 18(1), 760–763.
4. *Vorstman J. A. S., Burbach J. P. H.* Autism and schizophrenia genetic and phenotypic relationships. In book: *Comprehensive Guide to Autism*. Springer Science & Business Media, New York 2014, P. 1645–1662.
5. *Goldsmith D. R., Rapaport M. H., Miller B. J.* A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Mol. Psychiatry*, 2016, 21(12), 1696–1709.

**LEVELS OF IL-6 AND IFN- $\gamma$  IN CHILDREN WITH SCHIZOPHRENIA  
AND AUTHISM SPECTRUM DISORDERS WITH DIFFERENT PHENOTYPES  
OF SOCIAL BEHAVIOR**

© 2019 Yu. Yu. Filippova\*, A. L. Burmistrova

\*E-mail: [julse@rambler.ru](mailto:julse@rambler.ru)

«Chelyabinsk State University», Chelyabinsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 29.03.2019

The paper presents the results of a study of the levels of important regulatory mediators of neurogenesis and neuroplasticity: IL-6 and IFN- $\gamma$  in the blood plasma of children with schizophrenia and autism spectrum disorders with different phenotypes of social behavior. Children with schizophrenia have been found to have significantly high levels of the cytokines, both in comparison with typically developing children and with children with autism. The heterogeneous group of children with autism, a feature of which is the partial loss of previously acquired social skills – «Regression», is characterized by intermediate IL-6 and IFN- $\gamma$  values and, as we assume, can include children with schizophrenia.

**Key words:** IL-6, IFN- $\gamma$ , children, schizophrenia, autism spectrum disorders

**Authors:**

**Filippova Yu. Yu.**, ✉ PhD, Associate Professor of Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Biological Faculty, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia. E-mail: [julse@rambler.ru](mailto:julse@rambler.ru);

**Burmistrova A. L.**, MD, Professor, Head of Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia.

## ВЛИЯНИЕ ТРИТЕРПЕНОИДА МИЛИАЦИНА НА АНТИЛИЗОЦИМНУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

© 2019 г. Ю. В. Филиппова<sup>1</sup>, Т. А. Бондаренко<sup>2</sup>, Т. В. Панфилова<sup>1</sup>,  
А. Д. Железнова<sup>1</sup>, Ю. А. Сарычева<sup>1</sup>, А. А. Токарева<sup>1</sup>

\*E-mail: probllab.orenburg@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

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

Поступила: 05.03.2019. Принята: 19.03.2019

Установлено ингибирующее воздействие тритерпеноида милиацина в дозе 50 мкг/мл на персистентный признак микроорганизмов – антилизоцимную активность. Выявленное свойство милиацина наряду с его иммуномодулирующей активностью может обеспечивать ранее установленное протективное действие тритерпеноида при экспериментальной сальмонеллезной инфекции.

**Ключевые слова:** тритерпеноид милиацин, антилизоцимная активность микроорганизмов

DOI: 10.31857/S102872210007013-9

**Адрес:** 460000 Оренбург, ул. Советская, д.1, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, проблемная научно-исследовательская лаборатория, Филиппова Юлия Владимировна.  
Тел.: 8 903 366 12 34 (моб.).

**E-mail:** probllab.orenburg@mail.ru

**Авторы:**

**Филиппова Ю. В.**, к.м.н., научный сотрудник проблемной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

**Бондаренко Т. А.**, научный сотрудник лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Панфилова Т. В.**, к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

**Железнова А. Д.**, к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

**Сарычева Ю. А.**, к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия;

**Токарева А. А.**, ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Оренбург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Известно, что антилизоцимная активность (АЛА) бактерий характеризует их способность

преодолевать колонизационную резистентность макроорганизма и является маркером персистенции [1]. В настоящее время к перспективным средствам иммунотерапии относится тритерпеноид милиацин, обладающий иммуномодулирующими свойствами [2]. Однако не исследована способность милиацина непосредственно воздействовать на персистентные свойства микроорганизмов.

**Целью** работы явилось изучение влияния тритерпеноида милиацина на АЛА микроорганизмов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе был использован милиацин, полученный из просяного масла. Исследования выполнены на 28 клинических штаммах *Salmonella* серовар *Enteritidis*, 24 клинических штаммах *Salmonella* серовар *Typhimurium*, 8 клинических штаммах *Klebsiella pneumoniae*, 8 клинических штаммах *Pseudomonas aeruginosa*, 4 клинических штаммах *Escherichia coli*, 2 пробиотических штаммах *E.coli*, 4 клинических штаммах *Candida albicans*, 3 пробиотических штаммах лактобактерий, 2 пробиотических штаммах бифидобактерий. АЛА исследуемых штаммов определяли фотометрическим методом [1] с использованием

супернатантов исследуемых культур, добавляемых к тест-культуре *Micrococcus luteus*. Первым контролем служили пробы чистой бульонной культуры микроорганизмов, вторым контролем – пробы с добавлением растворителя для милиацина, опытом – пробы с добавлением милиацина в концентрации 50 мкг/мл. Эффективным считали изменение уровня АЛА под воздействием милиацина (в опытной пробе) или растворителя для милиацина (в контрольной пробе 2) по сравнению с контролем бульонной культуры на 20% и более. Результаты работы обработаны методами параметрической статистики с использованием критерия Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценивая суммарное влияние милиацина на АЛА в концентрации 50 мкг/мл на исследуемые культуры, установлено, что у 100% штаммов *S. Thyphimurium*, *S. Enteritidis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* милиацин вызывал снижение уровня АЛА с  $92,9 \pm 2,8$  до  $43,5 \pm 1,1\%$ , причем максимальный уровень снижения был у штаммов *S. Thyphimurium*. У одного из 4 клинических и одного из 2 пробиотических штаммов *E. coli* тритерпеноид также снижал уровень АЛА в пределах от 22 до 46%, тогда как у остальных культур АЛА существенно не изменялась. Напротив, в отношении 2 из 4 изолятов *C. albicans* милиацин проявлял стимулирующий эффект в пределах от 25 до 40%, а у двух штаммов не изменял признак. Что касается пробиотических штаммов, то в 100% случаев милиацин повышал АЛА у лактобактерий. Эффект тритерпеноида на АЛА бифидобактерий был разнонаправленным: у одного штамма уровень АЛА повышался в диапазоне 22–70%, а у второго – снижался на 55% по отношению к контролю. Растворитель не оказывал существенного влияния на уровень АЛА у всех исследуемых культур.

Полученные данные свидетельствуют о том, что милиацин в используемой концентрации оказывал ингибирующее воздействие на уровень АЛА патогенных и условно-патогенных грамотрицательных бактерий. Известно, что АЛА направлена на выживание патогена при персистенции в организме хозяина путем защиты своего пептидогликанового полимера от воздействия лизоцима. Такая защита реализуется путем секреции ингибиторов лизоцима, основной пул которых у энтеробактерий локализуется в периплазматическом пространстве. Исходя из этого, представленное ингибирующее влияние милиацина на продукцию АЛА у энтеробактерий могло быть обусловлено известным мембраностабилизирующим эффектом тритерпеноида. Стимулирующий эффект милиацина на продукцию АЛА пробиотическими грамположительными штаммами бактерий можно рассматривать как положительный момент, обуславливающий повышение их персистентных свойств, и соответственно лучшее выживание в организме хозяина.

Работа выполнена при грантовой поддержке фундаментальных исследований по Программе УРО РАН «Фундаментальные науки – медицине», проект № 18-7-8-34.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Бухарин О. В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999, 322. [Bukharin O. V. Persistence of pathogenic bacteria. M.: Medicine, 1999, 322.]
2. Фролов Б. А., Железнова А. Д., Чайникова И. Н., Панфилова Т. В., Медведева И. П., Филиппова Ю. В., Смолягин А. И. Защитный эффект милиацина при экспериментальной сальмонеллезной инфекции. Журн. Микробиол. 2013, 6, 3–8. [Frolov B. A., Zheleznova A. D., Chaynikova I. N., Panfilova T. V., Medvedeva I. P., Filippova Y. V., Smolyagin. A. I. The protective effect of miliacin in experimental Salmonella infection. J Microbiol. 2013, 6, 3–8.]

## INFLUENCE OF MILIACIN TRITERPENOID ON ANTILYSOCIMATIC ACTIVITY OF MICROORGANISMS

© 2019 Y. V. Filippova<sup>1\*</sup>, T. A. Bondarenko<sup>2</sup>, T. V. Panfilova<sup>1</sup>,  
A. D. Zheleznova<sup>1</sup>, Y. A. Sarycheva<sup>1</sup>, A. A. Tokareva<sup>1</sup>

\*E-mail: [problab.orenburg@mail.ru](mailto:problab.orenburg@mail.ru)

<sup>1</sup>Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation,  
Orenburg, Russia;

<sup>2</sup>FGBUN Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia

Received: 05.03.2019. Accepted: 19.03.2019

The inhibitory effect of triterpenoid miliacin in a dose of 50 µg / ml on the persistent trait of microorganisms – antilysocyme activity was established. The revealed property of militia along with its immunomodulating activity can provide a previously identified protective effect in experimental Salmonella infection.

*Key words:* triterpenoids, persistent properties of microorganisms

### Authors:

**Filippova Y. V.**, ✉ Ph.D., Researcher, Problem Research Laboratory, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia. **E-mail:** [problab.orenburg@mail.ru](mailto:problab.orenburg@mail.ru);

**Bondarenko T. A.**, Researcher, Laboratory of Biomonitoring and Molecular Genetic Research, FGBUN Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia;

**Panfilova T. V.**, PhD, Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

**Zheleznova A. D.**, PhD, Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia;

**Sarycheva Y. A.**, PhD, Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

**Tokareva A. A.**, Assistant of the Department of Pathological Physiology, Orenburg State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia.

## КОМПЛЕКСНАЯ МЕТОДИКА КонтРАСТНОГО ЗАКАЛИВАНИЯ ДЕТЕЙ 4–6 ЛЕТ

© 2019 г. Т. А. Фишер<sup>1,3</sup>, Л. Ф. Калёнова<sup>1,2</sup>, С. С. Кольванова<sup>1,2</sup>

*E-mail: fitan72@mail.ru*

<sup>1</sup>ФГБУН ФИЦ «Тюменский научный центр СО РАН», Тюмень, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет», Тюмень, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Тюменский индустриальный университет», Тюмень, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 28.03.2019

Описана комплексная методика контрастного закаливания детей 4–6 лет по клинико-иммунологическим и психоэмоциональным параметрам с указанием последовательности этапов контрастных процедур.

**Ключевые слова:** сауна, воздушные процедуры, питьевой режим, клинико-гематологические параметры, методика

DOI: 10.31857/S102872210006987-0

Адрес: 625027, Тюмень, ул. Котовского, 5. ФГБУН ФИЦ Тюменского научного центра СО РАН, Фишер Татьяна Александровна. Тел.: +7 919 926 05 82 (моб.).

**E-mail:** fitan72@mail.ru

**Авторы:**

**Фишер Т. А.**, к.б.н., с.н.с. ФГБУН ФИЦ Тюменского научного центра СО РАН, Тюмень, Россия;

**Калёнова Л. Ф.**, д.б.н., г.н.с. ФГБУН ФИЦ Тюменского научного центра СО РАН, Тюмень, Россия; в.н.с. Международного центра криологии и криософии ФГАОУ ВО «Тюменского государственного университета», Тюмень, Россия;

**Кольванова С. С.**, м.н.с. ФГБУН ФИЦ Тюменского научного центра СО РАН, Тюмень, Россия; аспирант Института биологии ФГАОУ ВО «Тюменского государственного университета», Тюмень, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Иммунная система ребенка 4–6 лет имеет свои возрастные особенности развития, которые сопровождаются повышением частоты заболеваемости различной этиологии до 5–8 эпизодов в год. Этот период характеризуется закладкой основ гармоничного физического развития. В связи с этим, возникает необходимость укреплять здоровье детей, разрабатывая новые подходы профилактики и реабилитации.

**Цель:** оценить по клинико-иммунологическим и психоэмоциональным параметрам комплексную методику контрастного закаливания детей 4–6 лет.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в детском саду Тюменского муниципального района. Критерии отбора: 1) 1 группа здоровья, разрешение родителей на проведение закаливающих процедур, научного исследования и обработку персональных данных, отсутствие диагноза синдрома внезапной смерти в семейном анамнезе «критерии включения»; 2) острые респираторные и вирусные заболевания в течение 2 месяцев, наличие патологии при обследовании УЗИ сердца и ЭКГ «критерии исключения». Отказов от проведения процедур и ухудшения самочувствия детей не отмечалось. Сформированы 2 группы: первая группа (контрольная, n=13) – соблюдался обычный режим детского сада; вторая (экспериментальная, n=16) – проводились комплексные контрастные закаливающие мероприятия 5 раз в неделю.

**Первый этап.** Утренняя разминка проводится в проветренном спортивном зале детского сада при  $t +21+22$  °C, в течение 5–7 минут. Направлено на развитие физических качеств и функционального уровня систем организма и способствует переключению парасимпатического отдела на работу симпатического отдела ВНС [1]. То есть, утренняя разминка является адаптационным переходом организма к изменяющимся услови-

ям внешней среды и функциональных нагрузок перед температурным контрастом.

**Второй этап.** *Выход на улицу в купальниках и удобной обуви с включением игровых элементов (температура воздуха от  $-5^{\circ}\text{C}$  до  $-25^{\circ}\text{C}$ ) в течение 30–40 секунд и растиранием снега в течение 5–10 секунд.* Направлено на тренировку системы терморегуляции организма, подготовку к воздействию естественных природных факторов в условиях физиологического стресса [2].

**Третий этап.** *Пребывание в сауне при температуре  $50\text{--}55^{\circ}\text{C}$  в течение 5–7 минут с выполнением дыхательных упражнений по Стрельниковой.* Термическое воздействие характеризуется распределением тепла в тканях организма и способствует увеличению работоспособности мышц и нервной системы за счет более высокой скорости реакций [3]. Подбор упражнений по методу Стрельниковой активизирует кислородный обмен в тканях, с функциональной оптимизацией организма. Такое сочетание вызывает умеренную степень напряжения механизмов терморегуляции и нормализацию соотношения тонуса отделов ВНС.

**Четвертый этап.** *Приём 50–100 мл кипяченой воды в комнате отдыха.* Водное насыщение интерстициального пространства обеспечивает поддержание эндоекологического и динамического равновесия между окружающим и организменными пространствами [4].

**Пятый этап.** *Возвращение детей завернутых в полотенце с головой, в помещение детского сада через улицу в течение 5–10 секунд.* Заключительный этап в тренировке системы терморегуляции организма. Оценка психоэмоционального состояния определялась тестом Люшера с расчетом интегральных показателей. Оценка клинико-гематологических параметров периферической крови проводилась на автоматическом гематологическом анализаторе Minbray; на биохимическом анализаторе Stat Fax 1904+ – IgG, IgM, IgA; методом ИФА – уровни ИЛ-4, ИНФ- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ , IgE, антитела класса М и G к цитомегаловирусу (ЦМВ) и вирусу простого герпеса (ВПГ) 1 и 2 типа; методом ПЦР – антигены гриппа типов А и В. Статистическая обработка в программе IBM 23 (U Манна-Уитни, W Вилкоксона, t-критерий Стьюдента).

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлены сходства в обеих группах: все исследуемые параметры за пределы физиологической возрастной нормы не выходили; тесты

на наличие гриппа типов А, В были отрицательные. По тесту Люшера интегральные показатели: «суммарное отклонение» – соответствовал среднему уровню нервно-психического напряжения, а «вегетативный коэффициент» – оптимальной мобилизации физических и психических ресурсов до проведения закаливающих мероприятий и после них. Отличительные особенности: дети 2-й группы за период закаливающих мероприятий не болели. На детей 1-й группы пришлось 1,3 пропущенных дня по болезни на одного ребенка. Во 2 группе по отношению к 1-й наблюдается снижение средней концентрации гемоглобина в эритроците (МСНС) ( $p < 0,01$ ), моноцитов (%) ( $p < 0,001$ ), базофилов (%) ( $p < 0,019$ ) и незрелых гранулоцитов ( $p < 0,025$ ), а также уровня IgE ( $p < 0,031$ ). По тесту Люшера: после комплексных процедур у детей снижается уровень стрессового состояния ( $p < 0,039$ ), но повышается эксцентричность ( $p < 0,042$ ) и работоспособность ( $p < 0,046$ ).

## КРАТКОЕ ОБСУЖДЕНИЕ

Последовательность и систематичность выполнения закаливающих мероприятий приводит к снижению уровня заболеваемости и функционального напряжения в работе иммунной системы. На фоне повышения работоспособности увеличивается эксцентричность, т.е. интерес к своему окружению как объекту воздействия или источнику получения помощи, что в дошкольном возрасте может соответствовать возрастной норме. Полученные данные, хоть и косвенно, но подтверждают, что иммунная система и психика синхронизированы в своей деятельности [5].

Работа выполнена по гос. заданию. Программа IX.133.1. Проект: IX.133.1.4. в рамках Тюменского областного научно-исследовательского проекта «Регион Здоровья».

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Криволапчук И. А.* Эффективность использования физических упражнений для регуляции функционального состояния тревожных детей 6–8 лет. Физиология человека 2011, 37; 5, 61–72. [*Krivo-lapchuk I. A.* The effectiveness of the use of exercise to regulate the functional status of anxious children 6–8 years. Human physiology 2011, 37; 5, 61–72].
2. *Верстаков П. В., Верстаков Р. П., Верстаков П. П.* Способ закаливания детей дошкольного и младшего школьного возраста в сочетании с физической нагрузкой. Патент на изобретение. Номер патента: 2140249 Страна: Россия, Год публикации: 1999, Номер заявки: 98117765/14, Дата регистрации: 28.09.1998. [*Verstakov P. V., Verstakov R. P., Ver-*

- stakov P. P.* The method of hardening children of preschool and primary school age in combination with physical activity. Patent for invention. Patent number: 2140249, Country: Russia, Publication year: 1999, Application number: 98117765/14, Registration date: 09/28/1998.]
3. *Tikuisis P., Meunier P., Jubenville C. E.* Human body surface area: measurement and prediction using three dimensional body scans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2001, 85, 264–271.
  4. *Асташов В. В., Иванова Е. Б., Данилов К. Л., Фокин Г. А.* Питьевая вода как средство профилактики и восстановительного лечения. Прикладная токсикология 2012, 1; 7, 10–18. [*Astashov V. V., Ivanova E. B., Danilov K. L., Fokin G. A.* Drinking water as a means of prevention and rehabilitation. *Applied Toxicology* 2012, 1; 7, 10–18.]
  5. *Доценко Е. Л., Фишер Т. А., Петров С. А., Суховей Ю. Г.* Вероятные механизмы психоиммунной связи. Вестник Омского университета. Серия «Психология» 2017, 4, 19–26. [*Dotsenko E. L., Fisher T. A., Petrov S. A., Sukhovei Yu. G.* Possible mechanisms of psychoimmune coherence. *Herald of Omsk University. Series «Psychology»* 2017, 4, 19–26].

## THE INTEGRATED METHODOLOGY OF CONTRASTING HARDENING FOR THE CHILDREN AGED 4–6

© 2019 T. A. Fisher<sup>1,3\*</sup>, L. F. Kalenova<sup>1,2</sup>, S. S. Kolyvanova<sup>1,2</sup>

\*E-mail: fitan72@mail.ru

<sup>1</sup>Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia;

<sup>2</sup>University of Tyumen, Tyumen, Russia;

<sup>3</sup>Industrial University of Tyumen, Tyumen, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 28.03.2019

The complex method of contrasting hardening for children of preschool age is described by clinical, immunological and psychoemotional parameters with an indication of the sequence of stages of contrast procedures.

*Key words:* sauna, air procedures, drinking regimen, clinical and hematological parameters, method

### Authors:

**Fisher T. A.**, ✉ PhD, Senior Researcher of the Department of Bioresources Cryosphere, Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia. E-mail: fitan72@mail.ru;

**Kalenova L. F.**, PhD, Chief Researcher of the Department of Bioresources Cryosphere, Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia; Leading Researcher of the International Center of Cryology and Cryosophy, University of Tyumen, Tyumen, Russia;

**Kolyvanova S. S.**, Junior Researcher of the Department of Bioresources Cryosphere, Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russia; Postgraduate student of Department of Anatomy and Physiology of Humans and Animals, University of Tyumen, Tyumen, Russia.

## ПРЕМУЩЕСТВА КОМБИНИРОВАННОЙ ВАКЦИНОТЕРАПИИ ДЕТЕЙ С РЕКУРРЕНТНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ С ПОЗИЦИИ ИММУНОЛОГА

© 2019 г. **Е. П. Фошина\***, **О. В. Слатинова**, **Т. А. Серова**,  
**С. Ю. Конаныхина**, **В. П. Афиногенова**

\*E-mail: kite6@yandex.ru

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

Поступила: 28.02.2019. Принята: 12.03.2019

Комбинированная терапия пероральным бактериодизатом и вакцинации против пневмококковой инфекции у часто болеющих детей оказывает более выраженное иммуномодулирующее действие на факторы адаптивного и врожденного иммунитета по сравнению с моновакцинацией.

**Ключевые слова:** вакцинотерапии, бактериальный лизат, врожденный, адаптивный, мукозальный иммунитет

DOI: 10.31857/S102872210006988-1

**Адрес:** 105064 Москва, Мал Казенный пер. д. 5а. ФГБНУ «НИИВС им. И. И. Мечникова», лаборатория иммунологических методов исследования, Фошина Елена Петровна.

Тел: 8916 1166230(моб)

E-mail: kite6@yandex.ru

**Авторы:**

**Фошина Е. П.**, к.м.н., зав. лаборатории иммунологических методов исследования ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» Москва, Россия;

**Слатинова О. В.**, к.б.н., с.н.с. лаборатории иммунологических методов исследования ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» Москва, Россия;

**Серова Т. Н.**, к.б.н., в.н.с. лаборатории иммунологических методов исследования ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» Москва, Россия;

**Конаныхина С. Ю.**, к.м.н., с.н.с. лаборатории иммунологических методов исследования ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» Москва, Россия;

**Афиногенова В. П.**, к.м.н., с.н.с. лаборатории иммунологических методов исследования ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Среди объективных предпосылок частых респираторных инфекций у детей можно выделить функциональную незрелость иммунной системы, аллергический тип реагирования, которые приводят к недостаточному и неадекватному иммунному ответу. Высокой профилактической эффективностью в отношении пневмококковой, (актуальной в этиологическом плане) рекомендовали вакцины. Доказано, что у часто

и длительно болеющих детей с хронической и рецидивирующей инфекционной патологией бронхолегочной системы через год после вакцинации против *Str. pneumoniae*, его носительство снижается в 3,7 раза [1]. Но иммунизация не предохраняет от носительства иных бактериальных патогенов: при рецидивах среднего отита у ранее вакцинированных детей в воспалительном экссудате были обнаружены *M. catarrhalis*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, а также серотипы пневмококка, не входившие в состав вакцины. (11А и 15А) [2]. Другой проблемой иммунизации остается ее эффективность, увеличение антителообразования. Изучение специфического антителообразования в этих же группах показало, что у детей с аллергическими заболеваниями не вырабатываются антитела до 18,4%, среди часто болеющих – 5,8%. Отсутствие выработки специфических антител ассоциировалось со снижением В-клеток, низким исходным уровнем IgA, IgG, а также увеличением IgE после прививки и отсутствием увеличения продукции ИФНγ, ФНОα, ИЛ-1β. [3]. В настоящее время имеются препараты иммуностропного действия, нормализующие взаимоотношения Th1 и Th2 звеньев иммунитета, способные переключать их активность, т.е. влиять на ключевые иммунологические механизмы специфического антителообразования. К таким относятся иммуномодуляторы

бактериального происхождения, в т.ч. бактериальные лизаты.

**Цель работы:** сравнительный анализ показателей системного и мукозального иммунитета у детей с рекуррентными инфекциями на фоне моно- и комбинированной терапии препаратами бактериального происхождения.

В исследовании приняли участие 104 ребенка в возрасте от 4 до 14 лет с частыми респираторными инфекциями (более 6 раз в год) в анамнезе. Все участвующие в исследовании пациенты были случайно распределены по 3 группам, получавших иммуномодуляторы микробного происхождения в разных схемах. Первой группе (54 пациента) проводилась вакцинация против пневмококковой инфекции. Вторая группа (60 детей) получила комбинацию препаратов: вакцинация + бактериальный лизат для перорального применения. Препараты: а) «Пневмо-23» (Поливалентная пневмококковая вакцина для профилактики пневмококковой инфекции, содержащая антигены 23 серотипов *S. pneumoniae*; б) «Бронхо-Мунал» стандартизированный лиофилизат бактериальных культур (ОМ 85) в капсулах для перорального приема, 3 курса по 10 дней в течение 3 месяцев в возрастной дозировке. Изучение иммунологических показателей проводилось дважды: до начала терапии и спустя 2,5–3 месяца.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определяли концентрации IgG, IgA в слюне общие (метод РИД) и специфические к антигенам *S. aureus* и *S. pneumoniae* (метод ИФА). Дефицит антител А класса наблюдался у 28% детей. Протективный гуморальный ответ в отношении этиозначимых микроорганизмов – пневмококка и золотистого стафилококка также демонстрировал низкий синтез IgG к изучаемым антигенам и умеренный Ig А. Вакцинация не повлияла на уровень общих секреторных антител. При введении бактериального лизата наблюдали достоверный прирост уровней общего IgA и IgG в слюне с 61 до 112 мг/мл и с 1 до 12 мг/мл соответственно (Me,  $p \leq 0,005$ ). Вакцинация достоверно повысила уровень специфического IgA к антигенам пневмококка, независимо от исходного уровня и в меньшей степени IgG, но не изменила антителый ответ в отношении золотистого стафилококка. Применение бактериального лизата увеличило концентрацию антител к стафилококку, преимущественно G-изотипа. Оценку иммунного статуса проводили путем изучений

уровней иммуноглобулинов G, A, M классов в сыворотке субпопуляции лимфоцитов, фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофилов. Зафиксирован дефицит концентрации IgA (до 40% случаев), снижение фагоцитарной активности нейтрофилов, 72%. Выявлено уменьшение содержания T-супрессоров (CD45<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>) в 38% случаев и умеренное повышение T-хелперов (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) – 28%, высокий иммунорегуляторный индекс, что характерно для пациентов с атопическим фенотипом. Монотерапия вакцинами не вызвала существенных изменений, в т.ч. в сторону иммунодефицита. Введение «Бронхо-Мунала» оказало иммуномодулирующий эффект в зависимости от исходных значений. Определили достоверное увеличение концентрации IgA при исходно сниженной, выравнивание ИРИ за счет повышения уровня T-супрессоров. Было проведено изучение экспрессии ТЛР 2, 4, 3, 6, 9 типов на клетках гранулоцитарного и моноцитарного ряда. Выявлена высокая степень экспрессии ТЛР типов 2, 4, 3 на гранулоцитах и моноцитах. Вакцинация привела умеренному повышению экспрессии ТЛР 9 типа с  $18 \pm 11\%$  до  $46 \pm 31\%$  ( $p \leq 0,1$ ). Применение бактериолизата позволило повысить экспрессию ТЛР 9 типа более существенно до  $77 \pm 34\%$  ( $p \leq 0,05$ ). Лечение «Бронхо-Муналом» чаще оказывало стимулирующий эффект, особенно в случае низкой экспрессии ТЛР.

Таким образом, вакцинация привела только к выработке специфических антител, сопряженных с составом вакцины, не повлияв на общий уровень гуморальной защиты. Дополнительное введение бактериального лизата вызывает стимуляцию иммунного ответа, особенно, при дефицитных состояниях.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Костинов М. П. Основы вакцинопрофилактики у детей с хронической патологией. М., 2002. 318 с. [Kostinov M. P. Basics of vaccinoprophylaxis in children with chronical pathology. Moscow. 2002. 318 p.]
2. Cilveti R., Olmo M., Pe' rez-Jove J., Picazo J., Arimany J., Mora E., Pe' rez-Porcuna T., Aguilar I., Alonso A., Molina F., del Amo M., Mendez C. Epidemiology of Otitis Media with Spontaneous Perforation of the Tympanic Membrane in Young Children and Association with Bacterial Nasopharyngeal Carriage, Recurrences and Pneumococcal Vaccination in Catalonia, Spain – The Prospective HERMES Study//PLoS One; 2017 Feb 1;12(2): e0170316.
3. Харит С. М. Клинико-иммунологическая характеристика вакцинального процесса у детей с имму-

нопатологическими заболеваниями и поражением нервной системы / Автореф. ... дисс. докт. мед. наук. СПб., 2002. 42 с. [*Kharit S. M. Clinico-immunological*

characteristic of vaccinal process in children with immunopathological and nervous diseases. Autoref. disser. Snt. PETERSBURG. 2002. 42 p.]

## BENEFITS OF COMBIMATE VACCINI THERAPY IN CHILDREN WITH RECCURENT INFECTIONES IN IMMUNOLOGIST OPINION

© 2019 **E. P. Foshina\***, **O. V. Slatinova**, **T. A. Serova**,  
**S. U. Konanyhina**, **V. P. Afinigenova**

*\*E-mail: kite6@yandex.ru*

*Federal Budget Scientific Mechnikov's Research Institute  
of Vaccine and Sera, Moscow, Russia*

**Received:** 28.02.2019. **Accepted:** 12.03.2019

Combine therapy with oral bacterial lysates and pneumococcal vaccine in children with recurrent infections provides more increased immunomodulating influence to factors of adaptive, primal and mucosal immunity.

*Key words:* bacterial lysates, vaccinotherapy, adaptive, primal, mucosal immunity

### Authors:

**Foshina E. P.**, ☒ PhD, Leader of Laboratory Immunological methods researching, Federal Budget Scientific Mechnikov's Research Institute of Vaccine and Sera, Moscow, Russia. **E-mail:** kite6@yandex.ru;

**Slatinova O. V.**, PhD, Chief Science Officer of Laboratory Immunological methods researching, Federal Budget Scientific Mechnikov's Research Institute of Vaccine and Sera, Moscow, Russia;

**Serova T. A.**, PhD, Chief Science Officer of Laboratory Immunological methods researching, Federal Budget Scientific Mechnikov's Research Institute of Vaccine and Sera, Moscow, Russia;

**Konanyhina S. U.**, PhD, Chief Science Officer of Laboratory Immunological methods researching, Federal Budget Scientific Mechnikov's Research Institute of Vaccine and Sera, Moscow, Russia;

**Afinigenova V. P.**, PhD, Chief Science Officer of Laboratory Immunological methods researching, Federal Budget Scientific Mechnikov's Research Institute of Vaccine and Sera, Moscow, Russia.

## СТАНДАРТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ В КОРРЕКЦИИ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ОСТРОМ СЕРОЗНОМ И ГНОЙНОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ

© 2019 г. И. М. Холименко<sup>1\*</sup>, М. Н. Шатохин<sup>2</sup>, В. Н. Мальцев<sup>1</sup>,  
А. Г. Коцарь<sup>1</sup>, Е. С. Емельянова<sup>1</sup>

\*E-mail: kholimenko@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Курск, Россия;

<sup>2</sup>ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования  
Минздрава России, урологический центр НУЗ «Научный клинический центр  
ОАО «Российские железные дороги», Москва, Россия

Поступила: 16.02.2019. Принята: 01.03.2019

Цель работы: изучить эффективность базисного лечения острого пиелонефрита по показателям иммунного статуса. Материалы и методы. Обследован иммунный статус 62 пациентов с различными формами острого пиелонефрита. Результаты и их обсуждение. При серозной и гнойной формах острого пиелонефрита наблюдаются: повышение уровней цитокинов со снижением противовоспалительных при гнойном пиелонефрите и их дисбалансом – при серозной форме, дисбаланс в системе комплемента, повышенная продукция иммуноглобулинов с одновременным снижением ЦИК, снижение активности и интенсивности фагоцитоза на фоне увеличения метаболической активности нейтрофилов. Проведенное лечение не нормализует большинство параметров иммунитета. Заключение. При остром пиелонефрите имеются различия в направленности и выраженности изменений иммунных показателей, не нормализующихся после лечения, что требует разработки дополнительных методов иммунокоррекции.

**Ключевые слова:** иммунный статус, базисное лечение, острый серозный и гнойный пиелонефрит

DOI: 10.31857/S102872210006989-2

Адрес: 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», кафедра урологии, Холименко Иван Михайлович. Тел.: 8 920269 83 57  
E-mail: kholimenko@yandex.ru

### Авторы:

**Холименко И. М.**, аспирант кафедры урологии ГБОУ ВО КГМУ, врач-уролог, Курск, Россия;

**Шатохин М. Н.**, д.м.н., профессор кафедры эндоскопической урологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия;

**Мальцев В. Н.**, к.м.н. ассистент кафедры урологии, ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия;

**Коцарь А. Г.**, д.м.н. врач-уролог. ОБУЗ Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Курск, Россия;

**Емельянова Е. С.**, студент 6 курса ГБОУ ВО КГМУ, Курск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ И ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Известно много фактов о нарушении иммунных и оксидантных механизмов при остром пи-

елонефрите, особенно это относится к гнойной форме воспаления, при которой угнетаются гуморальные и клеточные факторы неспецифической защиты, но все эти данные разрозненны, а порой и противоречивы [1]. Так же недостаточно изучены и описаны способы коррекции выявленных нарушений по ряду лабораторных показателей и эффективность базисного лечения [2].

### ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

В исследование были включены 62 пациентки с верифицированным диагнозом: острый серозный или острый гнойный пиелонефрит. Больные серозным пиелонефритом (35 человек) получали консервативную антибактериальную терапию. Пациентам с гнойным пиелонефритом (27 человек) выполняли дренирование почки, после чего начинали антибактериальную тера-

пию. Функциональную активность нейтрофилов определяли по фагоцитарному показателю, фагоцитарному числу и фагоцитарному индексу активности. Кислородзависимую активность оценивали по индексу стимуляции нейтрофилов (ИСН) и функциональному резерву нейтрофилов (ФРН). Уровень цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа. Компоненты системы комплемента определяли с применением ИФА-метода. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel, 2010. Для оценки статистической значимости различий средних величин использовался критерий Манна и Уитни. Статистически значимыми считали различия  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При поступлении в клинику у пациентов с серозным пиелонефритом выявлено снижение активности и интенсивности фагоцитарного звена нейтрофилов. Одновременно с этим оказалась повышенной активность кислородзависимых систем полиморфно-ядерных лейкоцитов, так как тесты НСТ-сп., НСТ-ст. и ФРН были выше значений здоровых доноров. После проведенного базисного лечения в норму вернулся всего один показатель – ИСН. У больных гнойной формой воспаления также были сниженными показатели активности и интенсивности фагоцитоза. Активность кислородзависимых систем нейтрофилов значительно разнилась от контроля: НСТ-сп. и НСТ-ст. оказались выше, а ФРН и ИСН – ниже. По окончании базисного лечения нормализовался ФРН. Так же у пациентов с серозной формой воспаления до начала лечения в плазме периферической крови определено повышение концентрации провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-8, IFN $\alpha$ , IL-2 и разнонаправленное изменение противовоспалительных, повышение IL-10 и снижение IL-1RA.

После проведенного лечения достоверных изменений в содержании цитокинов нами не обнаружено. У больных с гнойным пиелонефритом выявлено повышение уровня провоспалительных, IL-2, ИФ $\alpha$  и снижение противовоспалительных цитокинов. После завершения лечения выявлена нормализация концентрации РАИЛ, снижение содержания IL-2, повышение концентрации IL-8 и IL-10 [3]. В показателях системы комплемента и показателях иммуноглобулинов у пациентов с серозной формой пи-

елонефрита перед началом базисного лечения выявлено повышение содержания C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>5a</sub>, снижение C<sub>3</sub> и C<sub>3a</sub> и ингибиторов системы комплемента, а также повышение всех исследованных иммуноглобулинов, со снижением ЦИК. После проведенного лечения концентрация C<sub>1</sub>-инг. системы комплемента нормализовался, но повышалось содержание ЦИК, не до уровня здоровых доноров. У пациентов с гнойной формой воспаления на начало лечения выявлены аналогичные с серозной формой изменения по направленности в показателях системы комплемента и иммуноглобулинов. Проведенное лечение, в сравнении с его началом, снижало концентрацию C<sub>3a</sub> и C<sub>5a</sub>-компонентов комплемента, ЦИК, повышало содержание ингибиторов системы комплемента. В итоге ни один показатель не достиг уровня здоровых доноров [4].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушения иммунного статуса и отсутствие нормализации большинства показателей после базисного лечения подтверждают необходимость использования в комплексном лечении иммуномодулирующих препаратов как при серозной, так и гнойной форме острого пиелонефрита.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Холименко И. М., Конопля А. И., Братчиков О. И., Быстрова Н. А., Маврин М. Ю., Шатохин М. Н. Оксидантный стресс при остром серозном и гнойном пиелонефрите // *Нефрология*.—2017.—Т. 21. № 1. С. 87–94. [Kholimenko I. M., Nemp A. I., Bratchikov O. I., Bystrova N. A., Mavrin M. Yu., Shatokhin M. N. Oxidant Stress in Acute Serous and Purulent Pyelonephritis / *Nephrology*.—2017.—Т.21. № 1. Pp. 87–94].
2. Spits H., Artis D., Colonna M. Innate lymphoid cells—aproposal for a uniform nomenclature // *Nat. Rev. Immunol.* 2013. Vol. 13.—P. 145–149.
3. Холименко И. М., Братчиков О. И., Джаримок А. Р., Шатохин М. Н., Маврин М. Ю., Быстрова Н. А. Лабораторная эффективность стандартного лечения при остром серозном и гнойном пиелонефрите. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2016; 1:62–68. [Kholimenko I. M., Bratchikov OI, Dzharimok A. R., Shatokhin M. N., Mavrin M. Yu., Bystrova N.A. Laboratory effectiveness of standard treatment for acute serous and purulent pyelonephritis. *Kursk scientific and practical bulletin "Man and his health."* 2016; 1: 62–68.]
4. Choong F.X., Antypas H. L., Richter-Dahlfors A. Integrated Pathophysiology of Pyelonephritis // *Microbiol Spectr.*— 2015.

## STANDARD TREATMENT IN THE CORRECTION OF IMMUNE DISTURBANCES IN ACUTE SEROUS AND PURULENT PYELONEPHRITIS

© 2019 I. M. Kholimenko<sup>1\*</sup>, M. N. Shatohin<sup>2</sup>, V. N. Maltsev<sup>1</sup>,  
A. G. Kotsar<sup>1</sup>, E. S. Emelyanova<sup>1</sup>

\*E-mail: kholimenko@yandex.ru

<sup>1</sup>Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

<sup>2</sup>Department of Endoscopic Urology, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of Minzdrav of Russia, Moscow, Russia

Received: 16.02.2019. Accepted: 01.03.2019

Objective: to study the effectiveness of the basic treatment of acute pyelonephritis in terms of immune status. Materials and methods. The immune status of 62 patients with various forms of acute pyelonephritis. Results and its discussion. When serous and purulent forms of acute pyelonephritis are observed: increased levels of cytokines with a decrease in anti-inflammatory with purulent pyelonephritis and their imbalance – with serous form, an imbalance in the complement system, increased production of immunoglobulins with a simultaneous decrease in CIC, reduced activity and intensity of phagocytosis in the background of increased metabolic activity. Conclusion With serous and purulent forms of pyelonephritis, there are differences in the direction and severity of changes in immune parameters that do not normalize after treatment, which requires the development of additional methods of immunocorrection and immunorehabilitation.

*Key words:* immune status, basic treatment, acute serous and purulent pyelonephritis

### Authors:

**Kholimenko I. M.**, ✉ Department of Urology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. **E-mail:** kholimenko@yandex.ru;  
**Shatohin M. N.**, Professor of the Department of endoscopic urology Russian Medical Academy of Postgraduate Education “Russian Ministry of Health, Moscow, Russia;  
**Maltsev V. N.**, Department of Urology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;  
**Kotsar A. G.**, Department of Urology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;  
**Emelyanova E. S.**, student of Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

## ЭКСПРЕССИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ TLR2 и TLR4 У БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

© 2019 г. М. В. Хорева<sup>1\*</sup>, Т. В. Латышева<sup>2</sup>, А. Д. Огурцова<sup>1</sup>,  
Л. А. Грачева<sup>3</sup>, М. В. Захаров<sup>3</sup>, О. А. Свитич<sup>1</sup>,  
Л. В. Ганковская<sup>1</sup>

\*E-mail: markhoreva@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

<sup>3</sup>РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

У больных контролируемой аллергической бронхиальной астмой повышены экспрессия генов *TLR2* и *TLR4* и функциональная активность *TLR2* и *TLR4* в мононуклеарных клетках периферической крови. В группе больных со среднетяжелым течением заболевания выявлены более высокие значения экспрессии и функциональной активности данных рецепторов по сравнению с группой больных с легкой формой. Выявленные изменения могут способствовать повышению восприимчивости пациентов к инфекционными агентам и в дальнейшем приводить к развитию осложнений.

**Ключевые слова:** аллергическая бронхиальная астма, *TLR2*, *TLR4*

DOI: 10.31857/S102872210006990-4

**Адрес:** 117997 Москва, ул. Островитянова, д. 1, ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова Минздрава России, кафедра иммунологии МБФ, Хорева Марина Викторовна  
Тел./факс: +7(495) 4343165, 89162940167 (моб.).

**E-mail:** markhoreva@yandex.ru

**Авторы:**

**Хорева М. В.**, д.м.н., профессор кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Латышева Т. В.**, д.м.н., профессор, руководитель отделений иммунопатологии и интенсивной терапии клиники ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия;

**Огурцова А. Д.**, ассистент кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Грачева Л. А.**, д.м.н., зав. лабораторией клинической иммунологии РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Захаров М. В.**, к.м.н., зав. отделением переливания крови и гравитационной хирургии крови РДКБ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия;

**Свитич О. А.**, д.м.н., член-корр. РАН, профессор кафедры иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия

**Ганковская Л. В.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой иммунологии МБФ ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия.

В настоящее время активно исследуются механизмы врожденного иммунитета, как возможное звено патогенеза бронхиальной астмы [1, 2]. Ключевым элементом врожденного иммунитета являются Toll-подобные рецепторы (TLR), которые играют важную роль в иницировании воспалительных реакций, и в последующем развитии адаптивного иммунного ответа [3]. Известна двойственная роль TLR, с одной стороны, они участвуют в реализации реакций врожденного и приобретенного иммунитета, с другой стороны, гиперактивация рецепторов может приводить к гиперпродукции провоспалительных цитокинов, формированию хронического воспаления [4].

**Цель** данной работы – изучение экспрессии и функциональной активности *TLR2* и *TLR4* в МНК периферической крови у больных аллергической бронхиальной астмой.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Группу обследуемых составили 49 больных контролируемой аллергической бронхиальной

астмой (АБА) легкого ( $n=21$ ,  $29\pm 8$  лет) и среднетяжелого течения ( $n=28$ ,  $32\pm 7$  лет). Диагноз был установлен в отделении иммунопатологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России в соответствии с действующими клиническими рекомендациями. Группа здоровых доноров (ЗД) составила 30 человек в возрасте  $26\pm 6$  лет. Из периферической крови здоровых доноров и пациентов в градиенте плотности фикоколл-урографина ( $1,077$  г/см<sup>3</sup>) выделяли мононуклеарные клетки (МНК). Экспрессию генов *TLR2* и *TLR4* в МНК больных БА и здоровых доноров оценивали методом ПЦР-РВ. Уровни экспрессии TLR стандартизировали по гену *GAPDH*. Экспрессию генов TLR оценивали по методу  $\Delta\Delta C_t$ , данные представлены в виде относительной экспрессии *TLR2*, *TLR4* к *GAPDH*. Для определения функциональной активности *TLR2*, *TLR4* МНК периферической крови ( $1\times 10^6$ /мл) культивировали в присутствии пептидогликана (*S.aureus*, 2,5 мкг/мл «InvivoGen», США) и липополисахарида (*E.coli* 0111: B4, 0,1 мкг/мл, «Sigma», США) 24 часа в полной среде RPMI 1640 («HyClone», США). Концентрацию TNF $\alpha$  в супернатантах МНК определяли методом ИФА («e-Biosciences», США). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Statistica 6. Данные представлены в виде медианы и 25–75 перцентилей. Для оценки достоверности различий применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. Различие показателей считалось достоверным при  $p<0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* в МНК периферической крови больных контролируемой аллергической бронхиальной астмой (АБА) выявили, что экспрессия гена *TLR2* в группе больных АБА в 2,3 раза превышает значения в группе ЗД,  $p<0,05$ . Увеличение экспрессии гена *TLR2* наблюдалось вне зависимости от степени тяжести заболевания (при легком течении – в 2 раза, при среднетяжелом – в 2,4 раза). Экспрессия гена *TLR4* в МНК больных АБА в 1,9 раз выше, чем у ЗД. Достоверное увеличение экспрессии гена *TLR4* наблюдали только в группе больных со среднетяжелым течением заболевания, в 5 раз по сравнению со ЗД,  $p<0,05$ . Функциональную активность *TLR2* и *TLR4* оценивали по индуцированной соответствующими лигандами продукции TNF $\alpha$  МНК периферической крови. У больных АБА выявили

повышение спонтанной продукции TNF $\alpha$  МНК периферической крови по сравнению с группой ЗД (615 (385–922) пг/мл и 103 (59–312) пг/мл, соответственно), увеличение продукции TNF $\alpha$  было характерно как для больных с легким течением заболевания 668 (340–904) пг/мл, так и для больных со среднетяжелым течением (578 (422–929) пг/мл). ПГ-индуцированная продукция TNF $\alpha$  МНК периферической крови в группе больных АБА выше, чем в группе ЗД (2085 (1730–2748) пг/мл и 1081 (967–1198) пг/мл,  $p<0,05$ ). В группе больных со среднетяжелым течением заболевания ПГ-индуцированная продукция TNF $\alpha$  МНК периферической крови выше, чем у больных с легким течением заболевания (2628 (2116–3068) пг/мл и 1846 (1182–2053) пг/мл,  $p<0,05$ ). В группе больных АБА продукция TNF $\alpha$  в ответ на ЛПС выше, чем у ЗД (1457 (1112–1912) пг/мл и 956 (782,03–1407) пг/мл,  $p<0,05$ ). Выявили так же, что ЛПС-индуцированная продукция TNF $\alpha$  МНК периферической крови достоверно выше у больных со среднетяжелым течением АБА (1900 (1326–2318) пг/мл), чем у больных АБА легкой степени тяжести (1304 (1052–1564) пг/мл).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе показано, что у больных аллергической бронхиальной астмой увеличена экспрессия генов *TLR2* и *TLR4* и функциональная активность *TLR2* и *TLR4* в МНК периферической крови по сравнению со здоровыми донорами, более высокие значения выявлены у больных со среднетяжелым течением заболевания. Полученные данные об увеличении экспрессии и функциональной активности *TLR2* и *TLR4* свидетельствуют о вовлечении данных рецепторов в патогенез и поддержание воспаления при аллергической бронхиальной астме, что может способствовать повышению восприимчивости пациентов к инфекционным агентам и в дальнейшем усугублять тяжесть течения заболевания. Выявленные изменения экспрессии и функциональной активности *TLR2* и *TLR4* могут служить потенциальными маркерами степени тяжести и прогноза заболевания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. He M., Ichinose T., Yoshida Y., Arashidani K., Yoshida S., Takano H., Sun G., Shibamoto T. Urban Pm2.5 Exacerbates Allergic Inflammation In The Murine Lung Via A Tlr2/Tlr4/Myd88-Signaling Pathway. Sci Rep 2017, 7 (1), 1–9.

2. Athari S.S., Athari S.M., Beyzay F., Movassaghi M., Mortaz E., Taghavi M. Critical Role Of Toll-Like Receptors In Pathophysiology Of Allergic Asthma Eur J Pharmacol, 2017, Vol. 808, p. 21–27.
3. Ковальчук Л. В., Хорева М. В., Никонова А. С. Распознающие рецепторы врожденного иммунитета (NLR, RLR И CLR) // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2011. No 1. С. 93–100. [Kovalchuk L.V., Khoreva, M.V., Nikonova A.S. Recognition receptors of innate immunity (NLR, RLR and CLR). Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2011, no. 1, pp. 93–100. (In Russ.)]
4. Bezemer G.F., Sagar S., van Bergenhenegouwen J., Georgiou N.A., Garssen J., Kraneveld A.D., Folkerts G. Dual role of Toll-like receptors in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. Pharmacol. Rev., 2012, no. 64, pp. 337–358.

## EXPRESSION AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF TLR2 AND TLR4 IN PATIENTS WITH ALLERGIC BRONCHIAL ASTHMA

© 2019 M. V. Khoreva<sup>1\*</sup>, T. V. Latisheva<sup>2</sup>, A. D. Ogurtsova<sup>1</sup>, L. A. Gracheva<sup>3</sup>,  
M. V. Zakharov<sup>3</sup>, O. A. Svitch<sup>1</sup>, L. V. Gankovskaya<sup>1</sup>

\*E-mail: markhoreva@yandex.ru

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup>National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency  
of Russia, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia

**Received:** 14.03.2019. **Accepted:** 26.03.2019

TLR2 and TLR4 expression and functional activity in peripheral blood mononuclear cell of patients with controlled allergic bronchial asthma were increased. TLR2 and TLR4 expression and functional activity in peripheral blood mononuclear cell were higher in patients with moderate asthma than in patients with mild asthma. The identified changes may increase the susceptibility of patients to infectious agents and lead to complications.

*Key words:* allergic bronchial asthma, TLR2, TLR4

### Authors:

**Khoreva M. V.**, ✉ PhD, MD (Medicine), Professor of Department of Immunology, Faculty of Medical Biology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia. E-mail: markhoreva@yandex.ru;

**Latisheva T. V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Immunopathology and Intensive Therapy, National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

**Ogurtsova A. D.**, assistant of Department of Immunology, Faculty of Medical Biology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

**Gracheva L. V.**, PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Clinical Immunology, Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia;

**Zakharov M. V.**, Ph.D., Head of the Department of blood transfusion and gravitational surgery, Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia;

**Svitch O. A.**, PhD, MD (Medicine), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor of Department of Immunology, Faculty of Medical Biology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

**Gankovskaya L. V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Immunology, Faculty of Medical Biology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia.

## АССОЦИАЦИИ *HLA-DRB1*\* СО СПОРАДИЧЕСКИМИ СЕПТАЛЬНЫМИ ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА БЕЗ ХРОМОСОМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

© 2019 г. А. В. Цепочкина<sup>1</sup>, Н. С. Деева<sup>1,2</sup>, С. А. Шмулевич<sup>3</sup>,  
А. В. Шабалдин<sup>1,2\*</sup>, А. А. Коростелев<sup>3</sup>, А. В. Понасенко<sup>1</sup>

\*E-mail: weit2007@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Кемерово, Россия;

<sup>3</sup>ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер имени академика Л. С. Барбараша», Кемерово, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 28.03.2019

Изучена частота встречаемости аллелей *HLA-DRB1*\* у детей со спорадическими септальными врожденными пороками сердца. В исследование включено 97 детей (44 мальчика и 53 девочки), имеющих изолированный дефект межжелудочковой перегородки (ДМЖП) без хромосомных заболеваний и аномалий, и 132 условно-здоровых ребенка. Определяли частоту встречаемости 14 аллелей гена *HLA-DRB1*. Математическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., USA). Выявлено, что у детей со спорадическими ВПС без хромосомных заболеваний значимо чаще в генотипе встречался аллель *HLA-DRB1*\*15 ( $p=0,03$ ) по сравнению с контрольной группой. Формирование спорадических септальных врожденных пороков сердца без хромосомных заболеваний положительно ассоциировано с *HLA-DRB1*\*15.

**Ключевые слова:** *HLA-DRB1*\*, врожденные пороки сердца, дефект межжелудочковой перегородки

DOI: 10.31857/S102872210006991-5

Адрес: 650002 Кемерово, Сосновый бульвар 6, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», лаборатория клеточных технологий, Шабалдин Андрей Владимирович. Тел.: 89039075197 (моб.).

E-mail: seroav1991@gmail.com

**Авторы:**

**Цепочкина А. В.**, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

**Деева Н. С.**, лаборант-исследователь лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

**Шмулевич С. А.**, к.м.н., заведующая детским отделением ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер имени академика Л. С. Барбараша», Кемерово, Россия;

**Шабалдин А. В.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия;

**Коростелев А. А.**, д.м.н., профессор кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии ГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Кемерово, России.

**Понасенко А. В.**, к.м.н., заведующая кафедрой геномной медицины ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Формирование и вынашивание беременности является иммунным феноменом. Исследование локального и системного цитокинового статуса при физиологической беременности показывает баланс провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов с незначительным доминированием мессенджеров Т-хелперов второго типа, а при репродуктивных потерях — значительное повышение провоспалительных цитокинов и хемокинов [1, 2]. Эти данные ука-

зывают на активацию воспалительного процесса в системе «мать-эмбрион/плод», при патологии ранних сроков беременности. Учитывая тот факт, что активное формирование сердечно-сосудистой системы приходится на 2–7 недели эмбрионального периода, то можно расценивать некоторые ВПС как эмбриопатии, сформировавшиеся на фоне декомпенсации иммунного конфликта в системе «мать-эмбрион/плод».

Наиболее значимыми аллогенными антигенами, по которым может формироваться иммунный конфликт между материнским иммунным микроокружением и эмбрионом, являются молекулы, кодируемые в комплексе HLA – главный комплекс тканевой совместимости у человека. Исследование супружеских аллелей генов HLA и соответствующих антигенов входит в диагностические стандарты при репродуктивных потерях. Кроме того, гены HLA II класса (локусы HLA-DR, HLA-DQ) кодируют молекулы, презентующие антигены иммунорегуляторным лимфоцитам, и тем самым детерминируют эффективность иммунных ответов на ксено- и эндобиотики.

**Цель.** Определить частоту встречаемости аллелей *HLA-DRB1\** у детей со спорадическими септальными врожденными пороками сердца без хромосомных заболеваний.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний». Все участники и их родители подписывали информированное согласие на участие в исследовании. В основную группу вошли 97 детей (44 мальчика и 53 девочки) с изолированными дефектами межжелудочковой перегородки (ДМЖП) без хромосомных заболеваний и аномалий, в контрольную группу включено 132 условно-здоровых ребенка, без ВПС. Типирование гена *HLA-DRB1\** проводили с помощью метода RT-ПЦР. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., USA). Соответствие распределения аллелей ожидаемому согласно закону Харди-Вайнберга определяли при помощи критерия хи-квадрат Пирсона. Для оценки риска вычисляли величину риска (RR) и 95% доверительный

интервал (CI). Во всех случаях различия считались статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное молекулярно-генетическое тестирование показало, что распределение частот генотипов *HLA-DRB1\** во всей выборке не имело статистически значимых отличий от частот генотипов рассчитанных в уравнении Харди-Вайнберга.

Сопоставление частот аллелей *HLA-DRB1\** основной и контрольной групп, показало одну статистически значимую положительную ассоциацию *HLA-DRB1\*15*. Этот аллель встречался у 15,51% детей со спорадическими изолированными ВПС (ДМЖП) без хромосомных заболеваний и, лишь, 9,01% здоровых детей (RR=1,83; CI 95% 0,59–6,28;  $p=0,03$ ).

Многочисленные исследования в области «HLA и болезни» показали ассоциативные связи аллеля *HLA-DRB1\*15* с иммунопатологией и высокими собственными антигенными свойствами. Именно активация материнских Т-хелперных лимфоцитов I типа и Т-цитотоксических лимфоцитов этим эмбриональным антигеном, может приводить к срыву толерантности в системе «мать-эмбрион/плод» и к декомпенсации воспалительного процесса с индукцией тератогенеза в сердечно-сосудистой системе эмбриона.

## ВЫВОДЫ

Формирование спорадических изолированных септальных врожденных пороков сердца без хромосомных заболеваний положительно ассоциировано с *HLA-DRB1\*15*, который детерминирует высокий материнский иммунный ответ на аллогенные антигены эмбриона и индукцию тератогенеза в сердечно-сосудистой системе.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Inada K., Shima T., Nakashima A. Characterization of regulatory T cells in decidua of miscarriage cases with abnormal or normal fetal chromosomal content. *J Reprod Immunol.* 2013 Mar; 97(1): 104–111. doi: 10.1016/j.jri.2012.12.001;
2. Mjosberg J., Berg G., Jenmalm M. C., Ernerudh J. FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells and T helper 1, T helper 2, and T helper 17 cells in human early pregnancy deciduas. *Biol Reprod.* 2010. Apr; 82(4): 698–705. doi: 10.1095/biolreprod.109.081208. Epub 2009 Dec 16.

## HLA-DRB1\* ASSOCIATIONS WITH SPORADIC SEPTAL CONGENITAL HEART DISEASES WITHOUT CHROMOSOMAL DISEASES

© 2019 A. V. Tsepokina<sup>1</sup>, N. S. Deeva<sup>1,2</sup>, S. A. Shmulevich<sup>3</sup>, A. V. Shabaldin<sup>1,2\*</sup>,  
A. A. Korostelev<sup>3</sup>, A. V. Ponasenko<sup>1</sup>

\*E-mail: weit2007@yandex.ru

<sup>1</sup>Federal state budgetary scientific institution "Research Institute of complex problems of cardiovascular diseases", Kemerovo, Russia;

<sup>2</sup>Federal state budgetary educational institution of higher education "Kemerovo state medical University" of the Ministry of health of the Russian Federation, Kemerovo, Russia;

<sup>3</sup>State budgetary institution of health care "Kemerovo regional clinical cardiology clinic named after academician L. S. Barbarash", Kemerovo, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 28.03.2019

Associations of *HLA-DRB1\** alleles were determined with sporadic septal congenital heart defects in children. 97 children (44 boys and 53 girls) with an isolated ventricular septal defect (VSD) without chromosomal diseases and anomalies were examined. Surveyed 132 healthy children (control group). The frequency of occurrence of 14 alleles of the *HLA-DRB1* gene (01, 04, 07, 08, 09, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18). Mathematical processing was performed using the STATISTICA 8.0 application package (StatSoftInc., USA). It was revealed that in children with sporadic CHD without chromosomal diseases, *HLA-DRB1\*15* ( $p = 0.03$ ) was significantly more frequent in the genotype compared with the control group. The formation of sporadic septal congenital heart defects without chromosomal diseases is positively associated with *HLA-DRB1\*15*.

*Key words:* *HLA-DRB1\**, congenital heart disease, ventricular septal defect

### Authors:

**Tsepokina A. V.**, junior researcher of the laboratory of genomic medicine of Federal state budgetary scientific institution "Research Institute of complex problems of cardiovascular diseases" Kemerovo, Russia;

**Deeva N. S.**, laboratory assistant-researcher of the laboratory of cellular technologies of Federal state budgetary scientific institution "Research Institute of complex problems of cardiovascular diseases" Kemerovo, Russia;

**Shmulevich S. A.**, PhD, head of children's Department of "Kemerovo regional clinical cardiology clinic named after academician L. S. Barbarash", Kemerovo, Russia;

**Shabaldin A. V.**, ✉ M.D., leading researcher of laboratory of cell technologies of Federal state budgetary scientific institution "Research Institute of complex problems of cardiovascular diseases", Kemerovo, Russia. **E-mail:** weit2007@yandex.ru;

**Korostelev A. A.**, M.D., professor of the Department of microbiology, immunology, virology of the state budgetary educational institution of higher education "Kemerovo state medical University", Kemerovo, Russia;

**Ponasenko A. V.**, Ph.D., head of the Department of Genomic Medicine, "Research Institute for Complex Cardiovascular Diseases, Kemerovo", Russia.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ИММУННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ

© 2019 г. О. А. Цигулева\*, Н. И. Барсукова, Л. Е. Обухова

\*E-mail: olga.tsiguleva@yandex.ru

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Барнаул, Россия

Поступила: 19.02.2019. Принята: 05.03.2019

Хронизация воспаления при хроническом эндометрите связана с неадекватной реакцией иммунной системы. Накопление в нейтрофилах специальных комплексов – инфламмасом сопровождается выбросом провоспалительных цитокинов, углубляющих воспаление. Только комплексная терапия: антибиотики, нестероидные противовоспалительные средства, иммуномодуляторы, ферментотерапия в течение 2–3 месяцев могут привести к ремиссии при хроническом эндометрите.

**Ключевые слова:** хронический эндометрит, воспаление, иммунная дисфункция, цитокины, иммуномодуляторы

DOI: 10.31857/S102872210006992-6

Адрес: 656038, г. Барнаул, проспект Ленина, д.40 ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Цигулева Ольга Андреевна.  
Тел.: + 7923 655 68 10 (моб.).

E-mail: olga.tsiguleva@yandex.ru

Авторы:

**Цигулева О. А.**, к. м. н., доцент кафедры анестезиологии, реаниматологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Барнаул, Россия;

**Барсукова Н. И.**, к. м. н., доцент кафедры дерматовенерологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Барнаул, Россия;

**Обухова Л. Е.**, д. м. н., профессор кафедры биологии, гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Барнаул, Россия.

Хронический эндометрит – клинико-морфологический синдром, при котором наряду с персистенцией инфекционного агента возникают очаги хронического неинфекционного воспаления. Вопрос о патогенезе воспаления до сих пор остается открытым [1]. Дисфункция эндометрия может существовать и без наличия инфекции, но именно инфекционный агент запускает дальнейшую хронизацию повреждений [2]. На сегодняшний день доказано, что при хроническом эндометрите в нейтрофилах эндометрия формируются особые белковые комплексы – инфлам-

масомы. Они определяются у 40% пациенток с хроническим эндометритом [3]. Инфламмосомы – источники провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО $\alpha$ , ИЛ-10, ИЛ-18. Считается, что инфламмосомы представляют врожденный иммунитет [4]. Хронический эндометрит – это следствие нарушения баланса между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами.

Изменение баланса простагландинов, вазоконстрикторных и вазодилаторных процессов формирует дефицит эндотелинов, наращивает уровень оксида азота – мощного антиагреганта и вазодилатора. Возникают нарушения микроциркуляции, идет отложение фибрина в строме эндотелия матки. Триггером является триада «лимфоцит-макрофаг-фибробласт». Формируется очаг воспаленного эндометрия [5]. Возникают признаки эндометриального поражения: бесплодие, привычное невынашивание, неудачи при проведении ЭКО.

**Целью** нашей работы было – определение роли инфекции и роли иммунной дисфункции в хронизации повреждения эндометрия.

### МАТЕРИАЛЫ МЕТОДЫ

Мы обследовали 56 пациенток с хроническим эндометритом в возрасте от 23 до 48 лет и 30 здо-

ровых женщин (контроль) того же возраста. При хроническом эндометрите по результатам кольпоскопии определялась эпителиальная дисплазия шейки матки легкой или средней степени, железистые поражения, полипы или просто железистая гиперплазия. Оценивались: цвет эпителия, очаговые изменения в нем, границы изменений, реакция на раствор уксусной кислоты, реакция на раствор Люголя. Цитологическое исследование дает нам четыре критерия: клеточный, функциональный, структурный, цитохимический. Однако метод грешит большим процентом ложноположительных результатов. Бактериологическому обследованию подвергалось отделяемое из шеечного канала и заднего свода влагалища. Перечень обнаруженных нами возбудителей включал урогенитальные патогены: *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*. Также встречались *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*. Ультразвуковое исследование органов малого таза и придатков также обязательно включалось в программу, с целью уточнения прогрессирования и распространенности воспалительного процесса. Допплерометрия использовалась для оценки маточного кровотока, наличия склеротических изменений сосудов или изменения их архитектоники. Иммуногистохимический анализ оценивался по наличию ростовых факторов прокоагулянтного и антикоагулянтного действия. Иммунологическое обследование включало ПЦР-диагностику с использованием моноклональных антител. ИФА-анализ применялся для определения уровня интерферонов, сывороточных иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG и секреторного Ig A. У всех 56 пациенток воспалительный процесс был подтвержден.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ

Мы обнаружили увеличение уровня CD3 почти в 1,5 раза от нормы, увеличение CD16, CD56 в 2 раза выше нормы, преобладание Т-хелперов1 над Т-хелперами2. Доказано возрастание уровня сывороточных IgA, IgM, IgG и секреторного IgA. Были значительно повышены уровни ИЛ-2, ИЛ-10 и ФНО $\alpha$ . Таким образом, нарушение врожденного иммунитета мы считаем одной из причин хронизации эндометрита. Подтверждением этого является рост уровня HLA-DR<sup>+</sup> клеток и дальнейшее увеличение сывороточных и секреторного иммуноглобулинов у 40 пациенток.

### ТЕРАПИЯ

Лечение проводилось в большинстве случаев амбулаторно. Длительность антибиотикотерапии препаратами широкого спектра действия составляла 2 недели. Одновременно с антибиотиками назначались иммунокорректирующие препараты. Лечение начиналось сразу после установления предположительного диагноза. Иммунокорректоры мы использовали как в составе комбинированной терапии с антибиотиками, так и как монотерапию, при глубоко зашедшей хронизации процесса и отсутствии данных о возбудителе. В составе комбинированной терапии нами применялись иммуноглобулины: пентаглобин или октагам, вводившиеся внутривенно (у 7 пациенток). Иммунотерапия у остальных пациенток выборки включала полиоксидоний по 6 мг внутримышечно через день, № 10, 2 курса. Перерыв между курсами – не менее 20 дней. Также нами назначался препарат лонгидаза, сочетающий иммуномодулирующую и ферментативную активность. Он обладает противofиброзным и иммуномодулирующим действием и, как мы считаем, особенно показан пациентам с хроническим эндометритом, при наличии спаечных процессов. У 3 пациенток, страдающих хроническим бесплодием, дополнительно использован эпиген интим спрей 0,1% на завершающей стадии лечения. Он значительно увеличивал долю лактобактерий во влагалищном содержимом и нормализовал флору. Назначались также нестероидные противовоспалительные средства, при отрицательном бактериологическом посеве, но при сохранении признаков воспаления в гистологическом субстрате.

### ВЫВОДЫ

При хроническом эндометрите прогрессирует нарушение соотношения прогестероновых и эстрогеновых рецепторов. Разрушаются межклеточные контакты. Не происходит образования псевдоподий. Это опасно для пациенток детородного возраста, так как беременность становится невозможной. При хроническом эндометрите в базальном и функциональном слоях эндометрия формируются множественные инфилтраты. Их заживление ведет к фиброзированию и склерозированию стромы, развивается гипер- или гипоплазия эндометрия. Ликвидация иммунной дисфункции при хроническом эндометрите – весьма сложная задача. Средний курс лечения, включая иммунокоррекцию, составляет 2–3 месяца. Терапия всегда подбира-

ется индивидуально и только при этом можно рассчитывать на реконвалесценцию.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Шуришалина А. В. Оптимизация тактики ведения пациенток с воспалительными заболеваниями органов малого таза. Гинекология. 2012. № 2. С. 32–34. [Shurshalina A. V. Optimization of management tactics for patients with inflammatory diseases of the pelvic organs. Gynecology. 2012. № 2. p. 32–34].
2. Унанян А. Л., Коссович Ю. М. Хронический эндометрит: этиопатогенез, диагностика, клиника и лечение. Роль антифиброзирующей терапии // Лечащий врач. – 2012. – № 11. – С. 35–40. [Unanyan A. L., Kossovich Y. M. Chronic endometritis: etiopathogenesis, diagnosis, clinic and treatment. The role of antifibrosis therapy // The attending physician. – 2012. – № 11. – p. 35–40].
3. Бухарин О. В., Черкасов С. В., Сгибнев А. В. Характеристика микроэкологических нарушений при эндометрите // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2009. – 4. – С. 93–96. [Bukharin O. V., Cherkasov S. V., Sgibnev A. V. Characteristics of microecological disorders in endometritis // Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. – 2009. – № 4. – p. 93–96].
4. Шуришалина А. В. Хронический эндометрит: современные подходы к терапии // Consilium medicum. 2009. – № 6. – С. 36–38. [Shurshalina A. V. Chronic endometritis: modern approaches to therapy // Consilium medicum. 2009. – № 6. – p. 36–38].
5. Серебренникова С. Н., Семинский И. Ж. Роль цитокинов в воспалительном процессе // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 8. – С. 5–8. [Serebrennikova S. N., Seminsky I. J. The role of cytokines in the inflammatory process // Siberian Medical Journal. – 2008. – № 8. – p. 5–8].

## INTERRELATION OF INFLAMMATORY AND IMMUNE CHANGES IN CHRONIC ENDOMETRITIS

© 2019 О. А. Tsiguleva\*, N. I. Barsukova, L. E. Obukhova

\*E-mail: olga.tsiguleva@yandex.ru

Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Received: 19.02.2019. Accepted: 05.03.2019

Chronicity of inflammation in chronic endometritis is associated with an inadequate response of the immune system. The accumulation of special complexes in neutrophils – inflammasm is accompanied by the release of pro-inflammatory cytokines, which deepen inflammation. Only complex therapy: antibiotics, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, immunomodulators, enzyme therapy for 2–3 months can lead to remission in chronic endometritis.

*Key words:* chronic endometritis, inflammation, immune dysfunction, cytokines, immunomodulators

#### Authors:

**Tsiguleva O. A.**, ☒ PhD, associate professor of the Department of Anesthesiology, Resuscitation and Clinical Pharmacology, Altai State Medical University, Barnaul, Russia. **E-mail:** olga.tsiguleva@yandex.ru;

**Barsukova N. I.**, PhD, associate professor, Department of Dermatology and Venereology and Immunology, Altai State Medical University, Barnaul, Russia;

**Obukhova L. E.**, MD, professor, Department of Biology, Histology, Embryology, and Cytology, Altai State Medical University, Barnaul, Russia.

## ДЕЙСТВИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИГЕЛЬМИНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЭКСПРЕССИЮ IL-1 $\beta$ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОПИСТОРХОЗЕ

© 2019 г. М. А. Цыганов<sup>1,\*</sup>, М. Н. Львова<sup>1</sup>, А. В. Душкин<sup>2</sup>,  
В. А. Мордвинов<sup>1</sup>, Д. Ф. Августинovich<sup>1</sup>

\*E-mail: mtzygan@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт химии твердого тела и механохимии» Сибирского отделения  
Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 27.03.2019

При описторхозе интерлейкин-1бета (IL-1 $\beta$ ) служит индикатором воспалительных процессов в печени. Введение куркумина и нового комплекса празиквантела с глицирризинатом натрия уменьшало паразитарную нагрузку у *O.felineus*-инфицированных животных. Кроме того, комплекс препятствовал развитию патоморфологических изменений и снижал экспрессию IL-1 $\beta$  в печени.

**Ключевые слова:** *Opisthorchis felinus*, описторхоз, празиквантел, куркумин, IL-1 $\beta$

DOI: 10.31857/S102872210006994-8

Адрес: 630090 Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д. 10, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», лаборатория молекулярных механизмов патологических процессов, Мордвинов Вячеслав Алексеевич. Тел./факс: +7(383) 363-49-80, 7(383) 333-12-78

E-mail: tsyganov@bionet.nsc.ru

**Авторы:**

**Цыганов М. А.**, м.н.с. лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия;

**Львова М. Н.**, м.н.с. лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия;

**Душкин А. В.**, д.б.н., руководитель группы механохимии органических соединений ИХТТМ СО РАН, Новосибирск, Россия;

**Мордвинов В. А.**, д.б.н., заведующий лабораторией молекулярных механизмов патологических процессов ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия;

**Августинovich Д. Ф.**, д.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярных механизмов патологических процессов ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия.

Описторхоз — опасное паразитарное заболевание, вызываемое трематодами семейства *Opisthorchiidae*. Местом паразитирования являются протоки печени и поджелудочной железы. Сочетание механического повреждения желчных протоков паразитом и иммунного ответа хозя-

ина на гельминта и его экскреторно-секреторный продукт приводит к развитию хронического воспаления, фиброзу печени, и, в дальнейшем, к возникновению холангиокарциномы. В России широко распространена трематода *Opisthorchis felinus* [1]. Активно ведётся поиск новых противоописторхозных препаратов, поскольку имеющиеся обладают ограниченной эффективностью или имеют негативные побочные эффекты.

IL-1 $\beta$  — один из ключевых белков развития иммунного ответа. Он участвует в индукции и регуляции воспаления, стимулирует миграцию лейкоцитов и играет важную роль в развитии опухолей [2]. Исследование его экспрессии является актуальным для оценки изменений при *O.felineus*-индуцированном описторхозе.

**Целью** работы было определить локализацию экспрессии IL-1 $\beta$  в печени при *O.felineus*-индуцированном описторхозе, и её изменение под действием потенциальных антигельминтных препаратов.

Эксперименты проводили на модели хронического описторхоза у золотистых хомячков (*Mesocricetus auratus*). Животные были инфицированы внутрижелудочно 100 метацеркариями *O.felineus*, после 3 месяцев инфекции вводили

празиквантел (ПЗК) (доза 400 мг/кг, однократно) — препарат выбора для лечения описторхоза, а также потенциальные антигельминтные вещества — комплекс ПЗК с глицирризинатом натрия ( $\text{Na}_2\text{ГК}$ ) в пропорции 1:10 (ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$ , 400 мг/кг, однократно), куркумин (К) и комплекс куркумина с глицирризинатом натрия (К: $\text{Na}_2\text{ГК}$ ) в пропорции 1:1 (доза 50 мг/кг, ежедневно, в течение месяца). Также использовали сочетание однократного введения ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$  и хронического введения К в указанных дозах (ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$ +К). Все группы сравнивали с инфицированными хомячками без введения препаратов (ОФ). Через 4 месяца после инфицирования животных производили забор образцов ткани печени и анализировали паразитарную нагрузку. Для выявления основных патоморфологических изменений в ткани печени использовали окраску гематоксилином-эозином, а для выявления соединительной ткани — окраску по Ван Гизону. Экспрессию IL-1 $\beta$  оценивали с помощью пероксидазного иммуногистохимического окрашивания (ИГХ).

Группы с введением ПЗК и ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$  показали сопоставимый эффект снижения паразитарной нагрузки (60–70%). Эффект К на количество паразитов был значимым, но более низким (снижение на 32%), в то время как К: $\text{Na}_2\text{ГК}$  антигельминтного действия не показал. Эффект введения ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$ +К был аналогичен эффекту ПЗК.

Патологические изменения в печени были сопоставимы со степенью снижения паразитарной нагрузки. Животные ОФ демонстрировали ярко выраженную гиперплазию и метаплазию эпителия; имели высокую степень пролиферации желчных протоков и перидуктального фиброза; в ткани присутствовали крупные очаги инфильтрации клетками воспаления и дистрофии гепатоцитов, а в протоках — гранулёмы, образованные вокруг яиц паразита. Под действием ПЗК степень проявления этих признаков (особенно метаплазии эпителия) снижалась, но сохранялись очаги инфильтрации и отдельные гранулёмы. Введение ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$  ещё больше уменьшало количество патологических проявлений: менее выражены холангиофиброз и перидуктальный фиброз, снижена площадь воспалительной инфильтрации, гранулёмы отсутствовали. Под действием К снижалось количество очагов дистрофии гепатоцитов, а также площадь воспалительной инфильтрации, наблюдалось увеличение числа клеток Купфера, но уменьшение остальных патоморфологических изменений было менее выражено. Похожая картина наблюдалась и для

К: $\text{Na}_2\text{ГК}$ . Эффекты введения ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$ +К сопалади с действием ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$ .

Данные ИГХ показали, что в норме IL-1 $\beta$  локализован в клетках эпителия желчных протоков. У хомячков ОФ экспрессия IL-1 $\beta$  также наблюдалась в районах холангиофиброза, пролиферации желчных протоков и в зонах перидуктального фиброза. Наибольшее снижение экспрессии IL-1 $\beta$  было в группах ПЗК и ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$ +К: практически исчезало окрашивание в районах перидуктального фиброза, сохраняясь только в отдельных его участках, значительно уменьшалось окрашивание в зонах холангиофиброза и пролиферации желчных протоков. Под действием ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$  эти эффекты были менее выраженными. Введение К снижало интенсивность окраски в зоне перидуктального фиброза, но не уменьшало площадь и интенсивность окрашивания в зоне холангиофиброза и пролиферации протоков. Комплекс К: $\text{Na}_2\text{ГК}$  оказал наименьшее влияние на интенсивность и площадь окраски при ИГХ.

Известно, что IL-1 $\beta$  стимулирует пролиферацию фибробластов и клеток эпителия. Можно полагать, что он играет важную роль в поддержании пролиферации желчных протоков и холангиофиброза, ассоциированных с описторхозом. Поскольку имеются данные о повышении количества IL-1 $\beta$  при холангиокарциноме, ассоциированной с описторхозом, вызванной *Opisthorchi viverrini* [3], наблюдаемые в нашем эксперименте снижения его экспрессии могут отражать противовоспалительную эффективность исследуемых антигельминтных препаратов. В этой связи ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$  является наиболее перспективным антигельминтиком. Куркумин снижает количество паразитов, но не препятствует развитию патологических процессов в мелких желчных протоках, в том числе при сочетании с ПЗК: $\text{Na}_2\text{ГК}$ .

Работа поддержана РФФИ (грант №№ 17-43-540175) и бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН (№ 0324-2019-0041).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Fedorova O. S., Kovshirina Y. V., Kovshirina A. E., Fedorova M. M., Deev I. A., Petrovskiy F. I., Filimonov A. V., Dmitrteva A. I., Kudyakov L. A., Saltykova I. V., Odermatt P., Ogorodova L. M. *Opisthorchis felinus* infection and cholangiocarcinoma in the Russian Federation: a review of medical statistics. *Parasitol Int.* 2017, 66(4), 365–371.
2. Tulotta C., Ottewell P. The role of IL-1B in breast cancer bone metastasis. *Endocr Relat Cancer.* 2018, 25(7), 421–434.

3. Surapaitoon A., Suttiprapa S., Mairiang E., Khuntikeo N., Pairojkul C., Bethony J., Brindle P.J., Sripa B. Subsets of inflammatory cytokine gene polymorphisms are associated with risk of carcinogenic liver fluke

Opisthorchis viverrini-associated advanced periductal fibrosis and cholangiocarcinoma. Korean J Parasitol. 2017, 55(3), 295–304.

## EFFECT OF POTENTIAL ANTHELMINTIC DRUGS ON IL-1 $\beta$ EXPRESSION IN EXPERIMENTAL OPISTHORCHIASIS

© 2019 M. A. Tsyganov<sup>1\*</sup>, M. N. Lvova<sup>1</sup>, A. V. Dushkin<sup>2</sup>, V. A. Modvinov<sup>1</sup>, D. F. Avgustinovich<sup>1</sup>

\*E-mail: mtzygan@mail.ru

<sup>1</sup>Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian branch of the Russian academy of sciences, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Institute of solid state chemistry and mechanochemistry, Siberian branch of the Russian academy of sciences, Novosibirsk, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 27.03.2019

Interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) is an indicator of liver inflammatory processes in opisthorchiasis. Administration of curcumin and new complex of praziquantel with disodium glycyrrhizin ate reduced the parasitic load in *O. felineus*-infected animals. Moreover, the complex prevented the development of pathomorphological changes and reduced the IL-1 $\beta$  expression in the liver.

*Key words:* *Opisthorchis felineus*, opisthorchiasis, praziquantel, curcumin, IL-1 $\beta$

### Authors:

**Tsyganov M. A.**, ✉ junior researcher of Laboratory of molecular mechanisms of pathological processes ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: tsyganov@bionet.nsc.ru;

**Lvova M. N.**, junior researcher of Laboratory of molecular mechanisms of pathological processes ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia;

**Dushkin A. V.**, Doctor of biology, head of Group of mechanochemistry of organic compounds, ISSC SB RAS, Novosibirsk, Russia;

**Mordvinov V. A.**, Doctor of biology, head of Laboratory of molecular mechanisms of pathological processes ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia;

**Avgustinovich D. F.**, Doctor of biology, senior researcher of Laboratory of molecular mechanisms of pathological processes ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia.

## ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОВ НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ КИШЕЧНЫХ МИКРОСИМБИОНТОВ

© 2019 г. И. Н. Чайникова<sup>1,2</sup>, Е. В. Иванова<sup>1,2</sup>, Т. А. Бондаренко<sup>1</sup>,  
Н. Б. Перунова<sup>1</sup>, О. Е. Челпаченко<sup>1</sup>, И. А. Никифоров<sup>1</sup>

\*E-mail: [inchainicova@yandex.ru](mailto:inchainicova@yandex.ru)

<sup>1</sup>ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН,  
Оренбург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»  
Минздрава РФ, Оренбург, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 15.03.2019

Установлено разнонаправленное влияние рекомбинантных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-10) на биопленкообразование кишечных микросимбионтов, которое зависело от концентрации цитокинов, вида и штамма микроорганизмов.

**Ключевые слова:** цитокины, кишечные микросимбионты, биопленки

DOI: 10.31857/S102872210006995-9

Адрес: 460000, Оренбург, ул. Пионерская, д. 11, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Чайникова Ирина Николаевна Тел. 89228790981 (моб.).

E-mail: [inchainicova@yandex.ru](mailto:inchainicova@yandex.ru)

**Авторы:**

**Чайникова И. Н.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия; профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Иванова Е. В.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Россия; доцент кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

**Бондаренко Т. А.**, научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Перунова Н. Б.**, д.м.н., профессор РАН, заведующий лабораторией биомониторинга и молекулярно-генетических исследований ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Челпаченко О. Е.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия;

**Никифоров И. А.**, к.г.-мн.н. ведущий научный сотрудник ФГБУН Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Некоторые мембранные протеины и липопротеины условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), среди которых широко представ-

лены кишечные микросимбионты, способны выполнять роль рецепторов для цитокинов, связывание с которыми приводит к изменению роста, формирования биопленок или вирулентных свойств УПМ [1, 2]. Биопленкообразование (БПО) является одной из основных стратегий выживания микроорганизмов в окружающей среде (в организме человека). Исходя из этого, исследование способности цитокинов взаимодействовать с кишечными микросимбионтами в процессе образования ими биопленок является актуальным с позиции разработки новых селективных средств усиления антимикробной резистентности хозяина.

**Целью** работы явилось изучение влияния рекомбинантных цитокинов TNF $\alpha$ , IL-10 на БПО кишечных микросимбионтов человека.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

В работе были использованы рекомбинантные цитокины («Sigma», TNF $\alpha$  – T6674-10UG, IL-10 – I9276-5UG) в концентрации 6; 12,5 и 25 пг/мл (TNF $\alpha$ ) и дополнительно концентрация 50 пг/мл – для IL-10. Образование биопленок изучали по методу G.A.O'Toole, R. Kolter [3]. Исследования выполнены на клинических штаммах по 15 изолятов каждого из родов: *Escherichia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Candida spp.*, *Bi-*

*fidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Clostridium spp.* и *Bacteroides spp.* Результаты работы обработаны методами параметрической статистики с использованием критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что рекомбинантные цитокины оказывали разнонаправленный эффект на способность исследуемых культур формировать биопленку, причем направленность действия цитокинов различалась в зависимости от вида, штамма микроорганизмов и концентрации пептидов среде. Так, при добавлении провоспалительного цитокина TNF $\alpha$  в среду культивирования отмечалось достоверное возрастание уровня БПО у большинства культур бифидобактерий и золотистого стафилококка (в 59–70% случаев,  $p < 0,05$ ). Напротив, у 53–80% ( $p < 0,05$ ) штаммов синегнойной палочки, пропиони-, лактобактерий, энтерококков и бактериоидов наличие цитокина в среде оказывало ингибирующее действие на изучаемое свойство. Подобная тенденция выявлялась и для IL-10. У культур энтеробактерий и дрожжевых грибов в 55–97% ( $p < 0,05$ ) случаев способность к БПО в присутствии пептидов существенно не изменялась. Анализ полученных результатов позволил выявить дозозависимый эффект воздействия цитокинов на БПО УПМ, характеризующийся тем, что при увеличении концентрации иммунорегуляторных пептидов в среде сокультивирования отмечалось или нарастание эффекта, или смена направленности действия (стимуляция/ингибирование) цитокинов на БПО изучаемых микроорганизмов. Максимальные изменения наблюдались в высоких концентрациях цитокинов: TNF $\alpha$  – 25 пг/мл и IL-10 – 50 пг/мл. При содержании в среде TNF $\alpha$  25 пг/мл (опыт) ингибирующий эффект на биопленкообразование изолятов синегнойной палочки составлял  $55 \pm 1,2\%$  к контролю ( $0,28 \pm 0,03$  ед. против  $0,62 \pm 0,05$  ед.), у пропионибактерий –  $59 \pm 1,1\%$  ( $0,38 \pm 0,01$  ед. против  $0,93 \pm 0,05$  ед.), у бактериоидов –  $60 \pm 1,3\%$  ( $0,27 \pm 0,01$  ед. против  $0,67 \pm 0,03$  ед.), у энтерококков  $70 \pm 1,5\%$  ( $1,09 \pm 0,1$  ед. против  $0,32 \pm 0,05$  ед.). Сходная закономерность отмечалась и в отношении стимулирующего эффекта высокой концентрации TNF $\alpha$  для БПО у стафилококков (в опыте  $0,92 \pm 0,05$  ед. против контроля  $0,48 \pm 0,01$  ед.). По-

добные изменения БПО указанных культур обнаруживались и при сокультивировании с IL-10 в концентрации 50 пг/мл. У бифидобактерий, напротив, увеличение в среде концентрации цитокинов характеризовалось сменой стимулирующего эффекта (TNF $\alpha$  – 6; 12,5 пг/мл и IL-10 – 6; 12,5; 25 пг/мл) на ингибирующий (TNF $\alpha$  – 25 пг/мл и IL-10 – 50 пг/мл).

Полученные данные свидетельствуют о том, что цитокины в зависимости от концентрации оказывали ингибирующее/стимулирующее воздействие на уровень БПО кишечных микросимбионтов. В отношении отдельных штаммов, независимо от концентрации цитокинов, не установлено влияние их на БПО. Наши результаты подтверждают модулирующую роль цитокинов в регуляции БПО микроорганизмов, способную проявляться не только *in vivo*, но и при прямом *in vitro* взаимодействии бактерий с пептидами [2]. Данные свойства цитокинов реализуются взаимодействием их с мембранными рецепторами УПМ, последующим изменением экспрессии генов (стимуляция/альтерация) или прямым вмешательством в образование экстрацеллюлярного матрикса [1]. Указанные эффекты взаимодействия про- и противовоспалительных цитокинов с микроорганизмами могут вносить вклад в поддержание микробной адгезии, длительной персистенции, в увеличение толерантности к антимикробным факторам, что повышает резистентность условно-патогенных микроорганизмов к защите хозяина и может играть значимую роль в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний.

Работа выполнена при грантовой поддержке проектов фундаментальных научных исследований РФФИ, проект № 19-415-560002.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Högbom M., Ihalin R. Functional and structural characteristics of bacterial proteins that bind host cytokines. *Virulence*. 2017, 8(8), 1592–1601.
2. Lee J-H, Sorbo L., Khine A. A., Azavedo J., Low D. E., Bell D., Uhlig S., Slutsky A. S., Zhang H. Modulation of Bacterial Growth by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  *In Vitro* and *In Vivo*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2003, 168 (12), 1462–1470.
3. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol. Microbiol.* 1998, 28 (3), 449–61.

## INFLUENCE OF CYTOKINES ON BIOFILM FORMATION OF INTESTINAL MICROSymbionTS

© 2019 I. N. Chainikova<sup>1,2</sup>, E. V. Ivanova<sup>1,2</sup>, T. A. Bondarenko<sup>1</sup>, N. B. Perunova<sup>1</sup>,  
O. E. Chelpachenko<sup>1</sup>, I. A. Nikiforov<sup>1</sup>

\*E-mail: [inchainicova@yandex.ru](mailto:inchainicova@yandex.ru)

<sup>1</sup>*FGBUN Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch  
of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;*

<sup>2</sup>*GBOU VPO «Orenburg State Medical University» of the Ministry of Health  
of the Russian Federation, Orenburg, Russia*

**Received:** 27.02.2019. **Accepted:** 15.03.2019

The multidirectional effect of recombinant cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-10) on the biofilm formation of intestinal microsymbionts was established, which depended on the concentration of cytokines, the type and strain of microorganisms.

*Key words:* cytokines, intestinal microsymbionts, biofilms

### Authors:

**Chainikova I. N.**, ✉ M.D., professor, Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia; Professor of the Department of Normal Physiology of State Medical University of Russian Federation Ministry of Health, Orenburg, Russia. **E-mail:** [inchainicova@yandex.ru](mailto:inchainicova@yandex.ru);

**Ivanova E. V.**, MD, Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia; docent of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

**Bondarenko T. A.**, Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

**Perunova N. B.**, MD, Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Biomonitoring and Molecular Genetic Research, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

**Chelpachenko O. E.**, M.D., Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia;

**Nikiforov I. A.**, Ph. D., Leading Researcher Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia.

## ИЗМЕНЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

© 2019 г. К. А. Чемодакова\*, Б. В. Мартынов, И. А. Сухина,  
В. Ю. Никитин, А. М. Иванов

\*E-mail: Larana@yandex.ru

ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова,  
Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

У 58 пациентов с глиомами головного мозга различной степени злокачественности проведено иммунологическое исследование периферической крови. До хирургического лечения у больных с глиомами низкой степени злокачественности low-grade (grade II) наблюдалось более высокое ( $p < 0,05$ ) количество общих Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ), Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+$ ) и НК-клеток ( $CD3^-CD56^+$ ) по сравнению с пациентами с глиомами высокой степени злокачественности high-grade (grade III, IV). В послеоперационном периоде в группе больных глиомами low-grade произошло увеличение популяции цитотоксических Т-лимфоцитов ( $CD3^+CD8^+$ ), а у больных глиомами high-grade — популяции Т-киллеров ( $CD3^+CD56^+$ ) и Т-reg ( $CD3^+CD4^+CD25^{bright}$ ). Полученные данные свидетельствуют о повышении активности цитотоксического Т-клеточного ответа у больных глиомами low-grade и устойчивой противоопухолевого иммунного ответа у больных глиомами high-grade после хирургического лечения.

**Ключевые слова:** глиома, низкая степень злокачественности, высокая степень злокачественности, иммунофенотипирование, Т-лимфоциты, НК-клетки

DOI: 10.31857/S102872210006996-0

**Адрес:** Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, кафедра нейрохирургии, Чемодакова Ксения Андреевна, Тел.: 8 (981) 780-65-19; **E-mail:** Larana@yandex.ru

**Авторы:**

**Чемодакова К. А.**, преподаватель кафедры нейрохирургии ФГБВОУ ВО Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;

**Мартынов Б. В.**, д.м.н., профессор кафедры нейрохирургии ФГБВОУ ВО Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;

**Сухина И. А.**, к.б.н., преподаватель кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;

**Никитин В. Ю.**, д.м.н., заведующий иммунологической лабораторией центра клинической лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;

**Иванов А. М.**, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время, несмотря на достижения лучевой и химиотерапии в современной нейро-

онкологии, результаты лечения глиом остаются неудовлетворительными, что приводит к необходимости поиска новых вариантов лечения. Понимание иммунобиологии глиальных новообразований головного мозга необходимо для выработки иммунотерапевтического подхода к комбинированному лечению глиом [1, 2].

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 58 пациентов с глиальными опухолями головного мозга различной степени злокачественности, проходивших лечение в клинике нейрохирургии ВМедА им. С. М. Кирова в период с 2015 г. по ноябрь 2016 г. Взятие крови проводили в день выполнения оперативного вмешательства и на седьмые сутки после него. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови (ПК) осуществляли на проточном цитометре «Cytomics FC500» (фирма «Beckman Coulter», США) с использованием комбинаций прямых моноклональных антител.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основным прогностическим критерием у больных с глиомами является гистологический диагноз и степень злокачественности опухоли в соответствии с классификацией опухолей ЦНС ВОЗ 2016 г.: группа grade II (диффузные глиомы) – 19 чел. (33%); группа grade III (анапластические глиомы) – 21 чел. (36%); группа grade IV (глиобластомы) – 18 чел. (31%). Оценка Т-клеточного звена в зависимости от степени злокачественности и проведенного хирургического лечения выявила следующие изменения. До хирургического вмешательства, на фоне общего лейкоцитоза, средние значения абсолютного количества общих Т-лимфоцитов у больных группы grade II превышали верхние границы нормы и статистически значимо были выше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группами high-grade. В послеоперационном периоде абсолютное количество Т-клеток в группе grade II снизилось в 1,6 раза, что свидетельствует об ответной реакции Т-клеточного звена иммунитета у данной группы пациентов на проведенное лечение. Количественный анализ основных субпопуляций Т-лимфоцитов (Т-хелперов/индукторов  $CD3^+CD4^+$  и цитотоксических Т-лимфоцитов  $CD3^+CD8^+$  у пациентов во всех группах до хирургического вмешательства выявил увеличение соотношения Т-хелперов к Т-ЦТЛ ( $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ ) и резкое снижение данного показателя после хирургического вмешательства относительно минимальных нормальных значений ( $p < 0,05$ ). У больных grade II глиомами и количество Т-хелперов при первичном обследовании было выше ( $p < 0,05$ ), чем у пациентов high-grade глиомами. После проведенного хирургического лечения отмечалось снижение соотношения основных субпопуляций Т-лимфоцитов за счет небольшого увеличения абсолютного числа ЦТЛ. При этом статистически значимое повышение данной популяции ( $p < 0,05$ ) наблюдалось только у больных с low-grade глиомами головного мозга.

Таким образом, проведенные исследования основных популяций Т-клеток установили, что у больных с глиомами низкой степени злокачественности в дооперационном периоде наблюдается более высокое количество общих Т-лимфоцитов и Т-хелперов, по сравнению с пациентами с high-grade глиомами. Исследование малых субпопуляций Т-лимфоцитов – Т-киллеров  $CD3^+CD56^+$  (NKT-клетки) и регуляторных Т-клеток  $CD3^+CD4^+CD25^{high}$  (T-reg), показало, что у пациентов с глиомами high-grade как до опе-

рации, так и в послеоперационном периоде наблюдались более высокие значения ( $p < 0,05$ ) абсолютного числа Т-киллеров, экспрессирующих маркеры NK-клеток [3, 4]. У пациентов группы grade IV по сравнению с другими группами на дооперационном этапе отмечалось более высокое ( $p < 0,05$ ) процентное содержание T-reg, обладающих иммуносупрессивной функцией, что вероятнее всего является причиной подавления цитотоксического ответа. Исследование NK-клеток показало, что в дооперационном периоде у пациентов с диффузными астроцитомами по сравнению с пациентами с high-grade глиомами, отмечается более высокое ( $p < 0,05$ ) содержание данной популяции. На 7-е сутки после хирургического лечения у пациентов с диффузными астроцитомами и анапластическими глиомами выявлено снижение относительного количества NK-клеток в 2,2 и 1,4 раза, соответственно, что вероятно связано с их миграцией в зону оперативного вмешательства.

## ВЫВОДЫ

Во всех группах пациентов с глиомами в дооперационном периоде выявляется дисбаланс в содержании основных субпопуляций Т-клеток за счет преобладания Т-хелперов/индукторов. В дооперационном периоде у больных с глиомами grade II наблюдается активация Т-клеточного звена иммунитета и NK-клеток в отличие от пациентов с high-grade глиомами. В послеоперационном периоде в группе grade II выявлен дальнейший рост активности цитотоксического Т-клеточного ответа после хирургического лечения. У больных с high-grade глиомами наблюдается повышение количества Т-киллеров, что может отражать компенсаторную реакцию иммунной системы на низкий цитотоксический ответ ЦТЛ [5]. В группе grade IV отмечается увеличение процента T-reg, что может являться причиной подавления цитотоксического ответа. После хирургического лечения у пациентов с диффузными астроцитомами и анапластическими глиомами выявлено снижение абсолютного количества NK-клеток, что связано с их миграцией в зону оперативного вмешательства.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Савченко А. Ю. Нарушение в системе иммунитета у больных глиомами головного мозга на дооперационном этапе / А. Ю. Савченко, Ю. В. Редькин, Н. С. Захарова // Проблемы нейрогенетики, ангионеврологии, нейротравматологии; Сб.

- науч. труд. Ивановской гос. мед. акад.—Иваново, 1999.—С. 113—117.
2. *Stupp R., Hegi M. E., Mason W. P. et al.* Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial // *Lancet Oncol.*— 2009.—Vol. 10, № 5.— P.459—466.
  3. *Старченко А.Л.* Клиническая нейроиммунология хирургических болезней головного мозга / А.Л. Старченко.—СПб.: С.-Петербургское мед. изд-во, 2001.— 324 с. Чиркин В. В., Семенков В. Ф., Карандашов В. И.
  4. *Шардаков В.И., Загоскина Т.П.* Роль иммунной системы и ее оценка у онкологических больных.— Киров, 2000. 21 с.
  5. *Dutoit V., Migliorini D., Dietrich P. Y., Walker P. R.* Immunotherapy of Malignant Tumors in the Brain: How Different from Other Sites? // *Front Oncol.*— 2016.— Vol. 6.— P. 1—18.

## CHANGES OF IMMUNE STATUS OF PATIENTS WITH DIFFERENT TYPES OF GLIAL TUMORS

© 2019 K. A. Chemodakova\*, B. V. Martynov, I. A. Sukhina, V. Yu. Nikitin, A. M. Ivanov

\*E-mail: Larana@yandex.ru

Military Medical Academy. SM. Kirova, St. Petersburg, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 26.03.2019

The immune status of 58 patients with gliomas was evaluated. Prior to surgical treatment in patients with low-grade gliomas was observed higher ( $p < 0.05$ ) the absolute number of total T-lymphocytes, T-helper cells and NK-cells compared to patients with high grade glioma. Postoperatively group grade II was observed explicit reduction in the number of CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> and increase in the population CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> cytotoxic T-lymphocytes. Reducing of the number of CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> lymphocytes in patients with diffuse astrocytomas and anaplastic gliomas after surgical treatment, maybe, related to the migration of these cells into the area of surgical intervention. At the same time in patients with grade III, IV gliomas was revealed an increase of the absolute number of killer T-cells. In the group of grade IV also was recorded increase in the percentage of T-reg, having a suppressor function, which may indicate a breach of anti-tumor immune response and cause suppression of the cytotoxic response in patients with highgrade gliomas.

*Key words:* glioma, low grade, high grade, immunophenotyping, immune status, T-lymphocytes, NK-cells

### Authors:

**Chemodakova K. A.**, ✉ Lecturer of Department of Neurosurgery Military Medical Academy. SM. Kirova, St. Petersburg, Russia.  
E-mail: Larana@yandex.ru;

**Martynov B. V.**, PhD, Professor Department of Neurosurgery Military Medical Academy. SM. Kirova, St. Petersburg, Russia;

**Sukhina I. A.**, Ph.D., Lecturer of Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Military Medical Academy. SM. Kirov, St. Petersburg, Russia;

**Nikitin V. Yu.**, PhD, Head of Immunology Laboratories of the Center for Clinical Laboratory Diagnostics of the Military Medical Academy. SM. Kirova, St. Petersburg, Russia;

**Ivanov A. M.**, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, PhD, Professor, Head of the Department of Clinical Biochemistry, Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Military Medical Academy. SM. Kirova, St. Petersburg, Russia.

## ОЦЕНКА ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ ПРИ АКУШЕРСКОЙ ПАТОЛОГИИ. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ

© 2019 г. С. В. Чепанов<sup>1\*</sup>, Т. Н. Шляхтенко<sup>2</sup>, Е. А. Корнюшина<sup>1</sup>,  
К. Н. Чудотворов<sup>3</sup>, Е. С. Орлова<sup>1</sup>, С. А. Сельков<sup>1</sup>

\*E-mail: chepanovsv@gmail.com

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии  
имени Д. О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>Центр диагностики, профилактики и лечения невынашивания беременности  
при Родильном доме № 1, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет  
имени акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Поступила: 04.03.2019. Принята: 19.03.2019

Препараты иммуноглобулинов рассматриваются как цитопротекторы, способные оказать эффективную защиту эндотелиальных клеток от различных цитопатических факторов, содержащихся в сыворотке крови. Разработан метод оценки эндотелиопротективного действия иммуноглобулинов для внутривенного введения (ВВИГ).

**Ключевые слова:** иммуноглобулины для внутривенного введения, антифосфолипидный синдром, эндотелиальные клетки

DOI: 10.31857/S102872210006997-1

Адрес: 199034 г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3  
Чепанов Сергей Владимирович.

E-mail: chepanovsv@gmail.com

Авторы:

**Чепанов С. В.**, к.м.н., заведующий лабораторией клинической иммунологии с группой по диагностике СПИД ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

**Шляхтенко Т. Н.**, к.м.н., врач иммунолог Центра диагностики, профилактики и лечения невынашивания беременности при Родильном доме № 1, Санкт-Петербург, Россия;

**Корнюшина Е. А.**, к.м.н., врач акушер-гинеколог отделения патологии беременности, старший научный сотрудник ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

**Чудотворов К. Н.**, студент 5 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

**Орлова Е. С.**, аспирант III года обучения, ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

**Сельков С. А.**, Заслуженный деятель науки РФ, профессор, д.м.н., руководитель отдела иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

## ВВЕДЕНИЕ

Существенная роль в развитии осложнений во время беременности принадлежит активации системы гемостаза, клиническими проявлениями которой являются венозные тромбоэмболические осложнения и собственно акушерские осложнения (преэклампсия, синдром потери плода, задержка роста плода, отслойка плаценты и др.), обусловленные тромбозами в зоне микроциркуляции плаценты. Известно, что универсальным неспецифическим звеном в активации системы гемостаза является дисфункция эндотелия, которая развивается при действии на сосудистый эндотелий различных повреждающих факторов, в том числе аутоиммунных антифосфолипидных антител [1]. В физиологических условиях эндотелий проявляет антитромботические свойства. Антифосфолипидные антитела, которые появляются вследствие приобретенного дефекта регуляции иммунной системы, провоцируют активацию гемостатической функции

эндотелия за счет повышения экспрессии на поверхности мембран эндотелиоцитов тканевого фактора, экспозиции анионных фосфолипидов, повышения экспрессии адгезивных молекул. Одновременно уменьшаются антиагрегантные и антикоагулянтные свойства эндотелия, что проявляется снижением продукции простациклина, подавлением активности антикоагулянтной системы протеина С, снижением активации анти-тромбина и фибринолитической активности.

Подобная ситуация развивается при антифосфолипидном синдроме (АФС) [2]. Одним из эффективных методов терапии АФС является применение ВВИГ. Препараты иммуноглобулинов обладают широким спектром действия и влияют на различные звенья иммунной системы [3]. Так, обладая противoinфекционным эффектом, защищают организм матери и ребенка от действия инфекционных агентов. Оказывая иммуномодулирующий эффект – снижают иммуноопосредованное воспаление. В то же время следует учитывать, что эти препараты не всегда могут оказывать требуемый терапевтический эффект. Поэтому необходимы дополнительные исследования, обосновывающие их использование в акушерской и терапевтической практике.

**Цель исследования.** Разработка метода оценки эндотелиопротективного эффекта иммуноглобулинов для внутривенного введения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено клиничко-лабораторное обследование женщин репродуктивного возраста, наблюдавшихся в ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». Обследованные женщины были распределены на следующие группы: женщины с физиологически протекающей беременностью (n=31); беременные женщины с привычным невынашиванием беременности без АФС (n=42); беременные женщины с привычным невынашиванием беременности на фоне АФС (n=36). У пациенток забирали кровь из локтевой вены. Кровь центрифугировали, сыворотки отбирали в стерильных условиях. В работе использовали эндотелиальные клетки линии EA.Hy926, воспроизводящие все основные морфологические, фенотипические и функциональные характеристики, присущие эндотелию. В исследовании использовали препарат иммуноглобулинов для внутривенного введения «Интрагект» (Biotest, Германия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки эндотелиопротективного эффекта ВВИГ использовалась экспериментальная модель, где часть культуры эндотелиальных клеток предварительно обрабатывали иммуноглобулином для внутривенного введения, а часть оставляли интактной, затем клетки культивировали с сывороткой крови женщин и определяли методом проточной цитометрии процент нежизнеспособных интактных эндотелиальных клеток и обработанных ВВИГ. В ходе экспериментов было отмечено снижение цитопатического влияния сывороток крови на эндотелиальные клетки, после их обработки ВВИГ в отличие от интактных эндотелиальных клеток. Так у женщин с привычным невынашиванием беременности без АФС на  $71,5\% \pm 16,2$ , а у женщин с привычным невынашиванием беременности и АФС на  $70,1\% \pm 24,3$ .

## ВЫВОДЫ

Имуноглобулины оказывают эндотелиопротективный эффект, характеризующийся снижением цитопатического влияния сывороток периферической крови в отношении эндотелиальных клеток после обработки их препаратом ВВИГ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Макацария А. Д., Бицадзе В. О., Хизроева Д. Х., Макацария Н. А. Патогенетическое значение антифосфолипидных антител // Практическая медицина.—2012.—Т. 5.— № 60.—С. 9–21. [Makatsaria A. D., Bitsadze V. O., Khizroeva D. H., Makatsaria N. A. Pathogenetic significance of antiphospholipid antibodies // Practical medicine.—2012.—Vol. 5.— № 60.—p. 9]
2. Шляхтенко Т. Н., Алябьева Е. А., Аржанова О. Н., Сельков С. А. Антифосфолипидный синдром при невынашивании беременности // Журнал акушерства и женских болезней.— 2015.—Т. 54.— № 5.—С. 69–76. [Shlyahthenko T. N., Alyabieva E. A., Arzhanova O. N., Selkov S. A. Antiphospholipid syndrome in miscarriage // Journal of Obstetrics and Women's Diseases.— 2015.—V. 54.— № 5.—P. 69–76.]
3. Сельков С. А., Соколов Д. И., Чепанов С. В. Иммунорегуляторные эффекты иммуноглобулинов для внутривенного введения // Медицинская иммунология.—2013.—Т. 15.— № 1.—С. 5–12. [Selkov S. A., Sokolov D. I., Chepanov S. V. Immunoregulatory effects of intravenous immunoglobulins // Medical Immunology.—2013.—Т.15.— № 1.—p. 5–12.]

## ENDOTELIOPROTECTIVE EFFECT OF INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULINS IN OBSTETRIC PATHOLOGY. METHODOLOGICAL APPROACHES

© 2019 S. V. Chepanov<sup>1\*</sup>, T. N. Shlachtenko<sup>2</sup>, E. A. Korniyushina<sup>1</sup>,  
K. N. Chudotvorov<sup>3</sup>, E. S. Orlova<sup>1</sup>, S. A. Selkov<sup>1</sup>

\*E-mail: chepanovsv@gmail.com

<sup>1</sup>The Federal State Budgetary Scientific Institution "The Research Institute of Obstetrics,  
Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott", Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>The Center for Diagnosis, Prevention and Treatment of Miscarriage at Maternity Hospital № 1,  
Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup>The Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Received: 04.03.2019. Accepted: 19.03.2019

Intravenous immunoglobulins are investigated as cytoprotectors that can effectively protect endothelial cells from different cytopathic factors contained in blood serum. We developed a method to evaluate the endothelioprotective effect of intravenous immunoglobulins.

*Key words:* intravenous immunoglobulins, antiphospholipid syndrome, endothelial cells

### Authors:

**Chepanov S. V.**, ✉ MD, Head of the laboratory of immunology, The Federal State Budgetary Scientific Institution "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott", Saint Petersburg, Russia. E-mail: chepanovsv@gmail.com;

**Shlachtenko T. N.**, MD, immunologist The Center for Diagnosis, Prevention and Treatment of Miscarriage at Maternity Hospital № 1, Saint Petersburg, Russia;

**Korniyushina E. A.**, MD, obstetrician-gynecologist of the Obstetric Department of Pregnancy Pathology, Senior Researcher, The Federal State Budgetary Scientific Institution "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott", Saint Petersburg, Russia;

**Chudotvorov K. N.**, student of the Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

**Orlova E. S.**, postgraduate student, The Federal State Budgetary Scientific Institution "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott", Saint Petersburg, Russia;

**Selkov S. A.**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Immunology and Intercellular Interactions, Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott", Saint Petersburg, Russia.

## СОСТОЯНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА У МУЖЧИН С ХРОНИЧЕСКИМ ХЛАМИДИЙНЫМ УРЕТРИТОМ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

© 2019 г. Н. С. Чепурнова<sup>1\*</sup>, А. В. Костюшко<sup>1</sup>, М. С. Тулупова<sup>2</sup>

\*E-mail: dr.cns@yandex.ru

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации, Москва, Россия

Поступила: 26.02.2019. Принята: 11.03.2019

Представлены данные об уровне матриксной металлопротеиназы-9 и ее тканевых ингибиторах 1-го и 2-го типов в сыворотке венозной крови у мужчин с хроническим хламидийным уретритом до и после лечения. Повышение уровня ММП-9 на фоне нормальных значений ТИМП-1 и низкого уровня ТИМП-2 указывает на деструктивный потенциал инфекционного процесса. Зафиксировано повышение эффективности комбинированной терапии с применением рекомбинантного интерферона-гамма.

**Ключевые слова:** межклеточный матрикс, хламидиоз, иммуномодуляторы

DOI: 10.31857/S102872210006998-2

**Адрес:** 690002, Приморский край, г. Владивосток, проспект Острякова, д. 4, ФГБОУ «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра нормальной и патологической физиологии, Чепурнова Наталья Сергеевна. Тел.: 89149606006.

**E-mail:** dr.cns@yandex.ru

**Авторы:**

**Чепурнова Н. С.**, к.м.н., ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Костюшко А. В.**, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Владивосток, Россия;

**Тулупова М. С.**, к.м.н., докторант кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия.

Известно, что процессы структурно-функционального ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса происходят в результате деградации базальных мембран и цепей коллагена за счет активации матриксных металлопротеиназ (ММП), которые относятся к семейству цинк-зависимых эндопептидаз [1], и оказывают влияние на

состояние межклеточного матрикса, принимают участие в развитии воспалительного процесса как системного, так и локального характера, в том числе, в урогенитальном тракте.

**Целью исследования** явилось изучение показателей, влияющих на состояние межклеточного матрикса, в сыворотке крови у пациентов с хламидийным уретритом на фоне терапии.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено обследование на ИППП 102 мужчин, согласно общепринятым стандартам, у 24 мужчин поставлен диагноз хронический хламидийный уретрит, средний возраст –  $33,0 \pm 4,2$  лет. Группу сравнения (контрольная группа) составили 30 практически здоровых мужчин-добровольцев, средний возраст –  $31,1 \pm 1,1$  лет. Терапия проводилась с использованием Доксициклина в дозе 100 мг 2 раза в день в течение 10 дней. В качестве иммуномодуляторов использовались интерлейкин-2 человека рекомбинантный в дозе 500 тыс. МЕ 1,0 мл подкожно в область плеча через день, 6 инъекций и интерферон гамма в дозе

500 тыс. МЕ 1,0 мл подкожно в область плеча через день, 5 инъекций. Наблюдение всех пациентов осуществлялось в течение 28 дней (лабораторные исследования включали анализы белков острой фазы исходно и через 28 дней). Определение уровня матриксных металлопротеиназ 8, 9 типов (ММП-8, ММП-9) и их тканевых ингибиторов 1 и 2 типов (ТИМП-1, ТИМП-2) в сыворотке венозной крови проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (USA) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия), нг/мл. Для оценки иммуностимулирующего действия модуляторов использовалась формула Земскова А. М. (2003):

$$(P_{ис}-P_m)/P_{ис} - (P_{ис}-P_m)/P_{ис} \times 100\%,$$

где  $P_{ис}$  – значение параметра в абсолютных величинах до начала лечения,  $P_m$  – то же после традиционной терапии,  $P_m$  – то же после проведения традиционного лечения с модулятором.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ «Statistica 10» и «R». Объем выполненных исследований позволял оценить результаты с достоверностью 95–99% при использовании соответствующих статистических методов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В сыворотке венозной крови уровень ММП-8 в группе мужчин с хламидийным уретритом не выходил за пределы референсных величин. Тогда как значения ММП-9 у мужчин с хроническим хламидийным уретритом превышали контрольные показатели в 1,5 раза: 456,8 нг/мл против 291,28 нг/мл в контроле ( $p < 0,01$ ). Не зафиксировано изменений ТИМП-1. Уровень ТИМП-2 был значительно ниже контрольных значений: 83,86 нг/мл против 169,04 нг/мл в контроле ( $p < 0,001$ ). Далее пациенты с хроническим уретритом, ассоциированным с *S. trachomatis*, были разделены на три подгруппы. В первой подгруппе пациенты получали стандартную схему лечения – Доксициклин, перорально в дозе 100 мг 2 раза в день в течение 10 дней (8 чел.), во второй подгруппе дополнительно к стандартной схеме мужчины получали подкожные

инъекции рекомбинантного интерферона-гамма по 500 тыс. МЕ 1,0 мл через день, 5 инъекций (8 чел.). Третья подгруппа мужчин получали рекомбинантный интерлейкин-2 в виде подкожных инъекций 500 тыс. МЕ 1,0 через день, 6 инъекций (8 чел.) (на фоне стандартной терапии). С целью характеристики динамики изменения медиаторов воспаления в группе мужчин с хламидийной инфекцией, получавших Доксициклин, была определена нормализация уровня ММП-9. Отмечена положительная динамика изменения уровня ТИМП-2 – его уровень увеличился на 35% на фоне терапии, что, однако, не позволило вернуться к показателям контрольной группы. Уровень ММП-8 оставался в пределах референсных величин.

В группе пациентов, получавших стандартную терапию в сочетании с рекомбинантным интерфероном-гамма значения исследуемых показателей стабилизировались, а в группе, где применялся рекомбинантный интерлейкин-2 в сыворотке крови определена нормализация уровней только ТИМП-2, значения ММП-9 снизились на 50%, но показатели контроля не достигли.

Таким образом, при исследовании эффекта от лечения с использованием стандартных схем и схем в сочетании с иммуномодулирующими препаратами было определено следующее: при хроническом хламидийном уретрите целесообразно применение комплексной схемы терапии, включающей в себя антибактериальные и иммуномодулирующие препараты, что обусловлено положительной динамикой показателей. Собственный эффект применения рекомбинантного интерлейкина-2 составил 7%, а рекомбинантного интерферона- $\gamma$  – 13% (при этом у 89% мужчин показатели соответствовали контролю).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Маркелова Е. В., Здор В. В., Романчук А. Л., Бирко О. Н. Матриксные металлопротеиназы: их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2016, 2. 11–22. [Markelova E. V., Zdor V. V., Romanchuk A. L., Birko O. N. Matrix metalloproteinases: their relationship with the cytokine system, diagnostic and prognostic potential. Immunopathology, allergology, infectology. 2016, 2.11–22].

**CONDITION OF INDICATORS OF INTERACTION OF THE INTER-CELLULAR  
MATRIX IN MEN WITH CHRONIC CHLAMYDIAL URETHRITIS  
BEFORE AND AFTER THE TREATMENT**

© 2019 N. S. Chepurnova<sup>1\*</sup>, A. V. Kostyushko<sup>1</sup>, M. S. Tulupova<sup>2</sup>

\*E-mail: dr.cns@yandex.ru

<sup>1</sup>"Pacific State Medical University", Ministry of Health of the Russian Federation, Vladivostok, Russia;

<sup>2</sup>"Peoples' Friendship University of Russia" Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Moscow, Russia

**Received:** 26.02.2019. **Accepted:** 11.03.2019

The data on the level of matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitors of the 1st and 2nd types in the serum of venous blood in men with chronic chlamydial urethritis before and after treatment are presented. An increase in the level of MMP-9 against the background of normal values of TIMP-1 and low levels of TIMP-2 indicates the destructive potential of the infectious process. An increase in the effectiveness of combination therapy using recombinant interferon-gamma has been observed.

*Key words:* extracellular matrix, chlamydia, immunomodulators

**Authors:**

**Chepurnova N. S.**, ✉ PhD, Assistant, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia. **E-mail:** dr.cns@yandex.ru;

**Kostyushko A. V.**, PhD, Associate Professor, Department of Normal and Pathological Physiology, Pacific State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Vladivostok, Russia;

**Tulupova M. S.**, Ph.D., doctoral candidate of the Department of Obstetrics and Gynecology with a course of perinatology, Russian Peoples Friendship University, Moscow, Russia.

## ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕРВНОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ У МЫШЕЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *DISC1*

© 2019 г. Н. Д. Чижова<sup>1\*</sup>, Т. В. Липина<sup>2</sup>, Т. Г. Амстиславская<sup>1,2</sup>

\*E-mail: chnadezhda1995@gmail.com

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины», Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

Шизофрения является многофакторным заболеванием, патогенез которого на фоне иммунной дисфункции складывается из сложного взаимодействия генетических особенностей организма и факторов среды. Для большего соответствия имеющейся экспериментальной модели шизофрении (мышь *DISC1-L100P*) тому генетическому разнообразию психопатологии, что наблюдается у людей, нами получены и исследованы животные, сочетающие в себе различающиеся мутантные аллели гена *DISC1* (*Disrupted-in-Schizophrenia-1*). Целью настоящей работы было изучение фенотипических особенностей проявления эмоционального, социального и когнитивного поведения у мышей, несущих сразу две мутации в гене *DISC1-L100P/Q31L* и их сопоставление со спектром про- и противовоспалительных цитокинов в структурах мозга мышей *DISC1-L100P*. Самцы *DISC1-L100P/Q31L*, в отличие от самок, демонстрировали более выраженный дефицит пресинаптического торможения реакции вздрагивания в ответ на сигнал 72 дБ. Все исследуемые группы показали отсутствие депрессивноподобного эндотипа в тесте на «подвешивания за хвост». Поскольку для мышей *DISC1-L100P* показан измененный цитокиновый профиль в структурах мозга, вовлеченных в патогенетические механизмы шизофрении, то экспериментальная модель мышей *DISC1-L100P/Q31L* представляется перспективной в изучении вклада эпигенетических воздействий, в частности материнской иммунной активации, в патогенез шизофрении.

**Ключевые слова:** шизофреноподобное поведение, депрессивноподобное поведение, генетические модели, цитокины, иммунная активация, мыши

DOI: 10.31857/S102872210007001-6

Адрес: 630117. Новосибирск, ул. Тимакова, 4, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины», лаборатория трансляционной биопсихиатрии. Амстиславская Тамара Геннадьевна. Тел./факс: +7(383) 335-97-54, +7913 771 27 85 (моб.).

E-mail: amstislavskayatg@physiol.ru

Авторы:

**Чижова Н. Д.**, магистрант второго года обучения ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия;

**Липина Т. В.**, д. б. н., заведующая лабораторией экспериментальных моделей патологии когниции и эмоций, главный научный сотрудник ФГБНУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины», Новосибирск, Россия;

**Амстиславская Т. Г.**, д. б. н., заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией трансляционной биопсихиатрии, главный научный сотрудник ФГБНУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины», Новосибирск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Развитие шизофрении и депрессии зависит от многих факторов, включающих в себя генетический компонент со сложным взаимодействием разных генов и их аллелей и воздействие окружающей среды. Слабым звеном многих генетических моделей психопатологий является то, что они основаны на одной генетической мутации, а это не может отражать наблюдаемой картины генетического разнообразия психических расстройств у человека, и, следовательно, может являться препятствием для переноса полученных данных на человека. В связи с этим представляется перспективным изучение влияния взаимодействия нескольких аллелей гена, связанного с развитием этих заболеваний, на поведение

животного. На базе УНУ (уникальной научной установки «Биологическая коллекция – генетические биомодели нейropsychических заболеваний» (№ 493387) НИИФФМ) осуществить это стало возможным используя мышей, несущих две точечные мутации во втором экзоне гена *DISC1*. Мыши линии *DISC1-L100P* проявляют шизофреноподобное, а линии *DISC1-Q31L* – депрессивноподобное поведение [1]. Для мышей *DISC1-L100P* показаны изменения уровней про- и противовоспалительных цитокинов в гипоталамусе, гиппокампе и префронтальной коре [2], а также установлено взаимодействие этого генотипа с таким фактором среды как материнская иммунная активация, приводящее к усугублению проявлений шизофреноподобного эндофенотипа у потомков [3], что согласуется с известными данными о факторах риска развития шизофрении у людей [4]. Учитывая существенную роль иммунных нарушений в патогенезе шизофрении, а также связь иммунной активации с поведенческими паттернами [5], целью данной работы было изучение фенотипических особенностей проявления эмоционального, социального и когнитивного поведения у мышей, несущих две мутации в гене *DISC1-L100P/Q31L*.

## МЕТОДЫ

В экспериментах использовали мышей в возрасте 2–3 месяцев: самцы ( $n=10$ ) и самки ( $n=8$ ) линий *DISC1-L100P<sup>+/-</sup>*, *DISC1-Q31L<sup>+/-</sup>* ( $n=10$  и  $n=11$ , соответственно) и *DISC1-L100P/Q31L* ( $n=8$  и  $n=8$ ). Поведение оценивали в тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «Т-образный лабиринт», «подвешивание за хвост», тесте на социальную мотивацию с использованием компьютеризованного оборудования фирмы Noldus International Technology, а также в тесте «престимульное торможение реакции вздрагивания» в звукоизоляционной камере SR-Lab Startle Response System и в тесте на память страха в экспериментальных установках Gemini Avoidance System.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Выявлены гендерные различия в престижимном торможении реакции вздрагивания у мышей *DISC1-L100P/Q31L* по сравнению с *DISC1-L100P<sup>+/-</sup>*. Самцы с двумя мутациями демонстрировали более выраженный и достоверно значимый дефицит в ответ на сигнал 72 дБ ( $23,31 \pm 5,69$  и  $41,28 \pm 4,53$ , соответственно;  $p \leq 0,05$ ), тогда

как у самок результат имел противоположную направленность ( $25,2 \pm 6,6$  и  $3,53 \pm 11,36$ ;  $p \leq 0,05$ ). Мыши линии *DISC1-Q31L<sup>+/-</sup>* не проявляли шизофреноподобный эндофенотип. В тесте «подвешивания за хвост» все исследуемые группы показали отсутствие депрессивноподобного эндофенотипа. Сравнительное изучение поведения мышей в тестах «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «Т-образный лабиринт», тесте на социальную мотивацию и на память страха не выявило достоверных межгрупповых различий ( $p \geq 0,05$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты показывают перспективность использования мышей *DISC1-L100P/Q31L* в качестве экспериментальной генетической модели с высокой степенью предрасположенности к проявлению шизофреноподобного эндофенотипа. В связи с этим особый интерес представляет оценка у мышей с двумя мутациями в гене *DISC1* иммунной реактивности и цитокинового профиля в мозге (баланс про- и противовоспалительных цитокинов). Данная генетическая модель может быть предложена и для изучения вклада эпигенетических воздействий, в частности материнской иммунной активации, в патогенез шизофрении.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Lipina T. V., Roder J. C. Disrupted-In-Schizophrenia-1 (DISC1) interactome and mental disorders: Impact of mouse models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2014, 45, 271–294.
2. Геворгян М. М., Жанаева С. Я., Альперина Е. Л., Идова Г. В., Липина Т. В. Спектр цитокинов в структурах головного мозга мышей *Disc-1-L100P* с шизофреноподобным поведением. *Нейроиммунология.* 2017, 14 (1–2), 23–24 [Gevorgyan M. M., Zhanaeva S. Y., Alperina E. L., Idova G. V., Lipina T. V. The spectrum of cytokines in the brain structures of *DISC1-L100P* mice with schizophrenia-like behavior. *Neuroimmunology.* 2017, 14 (1–2), 23–24].
3. Lipina T. V., Zai C., Hlousek D., Roder J. C., Wong A. H. Maternal Immune Activation during Gestation Interacts with *Disc1* Point Mutation to Exacerbate Schizophrenia-Related Behaviors in Mice. *The Journal of Neuroscience.* 2013, 33 (18), 7654–7666.
4. Patterson P. H. Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology, and animal models. *Behav. Brain Res.* 2009, 204, 313–321.
5. Markova E. V., Obukhova L. A., Kolosova N. G. Parameters of cell immune response in Wistar and OXYS rats and their behavior in the open field test. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2003, 136(6), 588–590.

## INDICATORS OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF NERVOUS AND IMMUNE SYSTEMS IN MICE WITH MUTATIONS IN THE *DISC1* GENE

© 2019 N D. Chizhova<sup>1\*</sup>, T. V. Lipina<sup>2</sup>, T. G. Amstislavskaya<sup>1,2</sup>

\*E-mail: chnadezhda1995@gmail.com

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Novosibirsk State University», Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Scientific Institution «Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine», Novosibirsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 28.03.2019

Schizophrenia is a multifactorial disease, the pathogenesis of which against the background of immune dysfunction consists of a complex interaction of the genetic characteristics of the organism and environmental factors. To better match the available experimental model of schizophrenia (mouse *DISC1*-L100P) to the genetic diversity of psychopathology that is observed in humans, we have obtained and studied animals that combine two different mutant alleles of the *DISC1* gene (Disrupted-in-Schizophrenia-1). The purpose of this work was to study emotional, social and cognitive behavior in mice carrying two mutations in the *DISC1* gene – L100P and Q31L and their comparison to the spectrum of pro- and anti-inflammatory cytokines in the brain structures of *DISC1*-L100P mice. Males *DISC1*-L100P/Q31L mice, in contrast to females, showed a more pronounced deficit of prepulse inhibition to the 72 dB signal. All studied groups showed the absence of a depressive-like behavior in the tail suspension test. Since *DISC1*-L100P mice are characterized by changes in the cytokine profile in the brain structures involved in the pathogenetic mechanisms of schizophrenia, the experimental model of *DISC1*-L100P/Q31L mice seems promising in studying the contribution of epigenetic effects, including maternal immune activation, to schizophrenia pathogenesis.

*Key words:* schizophrenia-like behavior, depressive-like behavior, genetic models, cytokines, immune activation, mice

### Authors:

**Chizhova N. D.**, ✉ Undergraduate of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Novosibirsk State University», Novosibirsk, Russia. **E-mail:** amstislavskayatg@physiol.ru;

**Lipina T. V.**, Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of experimental models of the pathology of cognition and emotions, Chief Researcher of the Federal State Budgetary Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia;

**Amstislavskaya T. G.**, Doctor of Biological Sciences, Head of the Translational Biopsychiatry Laboratory, Chief Researcher of the Federal State Budgetary Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia.

## ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭНДОТЕЛИЯ У ЖЕНЩИН С ТЯЖЕЛОЙ ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЕБЮТА ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2019 г. Г. Н. Чистякова, И. И. Ремизова, А. Э. Айтов

E-mail: omm@niiomm.ru

ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

Поступила: 15.02.2019. Принята: 01.03.2019

Проведена оценка функциональной активности эндотелия и уровня про- и противовоспалительных медиаторов у женщин с тяжелой преэклампсией (ПЭ) в зависимости от дебюта заболевания. Установлено, что реализация тяжелой степени ПЭ вне зависимости от сроков манифестации (до или после 34 недель гестации) сопровождается повышением уровня эндотелина-1, TNF $\alpha$  и С-реактивного белка. У женщин с ранней ПЭ, на фоне выявленных изменений отмечается увеличение уровня стабильных метаболитов NO $_2$  и IL-10, с поздней ПЭ – содержания гомоцистеина, что дает возможность использовать данные показатели для оценки тяжести преэклампсии с разными сроками манифестации.

**Ключевые слова:** ранняя и поздняя преэклампсия, дисфункция эндотелия, цитокины

DOI: 10.31857/S102872210006999-3

Адрес: 620028 Екатеринбург, ул. Репина, д. 1, ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, Ремизова Ирина Ивановна.  
Тел.: 8(343) 371 28 30, +7982 627 95 36 (моб.).

Email: RemizovaII@yandex.ru

**Авторы:**

**Чистякова Г. Н.**, д.м.н., проф., руководитель отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «НИИ ОММ Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

**Ремизова И. И.**, к.б.н., с.н.с. отделения иммунологии, микробиологии, патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ «НИИ ОММ Минздрава России, Екатеринбург, Россия;

**Айтов А. Э.**, заочный аспирант ФГБУ «НИИ ОММ Минздрава России Екатеринбург, Россия.

Согласно данным литературы преэклампсия (ПЭ) является конечным клиническим проявлением, различных по своему происхождению расстройств: ранней, или плацентарной с дебютом до 34 гестации, и поздней, или материнской диагностированной, после 34 недель. Ранняя ПЭ обусловлена нарушением процесса инвазии трофобласта и ремоделирования спиральных артерий, что приводит к аномальному развитию плаценты, поздняя – в результате вторичных нарушений кровотока в материнском микроциркуляторном русле [1]. В настоящее время большинство исследований направленно на изучение основных звеньев патогенеза тяжелой ПЭ,

одним из которых является дисфункция эндотелия и развитие системной воспалительной реакции. Возможные причины включают неадекватное вторжение трофобластов, ангиогенный дисбаланс, неправильную адаптацию иммунной системы к беременности и плацентарную ишемию [2, 3]. Однако на сегодняшний день предикторы ранней и поздней манифестации тяжелой преэклампсии до конца не выяснены.

**Цель исследования:** оценить особенности функциональной активности эндотелия и уровень про- и противовоспалительных медиаторов у женщин с тяжелой преэклампсией в зависимости от дебюта заболевания.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования – проспективное, сравнительное. В исследование включены 54 беременных женщин с преэклампсией тяжелой степени, из них: 30 женщин с ранней преэклампсией (21–34 недели гестации) – 1-я группа и 24 женщины с поздней преэклампсией (35–40 недель гестации) – 2-я группа. Группу сравнения составили 27 беременных женщин без гипертензивных нарушений. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России, от всех женщин по-

лучено информированное согласие на использование биологического материала в научных целях. Содержание, TNF $\alpha$  и IL-10, определяли при использовании тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), концентрацию С-реактивного протеина – «Biomerica» (США); уровень эндотелина-1 – «Biomedica» (Австрия). Концентрацию стабильных метаболитов оксида азота (NO) (эндогенного нитрита, общего нитрита и нитрата) – спектрофотометрическим методом, основанном на ферментном превращении нитрата в нитрит с участием нитрат-редуктазы в реакции Грисса – тест-системы «R&D Systems» (США). При статистической обработке результатов исследований использовали пакеты прикладных программ Excel и Statistica 6.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Известно, что патогенетическая основа всех гипертензивных осложнений беременности – генерализованные нарушения регуляции сосудистого тонуса на фоне эндотелиальной дисфункции. Согласно данным литературы, изменение соотношения вазоактивных субстанций связывают, прежде всего, с нарушением синтеза оксида азота (NO), обладающего мощным вазодилатирующим действием и вазоконстриктора эндотелина-1 [4, 5]. У всех женщин с тяжелой степенью ПЭ отмечалось увеличение концентрации эндотелина-1 (0,55(0,3–1,25) и 1,25(0,22–16,73) против 0,09(0,0–0,27) фмоль/мл,  $p_{1-3,2-3} < 0,0001$ ). Однако уровень стабильных метаболитов оксида азота повышался, только у беременных с ранней ПЭ (NO $_2^-$  общ. – (13,71(10,26–15,37) против 11,29(8,22–19,3) и 9,75(8,73–11,28) мкмоль/л,  $p_{1-3} < 0,0001$ ; NO $_2^-$  энд. – (2,08(0,9–2,08) против 0,86(0,35–3,44) и 0,35(0,14–1,48) мкмоль/л,  $p_{1-3} < 0,0001$ ,  $p_{1-2} = 0,05$ , NO $_3^-$  – 11,76(8,8–12,99) против 9,95(7,55–15,42) и 8,51 (7,6–9,41) мкмоль/л,  $p_{1-3} < 0,0001$ ). Полученные данные свидетельствовали о включении компенсаторных механизмов, препятствующих вазоконстрикции у женщин с ранним дебютом заболевания. Определение высоких концентраций гомоцистеина у пациенток с поздней преэклампсией (15,08(10,37–18,95) против 7,27(6,71–7,9) и 7,5(2,83–10,06) мкмоль/л,  $p_{1-3} < 0,0001$ ,  $p_{1-2} = 0,08$ ), на фоне увеличения уровня эндотелина-1 и отсутствие возрастания концентрации стабильных метаболитов оксида азота, указывало на отсутствие положительного вазодилатационного эффекта на эндотелий сосудов. Согласно данным литературы, преэклампсия сопровождается развитием вос-

палительной реакции в децидуальной оболочке и в плаценте, являющейся одним из факторов патогенеза данной патологии. У всех женщин с тяжелой степенью преэклампсии регистрировалось повышенное содержание TNF $\alpha$  и СРБ (TNF $\alpha$  – (50,54(26,0–60,8) и 29,04(25,78–32,72) против 23,1(15,67–30,2) пг/мл,  $p_{1-3,2-3} < 0,001$  и СРБ – 9,3(8,9–10,0) и 7,1(7,0–9,0) против 4,8(4,28–6,73) мг/л  $p_{1-3,2-3,1-2} < 0,001$ ). При этом у женщин с ранней преэклампсией наблюдались наибольшие концентрации СРБ и увеличение концентрации IL-10 (19,85(6,17–21,68) против 4,63(4,38–6,37) и 4,37(4,03–4,55) пг/мл во 2-й и 3-й группах,  $p_{1-3} = 0,017$ ).

Таким образом, полученные нами результаты указывают на участие эндотелиальной дисфункции и системного воспаления в патогенезе формирования не только поздней, но и ранней преэклампсии. Установлено, что реализация тяжелой степени ПЭ вне зависимости от сроков манифестации (до или после 34 недель гестации) сопровождается повышением уровня эндотелина-1, TNF $\alpha$  и С-реактивного белка. У женщин с ранней ПЭ, на фоне выявленных изменений отмечается увеличение уровня стабильных метаболитов NO $_2^-$  и IL-10, с поздней ПЭ – содержания гомоцистеина, что дает возможность использовать данные показатели для оценки тяжести преэклампсии с разными сроками манифестации.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Ходжаева З. С., Холин А. М., Вихляева Е. М.* Ранняя и поздняя преэклампсия: парадигмы патобиологии и клиническая практика. Акушерство и гинекология, 2013, 10, 4–11. [*Khodzhayeva Z. S., Kholin A. M., Vikhlyayeva Ye. M.* Early and late preeclampsia: Pathobiology paradigms and clinical practice. Obstetrics and Gynecology, 2013, 10, 4–11.]
2. *Schiessl B.* Inflammatory response in preeclampsia. *Mol Aspects Med* 2007, 28 (2), 210–219.
3. *Bonney E. A.* Preeclampsia: a view through the danger model. *J Reprod Immunol* 2007; 76(1–2), 68–74.
4. *Шишкин А. Н., Лындина М. Л.* Эндотелиальная дисфункция и артериальная гипертензия. Артериальная гипертензия. 2008, 14(4), 315–18. [*Shishkin A. N., Lyndina M. L.* Endothelial dysfunction and hypertension. *Arterial hypertension*. 2008, 14 (4), 315–18.]
5. *Чистякова Г. Н., Ремизова И. И., Бычкова С. В.* Функциональная активность эндотелия у рожениц с хронической артериальной гипертензией и пациенток с преэклампсией. Медицинская иммунология. 2017, 19(S), 198–199. [*Chistyakova G. N., Remizova I. I., Bychkova S. V.* Functional endothelial activity in women with chronic arterial hypertension and patients with preeclampsia. *Medical immunology*. 2017, 19(S), 198–199].

**ASSESSMENT OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF ENDOTHELIUM  
IN WOMEN WITH HEAVY PREECLAMPSIA DEPENDING  
MANIFESTATIONS OF THE DISEASE**

© 2019 G. N. Chistyakova, I. I. Remizova, A. E. Aitov

*E-mail: omm@niiomm.ru*

*Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care, Yekaterinburg, Russia*

**Received:** 15.02.2019. **Accepted:** 01.03.2019

The functional activity of the endothelium and the level of pro- and anti-inflammatory mediators in women with severe pre-eclampsia (PE) were evaluated depending on the onset of the disease. It was established that the implementation of severe pre-eclampsia regardless of the timing of the manifestation (before or after 34 weeks of gestation) is accompanied by an increase in the level of endothelin-1, TNF $\alpha$  and C-reactive protein. In women with early PE, against the background of the revealed changes, an increase in the level of stable NO<sub>2</sub> and IL-10 metabolites is noted, and from late PE, there is a homocysteine content, which makes it possible to use these indicators to assess the severity of preeclampsia with different periods

*Key words:* early and late preeclampsia, endothelial dysfunction, cytokines

**Authors:**

**Chistyakova G. N.**, ✉ MD, Professor, Head of the Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnostics of the Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care, Yekaterinburg, Russia;

**Remizova I. I.**, Ph.D., Senior Researcher Department of Immunology, Microbiology, Pathomorphology and Cytodiagnostics of the Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care, Yekaterinburg, Russia. **Email:** RemizovaII@yandex.ru;

**Aitov A. E.**, correspondence postgraduate student of the Ural Scientific Research Institute of Maternity and Child Care, Yekaterinburg, Russia.

## ИММУНОРЕГУЛЯТОРНОЕ И ГЕПАТОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДОВ GLY-HIS-LYS И ТИМОГЕНА

© 2019 г. А. А. Чуланова, М. Ю. Смахтин\*, К. И. Сунайкин, А. М. Смахтина

\*E-mail: m.yu.smakhtin@mail.ru

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»,  
Минздрава РФ, Курск, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 14.03.2019

Пептид Gly-His-Lys активирует репаративную регенерацию гепатоцитов и снижает иммунную функцию при токсических гепатопатиях как с повышенной иммунной функцией (тетрахлорметановая гепатопатия), так и со сниженной иммунной функцией (гидразиновая гепатопатия). Он обладал более выраженным активирующим действием в отношении репаративной регенерации гепатоцитов по сравнению с тимогеном, который также активировал репаративную регенерацию гепатоцитов и обладал иммунорегуляторной активностью.

**Ключевые слова:** регуляторные пептиды Gly-His-Lys, тимоген, поражение печени

DOI: 10.31857/S102872210007000-5

**Адрес:** 305041 Курск, ул. К. Маркса, д. 3, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Минздрава России, Курск, Россия, кафедра биологической химии, Чуланова Анна Александровна.  
Тел.: +7(4712) 588146, 89192749066 (моб.).

**E-mail:** m.yu.smakhtin@mail.ru

### Авторы:

**Чуланова А. А.**, аспирант кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Смахтин М. Ю.**, д.б.н., профессор кафедры биологических наук ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Сунайкин К. И.**, к.б.н., ассистент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Минздрава РФ, Курск, Россия;

**Смахтина А. М.**, студентка ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Минздрава РФ, Курск, Россия.

Регуляторные пептиды играют ключевую роль в поддержании гомеостаза, в регуляции которого также участвует и печень [1]. При этом иммунная система участвует в контроле процессов регенерации [2, 3], а эффекты регуляторных пептидов могут зависеть от исходной активности иммунной функции [1].

Известно, что пептид тимоген, обладает иммуномодулирующими свойствами, у которого также обнаружен и ряд репаративных эффектов [4, 5]. Тогда как пептид Gly-His-Lys (GHL)

обладает гепатотропной активностью [1]. Представляется целесообразным сравнение их эффектов при поражении печени.

**Целью** проведенного исследования было выявление иммуно- и гепатотропного действия пептидов GHL и тимогена в условиях экспериментальных токсических гепатопатий, отличающихся исходным уровнем иммунной реактивности.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на крысах Вистар массой 180–220 грамм с использованием экспериментальных моделей острых токсических гепатопатий, сопровождающихся как повышением иммунной реактивности (тетрахлорметановая гепатопатия), так и ее снижением (гидразиновая гепатопатия) [1]. Острое токсическое поражение печени вызывали внутрижелудочным введением 50% раствора тетрахлорметана в растительном масле по 3 мл/кг массы тела в течение 5 дней подряд или однократным внутрибрюшинным введением сернокислого гидразина (50 мг/кг). GHL был синтезирован в НИИ химии Санкт-Петербургского государственного университета. Тимоген  $H_2N-L-Glu-L-Trp-COOH$ , производится фирмой МБНПК ЦИТОМЕД ЗАО (Россия). Пептиды вводили десятикратно, внутрибрю-

шинно один раз в сутки – тимоген в рекомендованной терапевтической дозе – 1 мкг на 1 кг массы тела, а GHL – 1,5 мкг. Крысы контрольной группы получали изотонический раствор хлорида натрия. Подсчитывали митотический индекс и индекс двуядерных гепатоцитов. Об интенсивности гуморального иммунного ответа судили по количеству антителообразующих клеток в селезенке на 5-й день после иммунизации эритроцитами барана [1]. Достоверность различий сравниваемых параметров определяли по расхождению границ доверительных интервалов и с помощью критерия Манна-Уитни.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пятидневное введение тетрахлорметана сопровождалось активацией гуморального иммунного ответа, о чем свидетельствовало повышение числа антителообразующих клеток в селезенке отравленных животных и вызывало развитие центрлобулярных некрозов, выраженную жировую дистрофию гепатоцитов. В этих условиях пептиды стимулировали репаративную регенерацию гепатоцитов. При этом наибольшей гепатотропной активностью обладал GHL, тогда как тимоген обладал более выраженным иммунокорректирующим эффектом. В условиях гидразиновой гепатопатии репаративное влияние GHL и тимогена было аналогично его эффектам в условиях отравления тетрахлорметаном. Введение гидразина сопровождалось супрессией гуморального иммунного ответа, о чем свидетельствовало снижение числа антителообразующих клеток в селезенке отравленных животных. В этих условиях GHL иммунокорректирующим эффектом не обладал. Тимоген же нормализовал уровень гуморального иммунного ответа. Необходимо подчеркнуть, что использованные модели гепатопатий значительно отличаются по состоянию иммунной функции. Исходя из однонаправленности гепатотропных и иммуносупрессирующих эффектов GHL, возможно, что в разных моделях поражения печени этот пептид обладает сходным механизмом их реализации. При этом он является более мощным стимулятором митотической активности гепатоцитов по сравнению с тимогеном.

Таким образом, эффект GHL – активаторный в отношении репаративной регенерации гепатоцитов и иммуносупрессорный вне зависимости от исходной активности иммунной функции. Тимоген же, активируя репаративную регенера-

цию печени, обладает модуляторной активностью и в отношении иммунной функции.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Курцева А. А., Смахтин М. Ю., Иванов А. В., Беседин А. В. Влияние аминокислот, составляющих пептид глицил-гистидил-лизин, на регенерацию кожных ран и функцию нейтрофилов // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. – 2008. – № 3. – С. 5–10. [Kurceva A. A., Smakhtin M. Yu., Ivanov A. V., Besedin A. V. The influence of amino acids, located in glycyl-histidyl-lysine peptide, on regeneration of skin wounds and neutrophil function // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2008. – № 3. – P. 5–10].
2. Смахтин М. Ю., Чердаков В. Ю., Кононец Е. Н., Кремзукова Я. В. Сравнительная характеристика гепатоцеллюлярных и иммуотропных эффектов регуляторных пептидов в условиях хронической гепатопатии // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. – 2008. – № 4. – С. 16–22. [Smakhtin M. Yu., Cherdakov V. Yu., Kononets E. N., Kremzukova Ya. V. The comparative characteristic of hepatocellular and immunotropic effects of chronic hepatopathy // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2008. – № 4. – P. 16–22].
3. Курцева А. А., Смахтин М. Ю., Иванов А. В., Беседин А. В., Чердаков В. Ю. Репаративная и иммуотропная активность пептида gly-his-lys в условиях кожных ран // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. – 2008. – № 1. – С. 36–40. [Kurceva A. A., Smakhtin M. Yu., Ivanov A. V., Besedin A. V. The reparative and immunotropic activity of glycyl-histidyl-lysine peptide in skin wounds // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2008. – № 1. – P. 36–40].
4. Чердаков В. Ю., Смахтин М. Ю., Дубровин Г. М., Бобынцев И. И. Синергичное иммуотропное и репаративное действие тимогена, даларгина и регуляторного пептида GLY-HIS-LYS при экспериментальной травме кожи // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. – 2013. – № 1. – С. 38–42. [Cherdakov V. Yu., Smakhtin M. Yu., Dubrovin G. M., Bobynceva I. I. The synergic immunotropic and reparative action of timogen, dalargin and GLY-HIS-LYS regulatory peptide in experimental skin trauma // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2013. – № 1. – P. 38–42].
5. Чердаков В. Ю., Смахтин М. Ю., Дубровин Г. М., Дудка В. Т., Бобынцев И. И. Синергичное антиоксидантное и репаративное действие тимогена, даларгина и пептида gly-his-lys при переломе трубчатых костей // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. 2010. № 4. С. 15–20. [Cherdakov V. Yu., Smakhtin M. Yu., Dubrovin G. M., Dudka V. T., Bobynceva I. I. The synergic antioxidant and reparative action of timogen, dalargin and gly-his-lys peptide in bone fracture // Kursk scientific-practical journal Human and health. 2010. – № 4. – P. 15–20].

THE IMMUNOREGULATORY AND HEPATOTROPIC ACTION  
OF GLY-HIS-LYS AND TIMOGEN

© 2019 A. A. Chulanova, M. Yu. Smakhtin\*, K. I. Sunaykin,  
A. M. Smakhtina

\*E-mail: m.yu.smakhtin@mail.ru

Kursk State Medical University, Department of biological chemistry, Kursk, Russia

Received: 28.02.2019. Accepted: 14.03.2019

Gly-His-Lys activated hepatocyte reparative regeneration and decreased immune function in case of liver pathology, as with enhanced immune function (tetrachloromethane hepatopathy), as with decreased immune function (hydrazine hepatopathy). Gly-His-Lys was the most potent hepatocyte mitotic activity activator in comparison with timogen, which also activated reparative liver regeneration and had the immunoregulatory activity.

*Key words:* regulatory peptides Gly-His-Lys, timogen, liver pathology

**Authors:**

**Chulanova A. A.**, aspirant of biological chemistry department, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Smakhtin M. Yu.**, ☒ PhD, professor of biological chemistry department, Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

**E-mail:** m.yu.smakhtin@mail.ru;

**Sunaykin K. I.**, PhD, assistant of biological chemistry department, Kursk State Medical University, Kursk, Russia;

**Smakhtina A. M.**, student of Kursk State Medical University, Kursk, Russia.

## СОДЕРЖАНИЕ ИЛ-18 и МСР-1 У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННОЙ РАСЩЕЛИНОЙ ВЕРХНЕЙ ГУБЫ И НЕБА

© 2019 г. С. Г. Шаропов\*, А. Ш. Иноятов

\*E-mail: dr.sanjar\_dental@mail.ru

Бухарский медицинский институт имени Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан

Поступила: 06.03.2019. Принята: 21.03.2019

Проведено исследование по изучению уровней про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-18, МСР-1 и ИЛ-4) у 46 детей с расщелиной верхней губы и неба, которые находились в детской республиканской больнице г. Бухара. Всем больным детям было проведено комплексное обследование специалистами (хирург, педиатр, ортопед, отоларинголог, психоневролог) для выявления отклонений соматического характера и сопутствующих пороков развития. Проведенные исследования по изучению уровня цитокинов показало, что синтез провоспалительных цитокинов – ИЛ-6, ИЛ-18, МСР-1 и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 у больных детей был достоверно повышен, в то время как уровень ИЛ-2 был несколько ниже контрольных значений. Отмеченные изменения в состоянии цитокинового статуса можно квалифицировать как вторичное иммунодефицитное состояние, требующего проведения иммуномодулирующих мероприятий.

**Ключевые слова:** врожденная расщелина верхней губы и неба, цитокины

DOI: 10.31857/S102872210007002-7

**Адрес:** 705018 г. Бухара, ул. Навои, д. 1, Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино, Шаропов Санжар Гайратович.  
Тел./факс: +7(8342) 321983; 8905 378 41 98 (моб.).

**E-mail:** dr.sanjar\_dental@mail.ru

**Авторы:**

**Шаропов С. Г.**, асс. кафедры стоматологии Бухарского государственного медицинского института имени Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан;

**Иноятов А. Ш.**, д.м.н, профессор, ректор Бухарского государственного медицинского института имени Абу Али ибн Сино, Бухара, Узбекистан.

Установлено, что в последнее время во всем мире прогрессивно возрастает количество детей с врожденными пороками развития, в том числе лица и челюстей. В частности, врожденные расщелины верхней губы и неба – составляют около 13% всех врожденных пороков развития человека. По данным ВОЗ они встречаются в 0,6–1,6 случаев на 1000 новорожденных и по частоте занимают 2–3 место среди врожденных пороков развития человека. Частота рождения детей с расщелинами верхней губы и неба имеет стабильную тенденцию к росту. Одной из важных причин течения патологического процесса челюстно-лицевой области являются нарушения в различных звеньях иммунитета [1, 2]. Проявления вторичной иммунной недостаточ-

ности в полости рта отличаются элементами специфики, включающими полиморфизм первичных и вторичных патологических элементов, затяжные темпы развития воспалительных процессов, нетипичную локализацию поражений слизистой рта [3]. Проблема изменения состояния иммунной системы у детей с ВРГН, мало исследована, хотя известно, что при ВПЛ у детей могут иметь место вторичные иммунодефициты [1, 3]. Поэтому насущно необходимая разработка и совершенствование методов лечения и реабилитации данного контингента детей трудно осуществима без углубленного изучения особенностей их иммунной системы и обоснования целесообразности использования в лечении иммуноориентированных препаратов [4]. Известно, что иммунный ответ включает в себя разнонаправленные типы эффекторных механизмов, каждый из которых оптимален в отношении определенных патогенов. При этом субпопуляции Т-хелперов играют ключевую роль в регуляции функций иммунцитов посредством продукции цитокинов, обладающих оппозиционными (про- и противовоспалительными) эффектами. Оппозиционные пулы цитокинов – IFN $\gamma$  и IL-4, IL-10 – рассматриваются как маркеры Th1- и Th2-лимфоцитов, из которых IFN $\gamma$

усиливает клеточно-опосредованный иммунный ответ, а IL-4 и IL-10 – гуморальный [4, 5]. В постнатальной адаптации иммунной системы новорожденных детей одним из ведущих механизмов является активация системы цитокинов, которые играют важную роль в защите колонизирующих слизистые оболочки и кожу ребенка, активизируя фагоцитоз и запуская иммунные процессы в Т-лимфоцитах [5].

**Целью исследования** явилось изучение уровней про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-18, МСР-1 и ИЛ-4) у детей с расщелиной верхней губы и неба.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находились 46 детей с врожденной расщелиной верхней губы и неба, которым было проведено оперативное вмешательство в хирургическом отделении Республиканской больницы г. Бухары. Учитывая, что раннее (в возрасте до 1,5–3 лет) хирургическое лечение приводит к раннему восстановлению коммуникативных функций, предупреждает психоэмоциональные нарушения, возраст обследованных нами детей был в пределах от 0 до 14 месяцев. Обследование состояло из сбора клинико-anamnestических данных и лабораторных исследований. Всем детям с челюстно-лицевой патологией было проведено комплексное обследование специалистами (хирург, педиатр, ортопед, отоларинголог, психоневролог) для выявления отклонений соматического характера и сопутствующих пороков развития и проведения необходимой коррекции отклонений в предоперационном периоде.

После осмотра ребенка были проведены оперативно-лечебные мероприятия в зависимости от степени деформации. Контрольную группу составили 16 практически здоровых детей аналогичного возраста. Изучение уровня цитокинов ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-18, МСР-1 и ИЛ-4 в сыворотке крови проводили методом ИФА (ЗАО «Вектор Бест», СПб). Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере с помощью стандартного пакета прикладных программ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 46 обследованных детей девочек было 28 (60,8%), а мальчиков – 18 (39,2%). При изучении клинических данных детей были выявлены следующие сопутствующие заболевания: дисбактериоз, аллергические заболевания (диатез, стоматит), заболевания ЛОР-органов. У большинства

женщин, родивших детей с ВРВНГ, роды были 2-е или 3-и. При первой беременности родились 14 детей (30,4%), при 4-й и более беременности – 6 детей (13,04%). У большей части женщин, родивших детей с ВРВНГ, беременность протекала с явлениями токсикоза I и II половины, у 26,3% женщин имели место различные осложнения течения родов, 28% женщин в первом триместре переболели гриппом.

Изучение уровней цитокинов у детей с ВРВНГ показало, что концентрация ИЛ-18 была в 3,5 раза выше значений контрольной группы и составила в среднем  $1045,7 \pm 12,6$  пкг/мл ( $P < 0,01$ ). Интерлейкин-18 (ИЛ-18) или  $\gamma$ -интерферон-индуцирующий фактор, играет важную роль в иммунном ответе. Продуцируется, в основном, макрофагами, но может также быть экспрессирован купферовскими клетками, Т- и В-клетками, дендритными клетками, микроглией, кератиноцитами, остеобластами и астроцитами. Он стимулирует образование различных субпопуляций Т-хелперов, имеет провоспалительную активность, играет роль в развитии патологического состояния. Повышенный уровень ИЛ-18 был выявлен у больных детей с более выраженными симптомами воспаления, у которых наблюдалось более тяжелое клиническое течение патологического процесса. По данным литературы под действием ИЛ-18 в макрофагах происходит индукция ферментов циклооксигеназы и NO-синтазы, активация синтеза провоспалительных цитокинов и хемокинов. ИЛ-18 не менее эффективно стимулирует синтез цитокинов Th2 типа, в частности ИЛ-4. Анализ результатов показал, что у детей с ВРВНГ уровень ИЛ-4 был повышен ( $9,01 \pm 0,5$  пкг/мл против  $6,95 \pm 0,43$  пкг/мл в контроле) ( $P < 0,05$ ). Следовательно, ИЛ-18 выступает в роли поликлонального активатора, действующего совместно с другими цитокинами.

При анализе уровня МСР-1 также наблюдалось его повышенное содержание у больных детей ( $566,6 \pm 11,7$  пкг/мл против  $176,4 \pm 9,7$  пкг/мл в контроле) ( $P < 0,01$ ). МСР-1 является важнейшим фактором хемотаксиса моноцитов в очаге воспаления. Источником синтеза МСР-1 служит широкий спектр клеток: фибробласты, моноциты и макрофаги, эндотелиоциты, лейомиоциты, интестинальные эпителиоциты, остеобласты, меланоциты, мезотелиоциты, клетки стромы костного мозга, астроциты и др.

У детей с ВРВНГ уровень ИЛ-6 был значительно повышен по сравнению с данными контрольной группы ( $67,5 \pm 3,1$  пкг/мл против  $19,9 \pm 2,0$  пкг/мл) ( $P < 0,01$ ), при этом уровень

ИЛ-2 был несколько ниже контрольных значений ( $2,51 \pm 0,1$  пкг/мл против  $2,7 \pm 0,1$  пкг/мл в контроле).

Резюмируя представленные данные, следует отметить, что развитие врожденной патологии челюстно-лицевой области представляет собой весьма актуальную проблему уже по причине их широкой распространенности в настоящее время. И отмеченные изменения в состоянии цитокинового статуса у детей с врожденной расщелиной верхней губы и неба можно квалифицировать как вторичное иммунодефицитное состояние, требующее проведения иммуномодулирующих мероприятий.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Аверьянов С. В.* Концепция этиологии, патогенеза и профилактика зубочелюстных аномалий у детского населения, проживающих в зоне экологического неблагополучия: Автореф. дис...док.мед. наук. – Пермь, 2010. – 49 с. [*Averyanov S. V.* The concept of etiology, pathogenesis and prevention of dentition anomalies in the child population living in the zone of ecological trouble: author. dis ... doc honey. sciences. – Perm, 2010. – 49 p.]
2. *Андреева Л. П.* Изучение наследственно-обусловленных аномалий развития на основе регионального мониторинга врожденных пороков развития у новорожденных в саратовской области. – Автореф. дисс... канд. мед. наук – Москват. – 2007. – 24 с. [*Andreeva L. P.* Study of hereditary – conditioned developmental anomalies based on regional monitoring of congenital malformations in newborns in the Saratov region. Author. Diss ... Cand. honey. Sciences - Moskvat. – 2007. – 24p].
3. *Амануллаев Р. А.* Совершенствование медицинской реабилитации детей с врожденной расщелиной верхней губы и неба в Республике Узбекистан. – Автореф. дисс...докт. мед. наук. – Ташкент. – 2005. – 27 с. [*Amanullaev R. A.* Improving the medical rehabilitation of children with congenital cleft lip and nneba in the Republic of Uzbekistan. Author's abstract. Diss ... Doctor of Medicine. – Tashkent. – 2005. – 27p.]
4. *Кетлинский С. А., Симбирцев А. С.* Цитокины // Кн., «Фолиант», СПб, 2008., 550 с. [*Ketlinsky S. A., Simbirsev A. S.* Cytokines // Book., “Foliant”, St. Petersburg, 2008., 550p.]
5. *Мусаходжаева Д. А., Инояттов А. Ш.* Концентрация про- и противовоспалительных цитокинов у детей с врожденными пороками челюстно-лицевой области. // Журнал клинической и теоретической медицины. – Ташкент, 2013. – С. 128–130. [*Musakhodjaeva D. A., Inoyatov A. Sh.* The concentration of pro- and anti-inflammatory cytokines in children with congenital malformations of the maxillofacial region. // Journal of Clinical and Theoretical Medicine. – Tashkent, 2013. – С. 128–130].

## CONTENTS OF IL-18 AND MSR-1 IN CHILDREN WITH CONGENITAL CLEARANCE OF THE UPPER LIP AND SKY

©2019 S. G. Sharopov\*, A. Sh. Inoyatov

\*E-mail: dr.sanjar\_dental@mail.ru

Bukhara Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino, Bukhara, Uzbekistan

Received: 06.03.2019. Accepted: 21.03.2019

A study was conducted to study the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines (IL-2, IL-6, IL-18, MCP-1 and IL-4) in 46 children with cleft lip and palate, who were in the children's republican hospital in Bukhara. All sick children underwent a comprehensive examination by specialists (surgeon, pediatrician, orthopedist, otolaryngologist, neuropsychiatrist) to identify abnormalities of a somatic nature and associated developmental defects. Studies on the level of cytokines showed that the synthesis of pro-inflammatory cytokines – IL-6, IL-18, MCP-1 and anti-inflammatory cytokine IL-10 in children was significantly increased, while the level of IL-2 was slightly lower than the control values. Noted changes in the state of cytokine status can be qualified as a secondary immunodeficiency state, requiring immunomodulatory measures.

*Key words:* congenital cleft of the upper lip and palate, cytokines

#### Authors:

**Sharopov S.G.**, ✉ Ass. Department of Dentistry, Abu Ali ibn Sino State Medical Institute, Bukhara, Bukhara, Uzbekistan.

**E-mail:** dr.sanjar\_dental@mail.ru;

**Inoyatov A. Sh.**, MD, Professor, Rector of the Abu Ali ibn Sino Bukhara State Medical Institute, Bukhara, Uzbekistan.

## АНАЛИЗ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СУПРЕССОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

© 2019 Ю. А. Шевченко<sup>1\*</sup>, М. С. Кузнецова<sup>1</sup>, Ю. А. Лопатникова<sup>1</sup>,  
Д. В. Демина<sup>1</sup>, Ю. А. Сенникова<sup>3</sup>, О. П. Воробьева<sup>1,2</sup>

\*E-mail: shevcen@ngs.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной  
и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный  
университет», Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Новосибирск, Россия

Поступила: 19.02.2019. Принята: 04.03.2019

У пациентов с atopическими аллергическими заболеваниями количество или функциональные особенности Т-регуляторных клеток могут быть недостаточными. Существенный вклад в столь большое разнообразие полученных данных вносит и определение фенотипических характеристик Т-регуляторных клеток. Основные сложности в работе по поиску корреляций между супрессорными популяциями и развитием патогенетических процессов: отсутствие строго определенного набора маркеров для Т-регуляторных клеток, зависимость от стадии заболевания, длительности приема глюкокортикостероидов и других лекарственных препаратов. Не менее важным в изучении участия Т-регуляторных клеток при развитии патологических реакций является не только анализ содержания Т-регуляторных клеток, но и оценка их функциональной активности, по уровню экспрессии мембраносвязанных функциональных молекул и продукции ими растворимых факторов.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, иммунорегуляторные цитокины, Т-регуляторные клетки

DOI: 10.31857/S102872210007003-8

**Адрес:** 630099 г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория молекулярной иммунологии, Шевченко Юлия Александровна.  
**Тел./факс:** +7(383) 222-19-10.

**E-mail:** shevcen@ngs.ru

**Авторы:**

**Шевченко Ю. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Кузнецова М. С.**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Лопатникова Ю. А.**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Демина Д. В.**, к.м.н., заведующая аллергологическим отделением Клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-ис-

следовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

**Сенникова Ю. А.**, к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

**Воробьева О. П.**, к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия; преподаватель кафедры клинической биохимии Института медицины и психологии им. В. Зельмана Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Основная масса научно-исследовательских работ по изучению участия Т-регуляторных популяций в патогенезе заболеваний связана с анализом их относительного содержания, при этом само фенотипирование популяций также

различается у разных авторов. Регуляторные Т-клетки представляют собой Т-клетки, которые подавляют потенциально опасные иммунные ответы. Двумя основными подмножествами Т-регуляторных клеток являются CD25<sup>hi</sup>, Foxp3<sup>+</sup> и IL-10-продуцирующие.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В нашей работе было проведено фенотипирование Т-регуляторных клеток у больных бронхиальной астмой в момент поступления в стационар, после базисной терапии, и через месяц после обострения заболевания. Было обследовано 11 пациентов с бронхиальной астмой: 10 человек со средней степенью тяжести, персистирующим течением, 1 тяжелым персистирующим течением; 9 женщин и 2 мужчин, средний возраст 40,09±3,1, 23 образца от условно-здоровых доноров (4 мужчины и 19 женщин, средний возраст 49,83±3,9).

Анализ проводился после подсчета лейкоцитоза с помощью клинического гемоанализатора. К цельной крови (500 тыс. лейкоцитов, но не более 100 мкл) в цитометрической пробирке добавляли моноклональные антитела к поверхностным маркерам CD45, CD4, CD25, GITR, LAG3, CD39, PD-1, CTLA-4. После мечения поверхностными маркерами проводили фиксацию, пермеабиллизацию и окрашивание клеток моноклональными антителами к внутриклеточным белкам FoxP3, IL-10, IDO, TGFb. Анализ образцов проводили на проточном цитометре BD FACS Verse. Обработка полученных данных выполнена в программе GraphPadPrizm, с использованием теста Kruskal-Wallis с поправкой

на множественные сравнения. Статистически значимыми считаются результаты при  $p < 0.05$ .

При анализе экспрессии фенотипических и функциональных молекул на клетках популяции Foxp3 Т-регуляторных клеток у пациентов с бронхиальной астмой было показано значимое снижение процента клеток экспрессирующих PD-1, а также клеток с одновременной экспрессией IDO<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup>, CD39<sup>+</sup>PD-1<sup>+</sup>, CTLA-4<sup>+</sup>TGFb<sup>+</sup>, CTLA-4<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup>, IL-10<sup>+</sup>TGFb<sup>+</sup>. Подобные изменения говорят о существенном нарушении функционального состояния натуральных Т-регуляторных клеток у пациентов с активным воспалительным процессом. Изучение субпопуляции IL-10 продуцирующих клеток CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> позволило обнаружить еще более выраженные нарушения фенотипического и функционального состояния супрессорных популяций у пациентов с бронхиальной астмой. Показано достоверное снижение количества клеток экспрессирующих IDO<sup>+</sup>GITR<sup>+</sup>, TGF<sup>+</sup>Lag3<sup>+</sup>, TGF<sup>+</sup>CTLA-4<sup>+</sup>, Lag3<sup>+</sup>CTLA-4<sup>+</sup> в группе больных с высокой активностью заболевания по сравнению со здоровыми донорами

Таким образом, проведенный анализ фенотипических и функциональных характеристик позволил получить статистически значимые различия на ограниченной выборке пациентов с бронхиальной астмой. Полученные результаты позволяют обосновать продолжение поисковых научных исследований по набору пациентов, увеличению базы данных для проведения корректного статистического анализа по поиску новых диагностических и прогностических критериев тяжести и течения патогенеза данного заболевания.

## ANALYSIS OF PHENOTYPIC AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF SUPPRESSOR POPULATIONS IN BRONCHIAL ASTHMA

© 2019 J. A. Shevchenko<sup>1\*</sup>, M. S. Kuznetsova<sup>1</sup>, Yu. A. Lopatnikova<sup>1</sup>,  
D. V. Demina<sup>1</sup>, J. A. Sennikova<sup>3</sup>, O. P. Vorobyova<sup>1,2</sup>

\*E-mail: shevcen@ngs.ru

<sup>1</sup>Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia;

<sup>3</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Received: 19.02.2019. Accepted: 04.03.2019

In patients with atopic allergic diseases, the number or functional characteristics of T-regulatory cells may be insufficient. The determination of the phenotypic characteristics of T-regulatory cells also makes a significant contribution to such a large variety of data obtained. The main difficulties in finding correlations between suppressor populations and the development of pathogenetic processes: the absence of a well-defined set of markers for T-regulatory cells, dependence on the stage of the disease, the duration of taking glucocorticosteroids and other drugs. No less important in studying the involvement of T-regulatory cells in the development of pathological reactions is not only the analysis of the content of T-regulatory cells, but also the assessment of their functional activity, the level of expression of membrane-bound functional molecules and the production of soluble factors by them.

*Key words:* bronchial asthma, immunoregulatory cytokines, T-regulatory cells

### Authors:

**Shevchenko J. A.**, ✉ Ph.D., Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** shevcen@ngs.ru;

**Kuznetsova M. S.**, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Lopatnikova Yu. A.**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Demina D. V.**, PhD, Head of Allergology Department, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Sennikova J. A.**, PhD, Associate Professor, Department of Clinical Immunology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;

**Vorobyeva O. P.**, PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia, Lecturer, Department of Clinical Biochemistry, Institute of Medicine and Psychology. V. Zelman Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia.

## ВЛИЯНИЕ IL-7 И IL-15 НА Т-РЕГУЛЯТОРНЫЕ КЛЕТКИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ *IN VITRO*

© 2019 г. Д. В. Шевырев<sup>1\*</sup>, В. А. Козлов<sup>1</sup>, В. О. Омельченко<sup>2</sup>

\*E-mail: dr.daniil25@mail.ru

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной  
и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал  
ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского  
отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 27.03.2019

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния гуморальных факторов гомеостатической пролиферации IL-7 и IL-15 на Т-регуляторные (Treg) клетки условно здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом. Фенотипирование Treg проводилось методом проточной цитометрии с использованием маркеров Foxp3, CD127, CD4 и CD25 до и после культивирования в течение 7 дней в условиях стимуляции IL-7, IL-15, а также anti-CD3<sup>+</sup> IL-2. Выделенные методом иммуномагнитной сепарации Treg окрашивались CFSE для оценки пролиферации. Было обнаружено, что гуморальные факторы ГП способны эффективно поддерживать Treg численно и по фенотипу (CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>). При этом в группе пациентов было выявлено более высокое процентное содержание Treg в условиях стимуляции, что может отражать процесс индукции Treg клеток *de novo* из CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов. Также было обнаружено, что Treg пациентов под влиянием IL-7 и IL-15 имеют значительно более низкую пролиферативную активность, чем Treg доноров. Сниженная пролиферативная активность Treg-лимфоцитов пациентов с РА под действием гомеостатических факторов может вносить существенный вклад в развитие заболевания из-за наиболее медленного, чем у доноров восстановления пула Treg-лимфоцитов при лимфопении. В свою очередь, повышенная в сравнении с донорами индукция CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>-лимфоцитов культурах МНК, выделенных из крови пациентов может играть роль в патогенезе РА, т.к. данные клетки обладают транзитной экспрессией FoxP3 и склонны к дифференцировке в патогенные exFoxP3-Th17 лимфоциты.

**Ключевые слова:** Т-регуляторные клетки, ревматоидный артрит, интерлейкин-7, интерлейкин-15, интерлейкин-2

DOI: 10.31857/S102872210007004-9

Адрес: 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, ФГБНУ Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия, Козлов Владимир Александрович. Тел.: 8 (383) 222-26-74

E-mail: dr.daniil25@mail.ru

Авторы:

**Шевырев Д. В.**, аспирант, лаборатория клинической иммунопатологии, ФГБНУ Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия;

**Козлов В. А.**, д. м. н., профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической иммунопатологии, ФГБНУ Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия;

**Омельченко В. О.**, м. н. с., лаборатория патологии соединительной ткани, Научно-исследовательский институт клини-

ческой и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия.

### ВВЕДЕНИЕ

Гомеостатическая пролиферация (ГП) это нормальный физиологический процесс, индуцируемый лимфопенией, и направленный на численное восполнение пула Т-лимфоцитов. Основными факторами, обеспечивающими ГП, являются: контакт Т-клеточного рецептора (TCR) с аутоантигеном в составе главного комплекса гистосовместимости и взаимодействие с цито-

кинами IL-7 и IL-15, уровень которых повышается при лимфопении [1]. Несмотря на то, что ГП это физиологический процесс, в последние годы ему отводится важная роль в контексте развития аутоиммунных заболеваний. Предполагается, что выраженность и продолжительность лимфопении могут качественно влиять на эффективность ГП и создавать предпосылки для возникновения аутоиммунных патологий. Хорошо известны такие следствия ГП, как: отбор лимфоцитов с высоким сродством их TCR к собственным антигенам, переход наивных Т-клеток в Т-клетки памяти без участия чужеродных антигенов, а также сужение репертуара TCR. Всё это приводит к изменениям в иммунной системе, которые могут увеличивать риск развития различных аутоиммунных патологий.

Ключевыми клетками, обеспечивающими периферическую ауто толерантность, являются Т-регуляторные лимфоциты (Treg). Учитывая, что интерлейкин-2 (IL-2) является первостепенным гуморальным фактором, обеспечивающим гомеостаз Treg, а также тот факт, что при лимфопении происходит снижение концентрации данного цитокина ввиду уменьшения числа клеток-продуцентов IL-2 (CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>) [2], возникает вопрос – способны ли гуморальные факторы – IL-7 и IL-15 эффективно поддерживать и восстанавливать пул Treg в процессе гомеостатической пролиферации? В данном исследовании мы изучили *in vitro* влияние IL-7 и IL-15 на фенотип и пролиферативную активность Treg в группах здоровых доноров и пациентов с ревматоидным артритом (РА).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 15 условно здоровых доноров и 10 пациентов с РА (олиго- и полиартикулярными вариантами, средней и высокой степенью активности). Группы доноров и пациентов были сопоставимы по возрасту (средний возраст доноров 52±11 года, пациентов 56±14 лет). Диагностика РА производилась в соответствии с общепринятыми критериями. Материалом для исследования послужила периферическая кровь. Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли методом центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина, затем производилась иммуномагнитная сепарация Treg-клеток с применением набора фирмы Miltenyi Biotec по фенотипу CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>CD127<sup>dim</sup> (чистота

сортировки составила 93,2±4%). После этого Treg окрашивались витальным красителем CFSE и культивировались *in vitro* в течение 7 дней с МНК в соотношении 1:1 под влиянием IL-7 (25 нг/мл), IL-15 (25 нг/мл), а также при стимуляции anti-CD3-антителами (0,25 мкг/мл) совместно с IL-2 (25 МЕ/мл). Опытным путем были подобраны средние дозы цитокинов, вызывающие пролиферативный ответ CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>- и CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-клеток. В качестве контроля культивирование происходило без стимуляции. Для фенотипирования, оценки экспрессии FoxP3 и изучения пролиферации Treg использовался проточный цитофлуориметр FACS Canto II. Статистический анализ проводился с использованием программы «Statistica 6.0». Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В периферической крови процент CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>Treg у здоровых доноров составил 5,9±1,5% и достоверно не отличался от пациентов с РА – 5,2±1,8%. Согласно полученным результатам, IL-7 и IL-15 были способны поддерживать популяцию Treg по числу и фенотипу (экспрессия FoxP3 и CD25) в культуре на сопоставимом со стимуляцией анти-CD3<sup>+</sup> IL-2 уровне в группе доноров. В то время как в контроле без стимуляции процент CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>-лимфоцитов значительно снижался. Аналогичная тенденция наблюдалась при стимуляции и для пациентов с РА, однако при этом происходило достоверное увеличение процента CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>-лимфоцитов в сравнении с нативными образцами и контролем без стимуляции, что являлось достоверным отличием от доноров. Подобные изменения могли быть связаны с более высокой пролиферацией Treg под влиянием стимуляции в группе пациентов. Однако в следующем эксперименте, где изучался пролиферативный ответ Treg, этот показатель у пациентов оказался значительно ниже, чем у доноров. Под влиянием IL-7 в пролиферацию вступало 11,3±6,3% Treg в группе доноров против 3,2±2% Treg в группе пациентов с РА. В то время как при стимуляции IL-15 пролиферативный ответ Treg в группе доноров составил 7,7±2,9% против 3,6±2,9% в группе пациентов. При этом в обеих группах пролиферативная активность Treg была значимо выше при стимуляции anti-CD3<sup>+</sup> IL-2 и достоверно не отличалась между донорами (22,8±8,6%) и пациентами (18,5±13,4%).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В норме поддержание пула Treg в организме происходит в основном за счет IL-2, что подтверждается развитием тяжелых аутоиммунных расстройств у людей с генетическим дефицитом IL-2 или с различными дефектами его рецептора IL-2R [3]. Учитывая, что основными клетками, вырабатывающими данный цитокин, являются T-эффекторными клетки, и размер периферического пула Treg зависит от числа продуцентов IL-2, то выявленная нами *in vitro* способность IL-7 и IL-15 поддерживать экспрессию FoxP3 и число Treg в группах доноров и пациентов может быть альтернативным механизмом гомеостаза Treg при лимфопении. В целом это согласуется с большинством литературных данных, которые указывают на свойство цитокинов с общей  $\gamma$ -цепью положительно влиять на гомеостаз Treg, в частности за счет активации сигнального пути STAT5 [4].

Наблюдаемое увеличение процента CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>-клеток в культурах МНК полученных от пациентов, скорее всего, связано с повышенной индукцией FoxP3 в CD4<sup>+</sup>-лимфоцитах пациентов. Однако вопрос о том, являются ли такие CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>-лимфоциты полноценными T-регуляторными клетками, или же экспрессия FoxP3 в них носит транзитный характер, остается предметом дальнейших исследований. В то же время наблюдаемое явление может представлять определенный интерес в контексте патогенеза РА в связи с нестабильностью экспрессии гена FoxP3 в индуцированных Treg. Известно, что такие клетки в условиях воспаления склонны к дифференцировке в Th17-лимфоциты, значение которых в патогенезе аутоиммунных заболеваний продемонстрировано во многих исследованиях последнего времени [5].

Пролиферация Treg может происходить как через TCR-зависимые, так и через TCR-независимые механизмы [6]. Так стимуляция Treg антигеном соответствующей специфичности многократно усиливает пролиферацию только специфичного к данному антигену клона Treg. В то время как антигеннезависимая пролиферация, опосредованная гуморальными факторами (IL-7 и IL-15), является поликлональной и необходима для поддержания периферического пула Treg. Таким образом, нами была продемонстрирована антигеннезависимая пролиферация Treg под действием гомеостатических цитокинов

IL-7 и IL-15, схожая с процессом гомеостатической пролиферации T-лимфоцитов. При этом в группе пациентов она протекала в значительно меньшей степени. Что, по-видимому, может создавать предпосылки для более длительного восстановления пула Treg при лимфопении во время гомеостатической пролиферации, и вносить определенный вклад в развитие РА на начальных стадиях.

В проведенном исследовании *in vitro* было изучено влияние гуморальных факторов ГП IL-7 и IL-15 на экспрессию главного транскрипционного фактора T-регуляторных клеток FoxP3, а также была исследована способность этих факторов вызывать пролиферацию Treg, которая оказалась значительно ниже в группе пациентов. Тем не менее, для более полного понимания роли ГП в гомеостазе Treg требуются дополнительные исследования, включающие изучение воздействия IL-7 и IL-15 на супрессорный потенциал T-регуляторных клеток.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Moxham V.F., Karegli J., Phillips R.E., Brown K.L., Tapmeier T.T., Hangartner R., Sacks S.H., Wong W. Homeostatic proliferation of lymphocytes results in augmented memory-like function and accelerated allograft rejection. *J Immunol.* 2008, Mar 15; 180(6):3910–8. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.6.3910>.
2. Duarte J.H., Zelenay S., Bergman M.L., Martins A.C., Demengeot J. Natural Treg cells spontaneously differentiate into pathogenic helper cells in lymphopenic conditions. *Eur. J. Immunol.* 2009, 39:948–955. DOI: 10.1002/eji.200839196.
3. Chinen T., Kannan A.K., Levine A.G., Fan X., Klein U., Zheng Y., Gasteiger G., Feng Y., Fontenot J.D., Rudensky A.Y. An essential role for the IL-2 receptor in Treg cell function. *Nat Immunol.* 2016 Nov; 17(11):1322–1333. DOI: 10.1038/ni.3540.
4. Vang K.B., Yang J., Mahmud S.A., Burchill M.A., Vegoe A.L., Farrar M.A. Interleukin-2, -7 and -15, but not TSLP, Redundantly Govern CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Regulatory T Cell Development. *J Immunol.* 2008 Sep 1; 181(5): 3285–3290.
5. Komatsu N., Okamoto K., Sawa S., Nakashima T., Oh-hora M., Kodama T., Tanaka S., Bluestone J.A., Takayanagi H. Pathogenic conversion of Foxp3<sup>+</sup> T-cells into TH17 cells in autoimmune arthritis. *Nat. Med.* 2014, 20:62–70. DOI: 10.1038/nm.3432.
6. Zou T., Caton A.J. Dendritic Cells Induce Regulatory T Cell Proliferation through Antigen-Dependent and Independent Interactions. *The Journal of Immunology.* 2010, 185: 2790–2799. DOI: 10.4049/jimmunol.0903740.

## THE INFLUENCE OF IL-7 AND IL-15 ON T-REGULATORY CELLS OF DONORS AND PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS *IN VITRO*

© 2019 D. V. Shevyrev<sup>1\*</sup>, V. A. Kozlov<sup>1</sup>, V. O. Omelchenko<sup>2</sup>

\*E-mail: dr.daniil25@mail.ru

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup>Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – a branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 27.03.2019

The aim of this study was to assess the influence of homeostatic factors IL-7 and IL-15, that induced homeostatic proliferation (HP), on the phenotypic characteristics of T-regulatory cells (Treg) from healthy donors and patients with rheumatoid arthritis (RA) *in vitro*. Analysis of Treg phenotype was performed by flow cytometry, using Foxp3, CD127, CD4 and CD25. Isolated from the blood cells were cultured with and without stimulation during 7 days. IL-7, IL-15 and anti-CD3 antibodies supplemented IL-2 were chosen as activators. Purified Treg cells were labeled with CFSE dye to assess proliferation. We estimated that HP factors effectively maintain the number and phenotype (CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>) of Treg *in vitro*. Also, in patients group we showed an increasing of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> cells under all stimulation condition that may indicate the induction of Treg from conventional T cells. Herewith under IL-7 and IL-15 Treg cells from RA patients had a low proliferative activity than Treg from donors. The reduced proliferative activity of Treg in the group of RA-patients under IL-7 and IL-15 perhaps make a significant contribution to the development of the disease due to the delay of Treg pool reconstitution in the lymphopenia conditions on the initial stage. Furthermore, increased induction of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> cells in PBMC cultures in patients group associated with pathogenesis of RA, since induced Treg have transient and unstable expression of FoxP3.

*Key words:* T-regulatory cells, rheumatoid arthritis, interleukin-7, interleukin-15, interleukin-2

### Authors:

**Shevyrev D. V.**, ✉ PhD student, laboratory of clinical immunopathology, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** dr.daniil25@mail.ru;

**Kozlov V. A.**, Full Member of the Russian Academy of Sciences, doctor of medical sciences, professor, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

**Omelchenko V. O.**, junior researcher, laboratory of connective tissue pathology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – a branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

## АУТОИММУННЫЕ КОМОРБИДНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ – ВОЗМОЖНОСТИ РАЦИОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

© 2019 г. В. С. Ширинский

*E-mail: valery.shirinsky@gmail.com*

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной  
и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия*

**Поступила:** 15.03.2019. **Принята:** 02.04.2019

В обзоре материалов собственных исследований обсуждаются проблемы терапии коморбидных заболеваний на примере ревматоидного артрита (РА), остеоартрита (ОА), характеризующихся высоким риском атеросклероза. Обосновывается использование препаратов, направленных на центральные межмолекулярные узлы, регулирующие процессы воспаления, липидного обмена, иммунные реакции и фитопрепаратов с разными терапевтическими мишенями. Приводятся результаты клинических испытаний эффективности, безопасности, фармакодинамики этих препаратов у больных РА и ОА с высоким риском развития атеросклероза. Использование фенофибрата и симвастатина у больных РА показало их клиническую эффективность и безопасность. Эффект от лечения ассоциировался с противовоспалительным, антиатерогенным действием. Прием фенофибрата больными эрозивным ОА оказывал болеутоляющее действие, вызывал уменьшение показателей воспаления, липидкорректирующие и иммуномодулирующие эффекты. Клинический эффект и плеiotропные свойства фенофибрата выявлены при другом фенотипе ОА – диабет-ассоциированным ОА. Результаты клинических испытаний сабельника болотного и куркумы у больных ОА с метаболическим синдромом (МС), свидетельствуют об их эффективности, безопасности и многоцелевом действии. Использование препаратов, направленных на межмолекулярные узлы – мишени и фитопрепаратов с плеiotропным действием является перспективными, патогенетически обоснованными методами фармакотерапии аутоиммунных артропатий с высоким риском коморбидности.

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит, остеоартрит, коморбидность, атеросклероз, симвастатин, фенофибрат, сабельник, куркума

**DOI:** 10.31857/S102872210007005-0

**Адрес:** 630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клинической иммунофармакологии. Ширинский Валерий Степанович. Тел. +7(383)2282547.

**E-mail:** ivan.shirinsky@gmail.com

**Автор:**

**Ширинский В. С.**, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клинической иммунофармакологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

Основной причиной смертности больных аутоиммунными заболеваниями (АИЗ) является раннее формирование и быстрое прогрессирование коморбидной патологии – атеросклеротического поражения сосудов. Поиск методов профилактики и лечения кардиоваскулярных осложнений является не менее актуальной про-

блемой, чем разработка новых методов фармакотерапии основных болезней.

При хроническом воспалении изменения в иммунной системе сопряжены с изменениями липидного обмена, обусловленные активностью ГМГ Ко А – редуктазы и активностью ядерных рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератором (PPAR). Результатом вмешательства на такие узловы элементы является плеiotропное действие, приводящее к клиническому эффекту основного и сопутствующих заболеваний. Помимо селективных препаратов с многоцелевым действием, плеiotропные эффекты оказывают фитопрепараты с разными терапевтическими мишенями [1].

**Цель исследования.** Оценка эффективности, безопасности и фармакодинамики применения препаратов с многоцелевым действием у боль-

ных РА и ОА с высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В клинических испытаниях приняли участие больные с РА и ОА. Первичной конечной точкой у больных РА было изменение индекса активности болезни с 28-суставным счетом (DAS28). У больных ОА первичной конечной точкой был уровень боли по визуально-аналоговой шкале (ВАШ). Вторичные конечные точки – оценка функционального статуса суставов по шкалам KOOS, WOMAC и др. Содержание IL-6, IL-18, IL-10 и других биомаркеров в сыворотке ПК определяли методом ИФА.

Статистический анализ. Описательная статистика представлена средней арифметической и ее ошибкой. Различия между средними величинами оценивалось с помощью парного t-критерия.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У 66 пациентов с РА сравнивалась клиническая эффективность применения симvastатина и фенофибрата в течение 12 недель. Оба препарата снижали показатели DAS28 к концу лечения, умеренный EULAR-ответ и ACR20-ответ при приеме фенофибрата выявлялись в полтора раза чаще, чем при приеме симvastатина. Оба препарата снижали уровень иммунологических маркеров атеросклероза – СРБ и IL-6. Симvastатин снижал уровень сывороточного IL-17, содержание холестерина липопротеидов низкой плотности и увеличивал содержание холестерина липопротеидов высокой плотности. У больных, получавших фенофибрат, снижался уровень триглицеридов [2]. Терапия фенофибратом больных эрозивным остеоартритом (ЭОА), приводила к уменьшению уровня боли и активности болезни, снижению содержания СРБ и СОЭ. Клинический ответ, по критериям OMERACT-OARSI, выявлен у 57,14% пациентов и был сопряжен с уменьшением содержания в сыворотке крови общего холестерина и триглицеридов, IL-10 [3]. Фенофибрат использован в лечении диабет-ассоциированного остеоартрита (ДАОА). В рандомизированных, прекрестных, клинических испытаниях участвовала 21 женщина с ДАОА. Фенофибрат не уступал хондроитин сульфату по влиянию на уровень боли и функцию суставов, нормализовал липидный профиль, уменьшал СОЭ [4].

Изучена эффективность и безопасность применения сабельника болотного (СБ) у больных с ДАОА. СБ хорошо переносился, оказывал анальгетический эффект, уменьшал выраженность постоянной боли, улучшал функцию суставов и общее состояние здоровья, обладал липидкорректирующим, противовоспалительным, антиатерогенным действием. 11 больных ОА с метаболическим синдромом получали куркуму в суточной дозе 120 мг в течение 12 недель. Препарат снижал уровень боли, показатели качества жизни, уменьшал концентрации в сыворотке ПК гистамина, неоптерина и повышал адипонектина.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований свидетельствуют о том, что у больных различными воспалительными артропатиями с высоким риском развития атеросклероза терапия, направленная на модуляцию функции центральных узлов межмолекулярных взаимодействий эффективна и безопасна. Препаратами выбора являются фитопрепараты, компоненты которой взаимодействуя с разными мишенями, обуславливают плеiotропный клинический эффект основного и коморбидных заболеваний.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ширинский В. С., Ширинский И. В. Узловая терапия – новая возможность лечения коморбидных заболеваний // Сибирский медицинский журнал, 2014. Т. 29, № 4. С. 13–21. [Shirinsky I. V., Shirinsky V. S. Hub therapy as a new opportunity for treatment of comorbid diseases. // Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = The Siberian Medical Journal, 2014, Vol. 29, no. 4, pp. 13–21. (In Russ.)] 23.
2. Ширинский И. В., Калиновская Н. Ю., Ширинский В. С. Плеiotропное действие симvastатина и фенофибрата у больных ревматоидным артритом: сравнительное исследование. Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 1. С. 121–128. doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-121-128 [Shirinsky I. V., Kalinovskaya N. Yu., Shirinsky V. S. Pleiotropic effects of simvastatin and fenofibrate in patients with rheumatoid arthritis: a comparative study, Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 1, pp. 121–128. doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-121-128].
3. Shirinsky I. V., Shirinsky V. S. Treatment of erosive osteoarthritis with peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist fenofibrate: a pilot study. Rheumatol. Int., 2014, Vol. 34, no. 5, pp. 613–616
4. Ширинский В. С., Казыгашева Е. В., Калиновская Н. Ю., Ширинский И. В. Клиническая эффек-

тивность и безопасность применения агониста PPAR $\alpha$  фенофибрата у больных с диабет-ассоциированным остеоартритом: перекрестное пилотное исследование. Медицинская иммунология. 2017;19(2):165–174. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-2-165-174>. [Shirinsky V.S., Kazygash-

va E.V., Kalynovskaya N.Yu., Shirinsky I.V. Clinical efficiency and safety of Fenofibrate, a PPAR $\alpha$  agonist, in the patients with diabetes-associated osteoarthritis: a cross-over pilot study, Medical Immunology (Russia) / Meditsinskaya Immunologiya, 2017, Vol. 19, no. 2, pp. 165–174. doi: 10.15789/1563-0625-2017-2-165-174].

## AUTOIMMUNE COMORBID DISORDERS – THE OPPORTUNITIES OF RATIONAL TREATMENT

© 2019 V. S. Shirinsky

*E-mail: valery.shirinsky@gmail.com*

*Federal State Budgetary Scientific Institution, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia*

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 02.04.2019

In this review of our own data we discuss the problems of the treatment of comorbid conditions using osteoarthritis (OA) and rheumatoid arthritis as examples. We provide a rationale for the use of drugs targeting central molecular nodules which regulate inflammation, immune reactions, lipid homeostasis, and herbal medicines directed on various targets. The results of clinical studies evaluating efficacy, safety and pharmacodynamics of these drugs are presented. The use of fenofibrate and simvastatin in rheumatoid arthritis was effective and well tolerated and was associated with anti-inflammatory and anti-atherogenic effects. The use of fenofibrate in patients with erosive OA was associated with the reduction of pain, decreased markers of inflammation and had lipid modulating and immune modulating effects. Clinical efficacy and pleiotropic effects of fenofibrate were also observed in other OA phenotype – diabetes-associated OA. The results of clinical trials evaluating herbs *Comarum Palustrae* and *Curcuma longa* in OA with metabolic syndrome showed their efficacy, safety and pleiotropic effects. The use of drugs targeting molecular hubs and herbal treatments are promising and pathogenetically based approaches to the treatment of autoimmune arthropathies with high risk of comorbidity.

*Key words:* rheumatoid arthritis, osteoarthritis, comorbidity, atherosclerosis, simvastatin, fenofibrate, *comarum palustrae*, *curcuma*

### Author:

**Shirinsky V. S.**, professor, MD, PhD, main scientist, laboratory of clinical immunopharmacology, Federal State Budgetary Scientific Institution, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.

## ЭВОЛЮЦИЯ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ АИЗ В ЭПОХУ МИКРОБИОМА

© 2019 г. И. В. Ширинский

*E-mail: valery.shirinsky@gmail.com*

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной  
и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия*

**Поступила:** 15.03.2019. **Принята:** 27.03.2019

Основой современной терапии органонеспецифических аутоиммунных заболеваний (АИЗ) является использование препаратов, уменьшающих воспаление и подавляющих иммунный ответ. Эта стратегия лечения АИЗ приводит к уменьшению активности болезни на достаточно непродолжительное время и не улучшает долгосрочный прогноз. Так, анализ данных нескольких крупных когорт больных ревматоидным артритом показал, что активное использование синтетических и биологических болезнь-модифицирующих препаратов за последние 20 лет не повлияло на развитие инвалидности и не уменьшило общую смертность. Открытие и описание микробиома различных органов и тканей человека позволяет по-новому взглянуть на природу «аутоиммунных» заболеваний и предположить, что в их развитии ведущую роль играют дисбиоз и хроническая инфекция ранее малоизученными или неидентифицированными микроорганизмами. Заключается, что для разработки эффективных подходов к терапии АИЗ необходим пересмотр общих представлений об их патогенезе, учитывающих новые знания о микробиоме человека.

**Ключевые слова:** аутоиммунитет, аутоиммунные заболевания, ревматоидный артрит, микробиом

**DOI:** 10.31857/S102872210007006-1

**Адрес:** 630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клинической иммунофармакологии. Ширинский Иван Валерьевич. Тел. +7(383)2282547.

**E-mail:** ivan.shirinsky@gmail.com

**Авторы:**

**Ширинский И. В.**, д.м.н., заведующий лабораторией клинической иммунофармакологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

Теория аутоиммунитета, которая сформировалась и была принята мировым научным сообществом в 1970-е годы, являлась попыткой объяснить патогенез ряда хронических неинфекционных заболеваний. В основе теории аутоиммунитета лежит представление об утрате толерантности и формировании клеточного и гуморального иммунного ответа к собственным антигенам. Исходя из этой теории, главным подходом к лечению аутоиммунных заболеваний (АИЗ) стало использование противовоспалительных препаратов и иммуносупрессантов. Так, «золотым стандартом» лечения наиболее

распространенного органонеспецифического АИЗ, ревматоидного артрита (РА), с 1990-х годов является метотрексат, обладающий противовоспалительным действием. С начала 2000-х годов в практику вошли т.н. биологические противоревматические препараты, которые уменьшают воспаление, селективно ингибируя действие провоспалительных цитокинов, главным образом, TNF $\alpha$  и IL-6. Произошла смена взглядов на тактику лечения РА — рекомендовано как можно более раннее начало лечения, агрессивная терапия, направленная на достижение минимальной активности болезни. Широкое внедрение в практику биологических препаратов привело к тому, что в 2018 году ингибиторы TNF $\alpha$  и IL-6 вошли в двадцатку наиболее продаваемых лекарств. Несмотря на это, лонгитудинальный анализ нескольких когорт больных РА, наблюдаемых в течение последних двадцати лет, привел к неожиданным и парадоксальным результатам: 1. В 21 веке активность болезни стала меньше; 2. Частота инвалидности, вызванной РА, значительно возросла [1]; 3. Смертность,

обусловленная РА, не изменилась. Таким образом, современную, основанную на теории аутоиммунитета, терапию органонеспецифических АИЗ, в том числе РА, нельзя считать удовлетворительной. Каковы возможные причины этого? Следует отметить, что теория аутоиммунитета развилась в то время, когда человеческий организм считался относительно стерильным. Следовательно, эта теория не учитывает одно из наиболее значимых научных достижений последних 10 лет – открытие микробиома человека. В настоящее время человеческий организм рассматривается как экосистема, включающая в себя большое количество разнообразных бактерий, вирусов, грибов, бактериофагов и других микроорганизмов, обитающих во всех тканях организма, в том числе крови [2]. Число генов микробиома человека составляет десятки миллионов, что значительно больше числа генов человека (20 500). Это позволяет определить *H. Sapiens* как «суперорганизм», в котором происходит постоянное взаимодействие генов человеческого и микробного геномов.

Большинство бактерий и вирусов человеческой микробиоты являются патобионтами, т.е. при определенных условиях они способны становиться патогенами. В последние годы нарушения микробиома различных органов и тканей выявляются при все большем количестве АИЗ. Так, например, в синовиальной ткани больных РА, по сравнению с больным остеоартритом, выявлено преобладание нуклеиновых кислот бактерий *Agrobacterium*, *Comamonas*, *Kocuria*, *Meiothermus* и *Rhodoplanes*. При этом синовиальная ткань была стерильной при использовании традиционных культуральных методов [3]. Эти данные указывают на то, что «ауреактивные» клоны Т-клеток и «аутоантитела» могут быть нормальными клонами Т-клеток и антителами, направленными на микробные антигены. Можно предположить, что «аутоантитела», выявляемые при хронических «неинфекционных» заболеваниях, вырабатываются в ответ на персистенцию патогенов и/или патобионтов. Так, в недавно опубликованном исследовании у мышей, предрасположенных к АИЗ, в мезентериальных венах, лимфоузлах, печени и селезенке был обнаружен патобионт *E.gallinarium*. Наличие *E.gallinarium* сопровождалось формированием «аутоантител», активированных Т-клеток и развитию воспаления. Терапия ванкомицином приводила к уменьшению роста *E.gallinarium*, снижению выраженности воспаления и уменьшению титров антител

к двухцепочечной ДНК и  $\beta$ 2-гликопротеину [2]. Повреждение тканей антителами, направленными на микробные антигены, может быть обусловлено молекулярной мимикрией, которая является достаточно распространенным явлением. Таким образом, в последние годы стало очевидно, что теория аутоиммунитета недостаточно хорошо объясняет патогенез хронических воспалительных заболеваний. Более адекватным объяснением является формирование персистирующего иммунного ответа к антигенам измененной микробиоты и развитие «коллатерального повреждения» тканей. Основанные на теории аутоиммунитета методы иммуносупрессивной терапии временно уменьшают воспаление, что в дальнейшем приводит к усилению пролиферации патобионтов и усугублению дисбиоза. Это объясняет высокую частоту неэффективности и инфекционных осложнений при использовании иммуносупрессантов и противовоспалительных препаратов. Как предложенная модель хронических воспалительных заболеваний может повлиять на их лечение? Обсуждается несколько возможных новых подходов к терапии:

- использование антибактериальных и противовирусных средств;
- неспецифическая иммуностимулирующая терапия, направленная на эрадикацию персистирующих патогенов;
- модификация факторов внешней среды (питание, уровень физической нагрузки, стресса и т.д.), приводящих к развитию дисбиоза;
- использование модуляторов микробиома растительного происхождения, использование «функциональной еды».

Таким образом, открытие и изучение микробиома человека, его роли в развитии патологии, определяют необходимость радикального пересмотра концепции АИЗ и изменения подходов к их лечению. Это должно быть сделано как можно скорее, учитывая рост распространенности хронических воспалительных («аутоиммунных») заболеваний во всем мире, и их большое влияние на общество.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Myasoedova E., Davis J. M., Achenbach S. J., Matteson E. L., Crowson C. S. Rising Prevalence of Functional Disability in Patients with Rheumatoid Arthritis over 20 Years. *Ann Rheum Dis.* 2018;77:54
2. Proal A. D., Marshall T. G. Re-framing the theory of autoimmunity in the era of the microbiome: persistent pathogens, autoantibodies, and molecular mimicry. *Discov Med.* 2018;25(140):299–308.

3. Paise S., Valle C., Servant F., Courtney M., Burcelin R., Amar J., Lelouvier B. Comprehensive description of blood microbiome from healthy donors assessed by 16S targeted metagenomic sequencing. *Transfusion* (Paris). 2016; 56(5): 1138–47

## THE EVOLUTION OF VIEWS ON THE PATHOGENESIS OF AUTOIMMUNE DISEASES IN THE ERA OF MICROBIOME

© 2019 I. V. Shirinsky

*E-mail: ivan.shirinsky@gmail.com*

*Federal State Budgetary Scientific Institution, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia*

**Received:** 15.03.2019. **Accepted:** 27.03.2019

The modern treatment of autoimmune diseases (AIDs) is based on the use of drugs reducing inflammation and inhibiting the immune responses. This strategy leads to the short-term reduction of disease activity but does not change long-term outcomes. Thus, analyses of several large cohorts of patients with rheumatoid arthritis (RA) showed that active use of synthetic and biological disease modifying anti-rheumatic drugs in the last 20 years did not reduce RA-related disability and all-cause mortality. The discovery of human microbiome allows to reevaluate the nature of autoimmune diseases and suggests that dysbiosis and chronic infection with previously poorly-known/unknown microorganisms are major factor for AIDs development and persistence. In conclusion, in order to develop effective treatment of AIDs we need to rethink our general views on the AIDs pathogenesis in the light of new data of human microbiome.

*Key words:* autoimmunity, autoimmune diseases, rheumatoid arthritis, microbiome

### **Author:**

**Shirinsky I.V.**, head of the laboratory of clinical immunopharmacology, Federal State Budgetary Scientific Institution, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.

## ПЛЕЙОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ МОДУЛЯТОРОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК НА СИНОВИАЛЬНЫЕ ФИБРОБЛАСТЫ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ *IN VITRO*

© 2019 г. М. А. Шнайдер\*, Н. Ю. Калиновская

\*E-mail: minerva1986@mail.ru

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной  
и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

Поступила: 13.03.2019. Принята: 25.03.2019

Для изучения плеiotропного влияния модуляторов метилирования ДНК использовались культуры фибробластоподобных синовиальных клеток (ФСК), полученных из синовиальной ткани 9 больных активным ревматоидным артритом (РА) при эндопротезировании. Показано, что внесение в культуры ФСК гидралазина статистически значимо уменьшало показатели метилирования в среднем в 2 раза, тогда как добавление донаторов метильной группы – S-аденозилметионина (SAMe) и генистеина, статистически значимо увеличивали уровень 5-метилцитозина в ФСК на 35%. Выявлена спонтанная продукция IL-6, IL-17, IL-18, IL-10, остеопротегерина (ОПГ) в культурах ФСК, добавление ИЛ-1 $\beta$  значительно усиливало синтез цитокинов. Уровень всех изученных провоспалительных цитокинов снижался только при добавлении в культуры донатора метильных групп SAMe в определенных дозах. Деметилатор гидралазин не менял синтез цитокинов, а генистеин в некоторых дозах снижал продукцию IL-6 и IL-17. Продукция IL-10 не меняется под действием модуляторов метилирования ДНК. Внесение в культуры SAMe и генистеина приводило к статистически значимому снижению продукции ОПГ, а добавление гидралазина не меняло синтез цитокина. Все три используемых модулятора метилирования ДНК статистически значимо снижали процент мигрировавших и инвазивных ФСК в камере Бойдена. Заключается, что синтез провоспалительных и противовоспалительных цитокинов ФСК, их миграция и инвазия обусловлена не только процессами метилирования ДНК, но и опосредована другими эпигенетическими механизмами. Модель культуры ФСК может быть использована для доклинической оценки новых модуляторов метилирования ДНК.

**Ключевые слова:** синовиальные фибробласты, ревматоидный артрит, метилирование ДНК, генистеин, гидралазин, S-аденозилметионин

DOI: 10.31857/S102872210007007-2

Адрес: 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория клинической иммунофармакологии. Шнайдер Мария Александровна. Тел.: 89231075100 (моб.).

E-mail: minerva1986@mail.ru

**Авторы:**

**Шнайдер М. А.**, аспирант лаборатории клинической иммунофармакологии НИИФКИ, Новосибирск, Россия.

**Калиновская Н. Ю.**, к.м.н., лаборант лаборатории клинической иммунофармакологии НИИФКИ, Новосибирск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Фибробластоподобные синовиальные клетки (ФСК) являются доминирующей популяцией

клеток в гиперплазированном ревматоидном синовии и в месте инвазии синовиальной оболочки (СО) в хрящевую и костную ткань. ФСК представляют собой уникальный тип клеток, который отличает ревматоидный артрит (РА) от других воспалительных заболеваний суставов и здоровых людей [1]: автономностью функционирования, способностью к инвазивному росту, сохраняющейся после ряда пассажей в культуре, способностью к миграции в другие суставы, лежащей в основе полиартикулярного поражения при РА. Предполагается, что деструктивный фенотип ФСК при РА обусловлен эпигенетическими изменениями, в частности, тотальным гипометилированием ДНК [2]. К числу веществ,

усиливающих метилирование ДНК, относится S-аденозилметионин (SAMe). Фитоэстроген сои — генистеин, оказывает аналогичное действие на некоторых клеточных линиях, а к числу деметилирующих препаратов относят гидралазин.

**Цель работы.** Изучить влияние веществ, модулирующих метилирование ДНК, на функцию фибробластоподобных синовиальных клеток больных РА в культуре *in vitro*.

## МЕТОДЫ

ФСК были выделены из синовиальной оболочки, полученной в ходе операций эндопротезирования коленного, тазобедренного суставов от 9 больных активным РА и культивированы *in vitro*. Уровень метилирования ДНК в ФСК измеряли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител к 5-метилцитозину. Для стимуляции синтеза цитокинов ФСК стимулировали IL-1 $\beta$  10 нг/мл, а затем к культурам добавляли один из модуляторов метилирования ДНК: SAMe (25, 50, 100 мкг/мл), генистеин (5, 10, 20 мкг/мл) или гидралазин (5, 10, 20 мкмоль/мл). Уровень IL-6, IL-18, IL-17 и IL-10 в супернатантах ФСК оценивали с помощью наборов Вектор-Бест. Содержание остеопротегерина (ОПГ) в супернатантах клеточных культур определяли с помощью набора Osteoprotegerin Human ELISA Kit. Исследования по инвазии и миграции ФСК проводились при помощи модифицированных камер Бойдена. Описательная статистика представлена средней и стандартной ошибкой средней. Для выявления различий между сравниваемыми подгруппами использовали критерий Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Внесение в культуры ФСК деметилирующего соединения гидралазина статистически значимо уменьшало показатели метилирования в среднем в 2 раза, тогда как добавление донаторов метильной группы — SAMe и генистеина, напротив, увеличивало содержание 5-метилцитозина в ФСК на 35%. Добавление в культуры ФСК — IL-1 $\beta$  приводило к значительному увеличению продукции клетками IL-6. Установлено, что внесение в культуры ФСК гидралазина в разных концентрациях не изменяло уровень продукции IL-6. Добавление SAMe и генистеина в определенных концентрациях статистически значимо снижало синтез цитокина. Генистеин и гидралазин не изменял уровень IL-18 в супернатантах культур ФСК. Отмечена тенденция

снижения продукции цитокина при добавлении в культуры донатора метильных групп SAMe в максимальной концентрации. Продукция IL-17 снижалась при внесении в культуры ФСК используемых модуляторов преимущественно в малых дозах. Внесение в культуры модуляторов метилирования ДНК не меняло уровень продукции IL-10, за исключением статистически значимого снижения синтеза цитокина в ответ на средние дозы генистеина. Внесение в культуры ФСК IL-1 $\beta$  увеличивает продукцию ОПГ более чем в 1,5 раза. Добавление в культуры SAMe в дозах 25 и 100 мкг/мл статистически значимо снижало синтез ОПГ. Сходным эффектом обладал генистеин в дозах 5 и 20 мкг/мл. Добавление к клеткам различных доз деметилирующего агента гидралазина не изменяло уровень ОПГ в супернатантах культур ФСК. Показано, что SAMe, гидралазин, генистеин статистически значимо уменьшали показатель инвазии, в среднем на 55%, а показатель миграции на 15%. Дозозависимого эффекта не установлено.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты свидетельствуют о том, что используемая модель культуры ФСК от больных РА является чувствительным методом оценки действия метилирующих и деметилирующих соединений поскольку модуляторов метилирования ДНК: SAMe, гидралазин, генистеин, с известными свойствами, прогнозируемо изменяют уровень метилирования ДНК. В этой модели синтез всех изученных провоспалительных цитокинов снижался только при добавлении в культуры донатора метильных групп SAMe в определенных дозах. Деметилятор гидралазин практически не менял синтез цитокинов, а генистеин в некоторых дозах снижал продукцию IL-6 и IL-17. Модуляторы метилирования ДНК не влияли на продукцию клетками ФСК противовоспалительного цитокина IL-10, за исключением генистеина, внесение которого в средней дозировке снижало продукцию цитокина. Внесение в культуры метилирующих соединений — SAMe и генистеина приводило к статистически значимому снижению продукции ОПГ, а добавление гидралазина не меняло синтез цитокина. SAMe, гидралазин и генистеин уменьшали миграционную и инвазивную способность ФСК больных РА. Можно предположить, что уровень синтеза про- и противовоспалительных цитокинов, а также миграционная и инвазивная способность ФСК больных РА *in vitro* определяется

не только процессами метилирования и деметилирования ДНК, но и опосредована другими эпигенетическими механизмами.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Шнайдер М. А., Ширинский В. С., Ширинский И. В. Культура фибробластоподобных синовиальных клеток больных ревматоидным артритом: свойства и возможности // Медицинская иммунология. — 2016. — Т. 18, № 2. — С. 107–118. [Schneider M. A., Shirinsky V. S., Shirinsky I. V. Cultures of fibroblast-like synovial cells from patients with rheumatoid arthritis: properties and opportunities. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology*, 2016, Vol. 18, no. 2, pp. 107–118. (In Russ.)]
2. Karouzakis E., Gay R. E., Michel B. A., Gay S., Neidhart M. DNA hypomethylation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2009; 60(12): 3613–22.

## PLEIOTROPIC EFFECTS OF DNA METHYLATION MODULATORS ON RHEUMATOID ARTHRITIS SYNOVIAL FIBROBLASTS *IN VITRO*

© 2019 M. A. Snyder\*, N. Y. Kalinovskaya

\*E-mail: minerva1986@mail.ru

Federal State Budgetary Scientific Institution Research «Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia

Received: 13.03.2019. Accepted: 25.03.2019

To evaluate pleiotropic effects of DNA methylation modulators, we used cultures of fibroblast-like synoviocytes (FLS) obtained during total arthroplasty from nine rheumatoid arthritis (RA) patients. It was shown that addition of hydralazine to cultures lead to significant two-fold decrease in of global DNA methylation, whereas addition of donors of methyl group S-adenosyl L-methionine (SAME) and genistein resulted in reduction of 5-methylcytosine in FLS by 35%. There was a spontaneous production of IL-6, IL-17, IL-18, IL-10, and osteoprotegerin (OPG) by FLS, the stimulation with IL1 $\beta$  lead to significant increase of these cytokines synthesis. The production of pro-inflammatory cytokines was reduced only after addition of SAME to cultures in some doses. Demethylating agent hydralazine had no effect on cytokine synthesis, while genistein decreased production of IL-6 and IL-17 in some concentrations. The production of IL-10 was not changed by the modulators of DNA methylation. Addition of SAME and genistein to cultures lead to significant reduction of OPG production while hydralazine did not have any effect on OPG synthesis. All three DNA methylation modulators significantly reduced migration and invasion of FLS in Boyden chambers. In conclusion, cytokine synthesis, migration and invasion of FLS are modulated not only by DNA methylation, but probably via other epigenetic mechanisms. The model of FLS cultures can be used for preclinical assessment of DNA methylation inhibitors.

*Key words:* synovial fibroblasts, rheumatoid arthritis, DNA methylation, genistein, hydralazine, S-adenosyl L-methionine

#### Authors:

**Snyder M. A.**, ✉ PhD student, Laboratory of Clinical Immunopharmacology, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** minerva1986@mail.ru;

**Kalinovskaya N. Y.**, researcher, Laboratory of Clinical Immunopharmacology, Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia.

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВНУТРИВЕННЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В КАЧЕСТВЕ АДЬЮВАНТНОЙ ТЕРАПИИ ХИРУРГИЧЕСКОГО СЕПСИСА

© 2019 г. В. Б. Шуматов, В. А. Лазанович, В. Е. Красников

\*E-mail: immuno2003@mail.ru

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

Поступила: 27.02.2019. Принята: 12.03.2019

Наблюдали 46 пациентов с сепсисом, которые были разделены на 2 группы. I группа (25 пациентов) получала традиционное лечение, II группа (21 пациент) помимо традиционной терапии получала обогащенные ВВИГ (IgM+IgA). Сравнительная оценка сочетанной с внутривенными иммуноглобулинами и традиционной терапией свидетельствовала о клинической эффективности терапии с включением ВВИГ, заключающейся в снижении выраженности системного воспаления, тяжести течения заболевания и летальности у пациентов с хирургическим сепсисом.

**Ключевые слова:** интенсивная терапия, внутривенные иммуноглобулины, сепсис

DOI: 10.31857/S102872210007008-3

Адрес: 690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, д. 2, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, кафедра нормальной и патологической физиологии, Лазанович Владимир Анатольевич. Тел. +79147034509 (моб.); E-mail: immuno2003@mail.ru.

**Авторы:**

**Шуматов В. Б.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Владивосток, Россия;

**Лазанович В. А.**, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Владивосток, Россия;

**Красников В. Е.**, к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Владивосток, Россия.

Несмотря на успехи в понимании патогенеза, современных возможностей ранней диагностики, сепсис остается основной причиной госпитализации в отделения интенсивной терапии во всем мире. Эти обстоятельства побуждают исследователей к поиску новых и переосмыслению старых стратегий в лечении сепсиса. Внутривенные иммуноглобулины (ВВИГ) впервые были предложены в качестве адьювантной терапии для лечения сепсиса в 1980 году. С этого

времени не утихают споры об их эффективности, в результате чего за это время было проведено более 40 крупных исследований и метаанализов, которые дали весьма противоречивые данные и не смогли однозначно продемонстрировать пользу ВВИГ при сепсисе. С другой стороны, исследования, проведенные в последнее время, свидетельствуют об их эффективности при данной патологии [1]. При сепсисе используются стандартные иммуноглобулины, содержащие, в основном, донорские IgG и обогащенные, в которых помимо антител класса IgG, есть IgM, IgA, против вирусных и бактериальных патогенов. Считают, что именно последние обладают большей клинической эффективностью, которые лежат в основе обоснования их применения при сепсисе. Сепсис относят к состоянию с чрезвычайно сложным патогенезом, поэтому эффективное терапевтическое воздействие может быть достигнуто с помощью лекарственных средств, обладающих многокомпонентным механизмом действия. К таким препаратам в полной мере можно отнести ВВИГ [2]. Тем не менее, эффективность данных препаратов при сепсисе продолжает подвергаться сомнению и мнения экспертов относительно целесообразности это-

го вида адьювантной терапии при сепсисе разделились.

**Цель исследования.** Оценить ВВИГ в качестве адьювантной терапии у пациентов с хирургическим сепсисом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проанализированы результаты проспективного исследования, проведенного на базе краевого ГБУЗ Приморской краевой клинической больницы № 1, г. Владивостока. В исследование были включены 46 пациентов, от 20 до 72 лет, в первые 48 часов после установления диагноза сепсиса (дисфункция органов) или септического шока (стойкая гипотензия), в соответствии с клиническими критериями III международного консенсуса по сепсису и септическому шоку (2016), SCCM (Society of Critical Care Medicine). Пациенты были разделены на 2 группы. I группа (25 пациентов) получала традиционное лечение. II группа (21 пациент) помимо традиционной терапии получала обогащенные ВВИГ (IgM+IgA) 5%, в курсовой дозе 30 г. Степень тяжести оценивали, используя интегральную шкалу APACHEII, а полиорганной дисфункции/недостаточности – SOFA. Ретроспективно оценивали летальность в группах за первые 28 дней наблюдения. Цитофлюориметрический анализ популяции моноцитов и экспрессии активационных маркеров выполняли в течение 2 часов после забора крови, на 1–2 и 10 сутки заболевания. Уровень IL-6, определяли в сыворотке на 1–2 и 10 сутки, методом твердофазного иммуноферментного анализа ИФА с использованием реактивов «R&D diagnostic Inc» США. Статистическая обработка полученных результатов проводилась методами описательной, параметрической статистики с использованием программы «StatPlus 2010».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Препараты ВВИГ вводили с первых суток поступления в ОРИТ, считается, что именно так называемое «окно возможностей» во мно-

гом определяет клиническую эффективность ВВИГ. За время наблюдения ВВИГ показали высокий профиль безопасности, лишь у 1 (5%) из 21 пациента было отмечено головокружение на введение препарата. Установлено, что уже к 10 дню от начала заболевания, в группах получавших ВВИГ были зафиксированы более низкая степень тяжести по шкале APACHEII (в баллах)  $11,2 \pm 5,7$  против  $17,5 \pm 8,3$  ( $p < 0,05$ ), выраженность органной недостаточности шкале SOFA (в баллах)  $3,2 \pm 2,4$  против  $7,8 \pm 2,4$  ( $p < 0,05$ ) и снижение уровня прокальцитонина  $4,6 \pm 2,9$  против  $8,3 \pm 3,6$  ( $p < 0,05$ ). Выявлено увеличение экспрессии HLA-DR на моноцитах в группе получавших ВВИГ  $54,51 \pm 11,3$  против  $31,4 \pm 16,7$  ( $p < 0,05$ ). Средние значения уровня IL-6 не претерпели значительных изменений. У пациентов, получавших ВВИГ, зарегистрировано снижение продолжительности пребывания в ОРИТ. Для I группы она составила  $15,1 \pm 4,1$  койко-дней, а II (ВВИГ) –  $9,9 \pm 3,4$  ( $p < 0,05$ ). Более низкие показатели летальности зафиксированы в группе, получавших в комплексной терапии ВВИГ, 3 (14,2%), против 6 (24%) ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, получены новые данные в пользу обоснованности включения ВВИГ, с первых дней от начала септического процесса. Необходимость дальнейших исследований по изучению механизмов терапевтических воздействий и клинической эффективности препаратов данной группы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. *Busani S., Damiani E., Cavazzuti I.* Intravenous immunoglobulin in septic shock: review of the mechanisms of action and meta-analysis of the clinical effectiveness. *Minerva Anesthesiol.* 2016. Vol. 82. P. 559–572.
2. *Шуматов В. Б., Лазанович В. А., Павлов В. А., Ермакова Н. Д., Просекова Е. В.* Внутривенные иммуноглобулины в адьювантной терапии сепсиса. Тихоокеанский медицинский журнал, 2017. № 242 С. 42–45. [*Shumatov V. B., Lazanovich V. A., Pavlov V. A., Ermakova N. D., Prosecova E. V.* Intravenous immunoglobulins as adjuvant therapy in patients with sepsis. *Pacific Medical Journal*, 2017. No. 2.P. 42–45].

**CLINICO-IMMUNOLOGICAL EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS  
OF INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULINS AS AN ADJUVANT THERAPY  
FOR SURGICAL SEPSIS**

© 2019 V. B. Shumatov, V. A. Lazanovich, V. E. Krasnikov

*E-mail: immuno2003@mail.ru*

*State budget educational institute of higher professional education Pacific State Medical University  
of Ministry of health Russian Federation, Vladivostok, Russia*

**Received:** 27.02.2019. **Accepted:** 12.03.2019

We observed 46 patients with sepsis, which were divided into 2 groups. I group (25 patients) received traditional treatment, II group (21 patients) in addition to conventional therapy received enriched IVIG (IgM+IgA). Comparative assessment of the combination of intravenous immunoglobulin's and traditional therapy indicated the clinical effectiveness of IVIG therapy, which results in reducing the severity of systemic inflammation, the severity of the disease and the mortality in patients with surgical sepsis.

*Key words:* intensive therapy, intravenous immunoglobulins, sepsis

**Authors:**

**Shumatov V. B.**, Doctor of Sciences, Professor of the Department of intensive care, anesthesiology, intensive care and emergency medical services, Vladivostok, Russia;

**Lazanovich V. A.**, Ph.D., assistant professor, Department of normal and Pathological Physiology, Vladivostok, Russia;

**Krasnikov V. E.**, Ph.D., assistant professor, Department of normal and Pathological Physiology, Vladivostok, Russia.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ ИННОВАЦИОННОГО АНТИКОНВУЛЬСАНТА МЕТА-ХЛОРБЕНЗГИДРИЛМОЧЕВИНЫ (м-хБГМ) В НЕЙРОИММУНОЛОГИИ ЗАВИСИМОСТИ

© 2019 г. Т. В. Шушпанова<sup>1\*</sup>, Т. П. Новожеева<sup>1</sup>, Т. В. Перевозчикова<sup>2</sup>,  
О. В. Шушпанова<sup>3</sup>, Е. М. Князева<sup>4</sup>

\*E-mail: mental@tnimc.ru

<sup>1</sup>НИИ психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр  
Российской академии наук», Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет министерства  
здравоохранения России», Томск, Россия

<sup>3</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический  
университет», Томск, Россия

Поступила: 17.03.2019. Принята: 04.04.2019

Метаболиты антиконвульсанта м-хБГМ в процессе детоксикации на цитохроме Р-450 конъюгируют с эндогенными макромолекулами и образуют полноценный стимул для иммунной системы. Специфическая активация происходит к моменту снижения активности микросомальных монооксигеназ печени; такая функция защиты является полноценной при поддержании «иммунохимического гомеостаза» в организме.

**Ключевые слова:** цитохром Р-450, иммуно-химический гомеостаз, иммунитет

DOI: 10.31857/S102872210007009-4

**Адрес:** 634009 Томск, пер. Кооперативный, д. 5, ФГБНУ «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт психического здоровья, лаборатория клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, Шушпанова Тамара Владимировна. Тел./факс: +7(3822) 723209, +7923 440 33 20 (моб.).

**E-mail:** mental@tnimc.ru

**Авторы:**

**Шушпанова Т. В.**, к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, Научно-исследовательский институт психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия;

**Новожеева Т. П.**, д. б. н., старший научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, Научно-исследовательский институт психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия;

**Перевозчикова Т. В.**, к. м. н., сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский институт», Томск, Россия;

**Шушпанова О. В.**, научный сотрудник отдела по изучению проблем детской психиатрии, «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;

**Князева Е. М.**, к. х. н., школа базовой инженерной подготовки, «Томский политехнический университет», Томск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Современная концепция «иммунохимического гомеостаза» рассматривает иммунную и монооксигеназную системы как единую систему распознавания и элиминации чужеродных высоко- и низкомолекулярных соединений, обеспечивающую функциональное взаимодействие двух систем – внутриклеточной монооксигеназной системой детоксикации – семейством цитохрома Р450 и иммунной системой и их взаиморегуляцией. Механизм взаимодействий этих систем не выяснен, особенно при длительном введении ксенобиотиков, в том числе лекарств. Характерной особенностью антиконвульсантов является длительное их применение в терапии пациентов с пароксизмальными расстройствами, эпилепсией, алкоголизмом, нейродегенератив-

ными заболеваниями, расстройствами аутистического спектра и другими. При длительном воздействии ксенобиотиков отмечена значительная роль монооксигеназной системы цитохрома P450 и клеток-киллеров в поддержании химического гомеостаза организма. Кроме того, регуляторный митохондриальный периферический бензодиазепиновый рецептор – ПБР – транспортный белок (TPSO), участвующий во многих клеточных процессах, тесно связан с основными ферментами стероидогенеза, включая P450scs [1]. ПБР является основой митохондриальной Ca<sub>2</sub>-индуцируемой порой, пропускающей холестерин и другие молекулы в митохондрии. ПБР рассматривают в качестве терапевтической мишени, вовлеченной в процесс развития различных патологий [1, 2]. Это связано с нарушением его биологических функций: регуляции пролиферации, дифференциации и апоптоза клеток; транспорта холестерина и стероидогенеза, биосинтеза гемма и транспорта порфирина. TPSO является участником иммунного ответа, присутствует в большинстве клеток иммунной и нейроиммунной систем. Иммуномодулирующее действие данного белка опосредовано через индуцированную стрессорными механизмами иммунодепрессию или апоптоз иммунных клеток, значима роль стероидных гормонов в воспалительной реакции и пост-стрессорной адаптации организма. Система цитохрома P450 является метаболической и адаптационной системой, метаболизирует соединения чужеродной и эндогенной природы, взаимодействует с иммунной системой организма, так как конъюгированные антигены презентуются В-клеткам и вызывают иммунный ответ [3].

**Целью** данной работы явилось изучение влияния м-хБГМ – индуктора P450-монооксигеназной системы печени на ПБР мозга крыс на экспериментальной модели алкоголизма, особенности В-звена иммунитета и ЕЦТ клеток лимфоидных органов крыс.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на крысах-самцах линии Вистар. м-хБГМ вводили в желудок «многопьющим» крысам по условиям эксперимента, как описано ранее [4], в виде взвеси на 1% крахмальной слизи в дозе 100 мг/кг ежедневно в течение 5, 30 и 90 дней. Контрольные животные получали соответствующий объем крахмальной слизи. В конце указанных сроков, через 24 часа после последнего введения препарата,

животных (по 8–9 в каждой группе) забивали декапитацией под легким эфирным наркозом для проведения биохимических и иммунологических анализов. Выделение микросомальной фракции печени, определение содержания гемопротеидов семейства P450 и белка проводили по ранее описанным методам [3]. Свойства ПБР мозга крысы исследовали методом связывания [<sup>3</sup>H]Ro5-4864 с мембранами митохондриальной фракции коры мозга крысы [5]. Статистическую обработку данных применяли параметрический метод вариационной статистики (t-критерий Стьюдента) с использованием программы «Statistica 10.0».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам эксперимента на модели хронической алкоголизации крыс линии Вистар и при терапии «многопьющих» животных с использованием м-хБГМ в дозе 100 мг/кг массы тела в течение 14 дней нами было выявлено изменение свойств рецепторов в мозге экспериментальных животных. В коре мозга «предпочитавших» алкоголь крыс аффинность ПБР была достоверно снижена по сравнению с «отвергавшими» алкоголь животными в 1.7–2 раза, что приводило к снижению чувствительности к алкоголю, способствовало развитию толерантности и формированию физической зависимости. Плотность ПБР в коре мозга «предпочитавших» алкоголь крыс была повышена на 150–160%, что отражает нейропластические компенсаторные изменения рецепторов. м-хБГМ эффективно снижала выраженность алкогольной мотивации у «предпочитавших» алкоголь крыс и оказывала модулирующее действие на ПБР мозга «многопьющих» животных, что приводило к повышению нейромедиации ГАМК, вызывало снижение толерантности к алкоголю и уменьшение уровня его потребления [4]. м-хБГМ вызывала тенденцию к снижению плотности ПБР в мозге «многопьющих» крыс. Воздействие этанола вызывало изменение ПБР, локализованных в митохондриальной мембране, преимущественно в глиальных клетках мозга, и обеспечивающих перенос холестерина внутрь митохондрий [1].

Таким образом, ПБР влияют на регуляцию синтеза нейростероидов, являющихся эндогенными модуляторами ГАМКА-рецепторов в ЦНС [1, 2]. Бензодиазепины, анксиолитики, анестетики и алкоголь осуществляют некоторые эффекты через ПБР, регулируя продукцию нейростероидов и их метаболитов, являющихся

критичными компонентами нормальной функции мозга [1, 2]. ПБР опосредованно влияют на ГАМКергическую функцию мозга, реагируя на нейротоксическое воздействие и различные повреждения мозга, стимулируя нейроиммунную систему, локализуясь преимущественно в глиальных клетках мозга [5]. м-ХБГМ, стимулируя экспрессию ПБР в митохондриях в глиальных клетках мозга, сопряженных с P450scs – ферментативной системой, влияя таким образом на нейроиммунную систему мозга, активируя ее, что важно при нейротоксическом влиянии на ЦНС.

Особенности цитохромоксидазной системы P450 печени и В-звена иммунитета и ЕЦТ в лимфоидных органах крыс изучали при различных сроках введения м-ХБГМ. м-ХБГМ, проявляя умеренные индуцирующие свойства в отношении монооксигеназной системы печени, вызывала фазные и разнонаправленные изменения со стороны лимфоидных органов и ЕЦТ иммунокомпетентных клеток. Кратковременное введение м-ХБГМ в течение 5-ти суток, вызывало снижение клеток в вилочковой железе, в основном за счет уменьшения количества малых лимфоцитов, в то же время вызывало умеренное снижение количества клеток в перитонеальном экссудате крыс, преимущественно за счет средних и больших лимфоцитов. После кратковременного снижения количества тимоцитов через 5 суток клеточный состав тимуса нормализовался через 1–3 мес. введения. Длительное введение м-ХБГМ вызывало обеднение клеточного состава лимфоидных органов, снижению ЕЦТ клеток селезенки и перитонеального экссудата, однако эти изменения были менее выраженными, по сравнению с препаратами барбитурового ряда. Под влиянием м-ХБГМ на фоне активации ферментов монооксигеназной системы печени наблюдалась тенденция к снижению общего числа лейкоцитов периферической крови, преимущественно за счет нейтрофилов и лимфоцитов. В отличие от барбитуратов лейкопения не прогрессировала с увеличением длительности введения препарата. Уровень неспецифических АОК селезенки существенно не изменялся при кратковременном введении м-хБГМ в течение 5-ти суток. При введении м-хБГМ в течение 30-ти дней уровень специфических АОК селезенки возрастал. Образовавшиеся антитела связывают и нейтрализуют м-хБГМ и его промежуточные метаболиты. При активации иммунной системы происходит обратная регуляция выработки ферментов системы цитохрома, так как при помощи антител концентрация низкомолекулярных мишеней резко сокращается. Таким образом, система цитохрома и иммунная система регулируют друг друга.

Полученные нами данные свидетельствуют о формировании специфического иммунного ответа на введение м-хБГМ. В процессе детоксикации на цитохроме P-450 метаболиты м-хБГМ конъюгируют с эндогенными макромолекулами и образуют полноценный стимул для иммунной системы. Специфическая активация ее происходит к моменту снижения активности микросомальных монооксигеназ печени – через месяц введения препарата животным. Такая передача функции защиты от одной системы к другой является функциональной и полноценной при поддержании «иммунохимического гомеостаза» в организме.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Lacapere J. J., Papadopolus V.* Peripheral-type benzodiazepine receptor: a structural and functional cholesterol-binding protein in steroid and bile acid biosynthesis. *Steroid*. 2003, 66 (7–8), 569–585.
2. *Шушпанова Т. В., Новожеева Т. П., Мандель А. И., Бохан Н. А.* Бензодиазепиновые рецепторы тромбоцитов и нейроактивные стероидные гормоны в крови человека – потенциальные мишени при алкогольной аддикции. *Академический журнал Западной Сибири*. 2014, 10, 3(52), 73–75. [*Shushpanova T. V., Novozheeva T. P., Mandel A. I., Bokhan N. A.* Benzodiazepine platelet receptors and neuroactive steroid hormones in human blood are potential targets for alcohol addiction. *Academic Journal of Western Siberia*. 2014, 10, 3 (52), 73–75].
3. *Саратиков А. С., Новожеева Т. П.* Химико-фармацевтический журнал. 1983, 12, 1436–1438. [*Saratikov A. S., Novozheeva T. P.* *Chemical and Pharmaceutical Journal*. 1983, 12, 1436–1438].
4. *Шушпанова Т. В., Новожеева Т. П., Семке В. Я., Бохан Н. А., Саратиков А. С., Канов Е. В., Худoley В. Н.* Средство, снижающее алкогольную мотивацию. Патент на изобретение RUS2155034 29.11.1999 [*Shushpanova T. V., Novozheeva T. P., Semke V. Ya., Bokhan N. A., Saratikov A. S., Kanov E. V., Khudoley V. N.* The means reducing alcoholic motivation. Patent for invention RUS2155034 11/29/1999].
5. *Шушпанова Т. В., Солонский А. В., Новожеева Т. П., Удут В. В.* Влияние антиконвульсанта мета-хлорбензгидрилмочевины (м-хБГМ) на бензодиазепиновую рецепторную систему мозга крыс при экспериментальном алкоголизме. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013, 156(12), 779–785. [*Shushpanova T. V., Solonksy A. V., Novozheeva T. P., Udut V. V.* The effect of the anticonvulsant meta-chloro-benzhydrylurea (m-CL-BHU) on the benzodiazepine receptor system of the rat brain in experimental alcoholism. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2013, 156 (12), 779–785].

**MOLECULAR TARGETS OF THE ACTIONS OF THE INNOVATIVE  
ANTICONVULSANT META-CHLORO-BENZHYDRYLUREA (M-CL-BHU)  
IN NEUROIMMUNOLOGY OF DEPENDENCE**

© 2019 T. V. Shushpanova<sup>1\*</sup>, T. P. Novozheeva<sup>1</sup>, T. V. Perevozchikova<sup>2</sup>,  
O. V. Shushpanova<sup>3</sup>, E. M. Knyazeva<sup>4</sup>

\*E-mail: mental@tnimc.ru

<sup>1</sup>Mental Health Research Institute «Tomsk Scientific Research Medical Center  
of Russian Academy of Sciences», Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Federal State Educational Institution «Siberian State Medical University»,  
Tomsk, Russia

<sup>3</sup>Federal State Budget Scientific Institution «Scientific Center of Mental Health», Moscow, Russia

<sup>4</sup>Federal State Autonomous Educational Institution «Tomsk Politechni University», Tomsk, Russia.

**Received:** 17.03.2019. **Accepted:** 04.04.2019

Metabolites of the anticonvulsant m-CL-BHU in the process of detoxification on cytochrome P-450 are conjugated with endogenous macromolecules and form a complete stimulus for the immune system. Specific activation occurs at the time of the decrease in the activity of liver microsomal monooxygenases. This protection function is valuable in maintaining “immuno-chemical homeostasis” in the body.

*Key words:* cytochrome P-450, immuno-chemical homeostasis, immunity

**Authors:**

**Shushpanova T. V.**, ✉ PhD, M.D., Leading Researcher, Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology of Mental Health Research Institute “Tomsk Scientific Research Medical Center of Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russia.

**E-mail:** mental@tnimc.ru;

**Novozheeva T. P.**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology of Mental Health Research Institute “Tomsk Scientific Research Medical Center of Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russia;

**Perevozchikova T. V.**, PhD, Researcher at the Central Research Laboratory, “Siberian State Medical University”, Tomsk, Russia;

**Shushpanova O. V.**, Researcher of Children and Adolescent Psychiatry Department, “Scientific Center of Mental Health”, Moscow, Russia;

**Knyazeva E. M.**, PhD, Researcher of Basic Engineering school, “Tomsk Politechni University”, Tomsk, Russia.

## ЭМБРИОГЕНЕЗ НЕЙРОРЕЦЕПТОРНОЙ И НЕЙРОИММУННОЙ СИСТЕМ ЧЕЛОВЕКА ПРИ НЕОНАТАЛЬНОМ ВЛИЯНИИ АЛКОГОЛЯ И ГИПОКСИИ НА ПЛОД

© 2019 г. Т. В. Шушпанова<sup>1\*</sup>, А. В. Солонский<sup>1</sup>, А. С. Кудренко<sup>2</sup>, Н. А. Бохан<sup>1</sup>

\*E-mail: mental@tnimc.ru

<sup>1</sup>НИИ психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия

<sup>2</sup>ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Омск, Россия

Поступила: 17.03.2019. Принята: 05.04.2019

Алкоголь и тканевая гипоксия на ранних стадиях эмбрионального развития оказывает модифицирующее влияние на формирование нейроиммунной и нейромедиаторной систем развивающегося мозга: микроглию, ГАМК<sub>A</sub>-рецепторную систему, их функциональную и медиаторную активность.

**Ключевые слова:** микроглия, эмбрион, нейрон, рецептор

DOI: 10.31857/S102872210007010-6

**Адрес:** 634009 Томск, пер. Кооперативный, д. 5, ФГБНУ «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт психического здоровья, лаборатория клинической психонейроиммунологии и нейробиологии. Шушпанова Тамара Владимировна.

Тел./факс: +7(3822) 723209, +7923 440 33 20 (моб.).

**E-mail:** mental@tnimc.ru

**Авторы:**

**Шушпанова Т. В.**, к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, Научно-исследовательский институт психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия;

**Солонский А. В.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, Научно-исследовательский институт психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия;

**Кудренко А. С.**, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики, группа цитологического скрининга, ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Омск, Россия;

**Бохан Н. А.**, д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий отделением аддиктивных состояний Научно-исследовательский институт психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Эмбриональный период развития головного мозга человека связан с формированием нервных и глиальных клеток, их контактами взаимосвязей, организацией сложнейших функций головного мозга. Доказана роль ранних этапов пре- и постнатального периодов онтогенеза в развитии мозга. Механизмы, ответственные за развитие эффектов алкоголя и, связанной с этим, гипоксией плода в развивающемся мозге человека, включают клеточную пролиферацию и миграцию, синаптогенез, синаптическую пластичность и развитие рецепторных систем мозга. ГАМК и нейрональные ГАМК<sub>A</sub>- и бензодиазепиновые рецепторы появляются на ранних стадиях эмбриогенеза, оказывают влияние на дифференциацию и рост нейрональных клеток в этот период. Медиаторы и модуляторы важны для роста и развития нервных клеток и нейрональных сетей в мозге эмбриона и плода. Пренатальный и неонатальный стресс (гипоксия), а также алкоголь, различные лекарственные средства нарушают процессы развития и вызывают долгосрочные поведенческие эффекты

в дальнейшем [1–3]. В патогенезе нейротоксического, гипоксически-ишемического перинатального поражения ЦНС ключевые события развиваются стадийно, характеризуется определенными клеточно-молекулярными событиями: нарушение электровозбудимости нейронов, окислительный стресс, гиперпродукция цитокинов и хемокинов, изменение секреции и рецепции нейротрансмиттеров, развитие апоптоза и некроза [1, 2, 4]. Направленная регуляция каждого из этих процессов составляет основу современной стратегии нейропротекции при перинатальном поражении ЦНС. ЦНС обладает автономной нейроиммунной системой, состоящей из клеток микроглии с функцией мононуклеарных фагоцитов. Клетки микроглии являются опорными и сателлитными клетками для нейронов, которые при антигенной стимуляции активируются и превращаются в фагоцитирующие макрофаги [4, 5]. Понимание молекулярно-клеточных механизмов повреждения нейрональных и глиальных клеток, межклеточных взаимодействий в развивающемся мозге, позволит найти принципиально новые подходы к диагностике и лечению данной патологии.

**Цель** данного исследования состояла в изучении нейроиммунной и нейрорецепторной систем развивающегося мозга человека при неонатальном влиянии алкоголя и гипоксии на плод.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал исследования – аутопсийный головной мозг 26 эмбрионов и плодов 7–12 недель развития, полученных от женщин, страдающих алкоголизмом, 30 детей обоего пола, погибших ante-, intra- и постнатально в течение первых 2-х месяцев жизни.

В I группу вошли дети 28–37 недель, умершие ante- и интранатально, во II группу вошли дети, погибшие ante- и интранатально при сроках внутриутробного развития 38–42 недели, III группа включала в себя детей со сроком развития 28–37 недель, умерших в течение первых суток жизни. Основным заболеванием у детей указанных групп являлась асфиксия плода и новорожденного. Все дети на протяжении внутриутробного развития испытывали гипоксию вследствие хронической плацентарной недостаточности. Образцы взяты из области коры большого мозга левого и правого полушарий: предцентральной и постцентральной извилин. Основными методами исследований послужили: фиксация мозга, окраска гематоксилином и эозином, тионином

по Нисслию, электронная микроскопия, цитометрия, вариационно-статистический метод. Радиорецепторные исследования свойств бензодиазепиновых рецепторов (БЗДР) проводили с использованием связывания [<sup>3</sup>H]флунизтазема ([<sup>3</sup>H]ФНЗ) с синапсомембранной фракцией мембран ткани коры большого мозга исследуемых эмбрионов и плодов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении аутопсийного материала коры головного мозга 7–12-недельных эмбрионов, развивающихся в условиях пренатальной алкоголизации установлено снижение площади нейробластов в контрольном материале по сравнению с исследуемой группой. Установлено достоверное снижение площади глиобластов в основной группе по сравнению с контрольной. При анализе численной плотности на 1 мм<sup>2</sup> клеток мозга, развивающихся в условиях алкоголизации, выявлено снижение показателя для нейробластов и глиобластов в основной группе в сравнении с контрольной. Отмечено наличие значительных по площади участков выпадения нейронов в микроколонках формирующейся коры головного мозга. При анализе глио-нейронального индекса выявлено увеличение количества глиальных клеток – глиобластов, по сравнению с популяцией нейронов, однако размер глиальных клеток под влиянием алкоголя достоверно меньше в сравнении с контролем.

В аутопсийном материале коры большого мозга плодов и новорожденных детей, умерших от гипоксии, отмечали признаки дисциркуляторных изменений, внеклеточного отека, выраженную пролиферацию глии, широкий камбиальный слой, выпадение нейронов и очаги некроза у ante- и интранатально умерших плодов при сроке гестации 28–37 недель. В группе ante- и интранатально умерших плодов со сроком гестации 38–42 недель и в группе новорожденных детей 1-го дня жизни в коре большого мозга наблюдались признаки отека, выпадения нейронов во всех исследуемых нами случаях, отмечались очаги активной пролиферации глии, некроза, наличие широкого камбиального слоя. В группе, включавшей новорожденных детей 1-х суток жизни (ранний неонатальный период) со сроком гестации 38–42 недели и новорожденных детей 2–7 дней жизни (ранний неонатальный период, срок гестации 38–42 недели), и у детей с продолжительностью жизни от 8 дней до 2-х месяцев (поздний период новорожден-

ности и период младенчества, срок гестации 38–42 недели), в коре большого мозга реже выявлялся широкий камбиальный слой; признаки отека, выпадение нейронов, активная пролиферация глии и очаги некроза были обнаружены во всех случаях. Во всех исследуемых случаях при перинатальном влиянии алкоголя и гипоксии нами выявлена активная пролиферация во фракции глиальных клеток по отношению к сниженному числу нейробластов и нейронов.

Изучение свойств БЗДР коры головного мозга человека при разных стадиях гестации (срок развития 8–12 недель) показало, что плотность мест связывания [<sup>3</sup>H]ФНЗ в ткани мозга была выше при неонатальном влиянии алкоголя на плод на всех исследуемых сроках развития эмбрионов и плодов по сравнению с контрольной группой. Отмечалось снижение аффинности рецепторов или их сродства к селективному лиганду в головном мозге эмбрионов и плодов под влиянием алкоголизации матери. В исследуемой и контрольной группах плотность БЗДР повышалась с увеличением срока развития эмбрионов, в то же время отмечалось снижение аффинности рецепторов. Анализ Скэтчарда выявил, что повышение связывания [<sup>3</sup>H]ФНЗ с БЗДР мембранной фракции мозга эмбрионов под влиянием алкоголизации матери может быть обусловлено изменением рецепторной аффинности и функциональной активности активности БЗДР, сопряженных с ГАМКА-рецепторами. Влияние алкоголя на плод вызывает нейроадаптивные изменения БЗДР и ГАМКА-рецепторов, приводящие к изменениям функциональной активности нейроиммунной системы головного мозга. Алкоголь и тканевая гипоксия на ранних стадиях эмбрионального развития оказывает модифицирующее влияние на формирование нейрональных и глиальных клеток, нейромедиаторных

рецепторов, их функциональную активность. Нейропластические изменения, активация глии являются компенсаторной реакцией, направленной на адаптацию развивающегося мозга эмбриона и плода в условиях нейротоксичности и гипоксии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Morris S. A., Eaves D. W., Smith A. R., Nixon K.* Alcohol inhibition of neurogenesis: A mechanism of hippocampal neurodegeneration in an adolescent alcohol abuse model. *Hippocampus*. 2010, 20(5), 596–607.
2. *Shushpanova T. V., Solonskii A. V., Shushpanova O. V.* Molecular-Cellular Targets of the Pathogenetic Action of Ethanol in the Human Brain in Ontogenesis and the Possibility of Targeted Therapy Aimed at Correcting the Effect of Pathogenic Factors. In: *Drug addiction*. Edited by F. Zhao, co-edited by M. Li. London, United Kingdom: In tech Open. 2018, 73102. doi:10.5772/intechopen.73333
3. *Shushpanova T. V., Solonskii A. V., Bokhan N. A.* Cortical Synaptogenesis in the Human Brain in Conditions of Prenatal Alcoholization. *Autism – Open Access*. 2016, 6(2), 173–179. doi:10.4172/2165-7890.1000173
4. *Сепиашвили Р. И.* Иммунная система мозга и спинномозговой жидкости. *Аллергология и иммунология*. 2016, 16(1), 26–38. [*Sepiashvili R. I.* Immune system of the brain and spinal fluid. *Allergology and immunology*. 2016, 16(1), 26–38].
5. *Андросова Л. В., Симашкова Н. В., Шушпанова О. В., Отман И. Н., Ключник Т. П.* Возможности использования некоторых иммунологических показателей для оценки тяжести клинического состояния пациентов с начавшейся в детском возрасте шизофренией. *Журналне врологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2016, 2, 85–89. [*Androsova L. V., Simashkova N. V., Shushpanova O. V., Otman I. N., Klyushnik T. P.* Possibilities of using some immunological indicators to estimate the clinical condition of patients beginning in childhood schizophrenia. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiiatrii Imeni S. S. Korsakova*. 2016, 2, 85–89].

**EMBRIOGENESIS OF NEURORECEPTOR AND NEUROIMMUNE  
SYSTEMS OF A HUMAN WITH NEONATAL INFLUENCE  
OF ALCOHOL ON FETUS**

© 2019 T. V. Shushpanova<sup>1\*</sup>, A. V. Solonsky<sup>1</sup>, A. S., Kudrenko<sup>2</sup>,  
N. A. Bohan<sup>1</sup>

*\*E-mail: mental@tnimc.ru*

<sup>1</sup>*Mental Health Research Institute “Tomsk Scientific Research Medical Center  
of Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russia;*

<sup>2</sup>*State educational institution of higher vocational education “Omsk State Medical Academy  
of the Federal Agency for Health and Social Development”, Omsk, Russia*

**Received:** 17.03.2019. **Accepted:** 05.04.2019

Alcohol and tissue hypoxia in the early stages of embryonic development has a modifying effect on the formation of the neuroimmune and neurotransmitter systems of the developing brain: microglia, the GABA receptor system, their functional and mediator activity.

*Key words:* microglia, embryo, neuron, receptor

**Authors:**

**Shushpanova T. V.**, ✉ PhD, M.D., Leading Researcher, Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology of Mental Health Research Institute “Tomsk Scientific Research Medical Center of Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russia.  
**E-mail:** mental@tnimc.ru;

**Solonsky A. V.**, PhD, M.D., Leading Researcher, Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology of Mental Health Research Institute “Tomsk Scientific Research Medical Center of Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russia;

**Kudrenko A. S.**, PhD, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics Group of Cytological Screening State educational institution of higher vocational education “Omsk State Medical Academy of the Federal Agency for Health and Social Development”, Omsk, Russia;

**Bokhan N. A.**, PhD, M.D., Academician of RASci., Head of Addictive Department of Mental Health Research Institute “Tomsk Scientific Research Medical Center of Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russia.

## Авторский указатель

|                     |               |                    |                 |
|---------------------|---------------|--------------------|-----------------|
| <b>Е</b>            |               |                    |                 |
| Eliáš Daniel        | 981           | Барова Н. К.       | 503, 867        |
| <b>А</b>            |               | Барсукова Н. И.    | 620             |
| Абазова З. Х.       | 124, 174      | Басс Е. А.         | 153             |
| Абакумов А. И.      | 335           | Батенева А. В.     | 716             |
| Абакумова Т. В.     | 197, 704      | Баткаева Н. В.     | 406             |
| Абдурахманов М. М.  | 435           | Баторов Е. В.      | 142, 942        |
| Абидов М. Т.        | 930           | Батрак Н. В.       | 362             |
| Абрамов К. С.       | 127, 130      | Батурина И. Л.     | 828, 936        |
| Абрамовских О. С.   | 236, 377      | Бахирев А. М.      | 819             |
| Августинович Д. Ф.  | 623           | Бахтиярова К. З.   | 359             |
| Авдеева Ж. И.       | 133, 557      | Бекерова Д. Ф.     | 264             |
| Авруцкая В. В.      | 347           | Бекпергенова А. В. | 156             |
| Азаматова Э. К.     | 963           | Белан Э. Б.        | 786             |
| Азизова З. Ш.       | 499           | Беленюк В. Д.      | 545             |
| Айтов А. Э.         | 489, 641      | Белокрылова М. Ф.  | 445             |
| Аклеев А. А.        | 1042, 1045    | Беломестнова И. А. | 707             |
| Актанова А. А.      | 462           | Беляева С. В.      | 159             |
| Акулова Е. Б.       | 136           | Бержец В. М.       | 909             |
| Акунеева Т. В.      | 332, 939      | Берзина А. Г.      | 162             |
| Александров Г. В.   | 807           | Бирюкова А. А.     | 165             |
| Алтабаева Е. Н.     | 1060          | Бирюкова Е. Н.     | 804             |
| Альшевская А. А.    | 302, 707      | Бишева И. В.       | 539             |
| Аль-Шехадат Р. И.   | 136           | Блинова Е. А.      | 168, 1042, 1045 |
| Амбарян Э. Т.       | 200           | Бовин Н. В.        | 267, 987        |
| Амбарян С. Г.       | 876           | Богомазов А. Д.    | 171, 530        |
| Амстиславская Т. Г. | 397, 638      | Богородский А. О.  | 719             |
| Андреев Ю. Ю.       | 1021          | Бодиенкова Г. М.   | 846             |
| Андреева М. А.      | 278           | Бойко А. С.        | 183             |
| Андреева Е. А.      | 139           | Бойко Е. Л.        | 409             |
| Андреева И. И.      | 533           | Бойко М. С.        | 885             |
| Андрющенко С. В.    | 156           | Болков М. А.       | 1028            |
| Антонеева И. И.     | 197, 704      | Болховитина Е. Л.  | 719             |
| Антонец Д. В.       | 1000, 1003    | Бондарев В. П.     | 133, 557        |
| Анциферова Ю. С.    | 192, 391, 813 | Бондаренко Е. С.   | 921, 924        |
| Аптекарь И. А.      | 939           | Бондаренко Т. А.   | 602, 626        |
| Арипова Т. У.       | 290, 499      | Бондаренко Т. Ю.   | 722             |
| Арискина О. Б.      | 468, 1054     | Борзова Н. Ю.      | 362, 563        |
| Аристова Т. А.      | 142           | Борисова И. В.     | 150             |
| Ароян А. Р.         | 554           | Боробова Е. А.     | 1003            |
| Артамонов А. Ю.     | 710           | Борукаева И. Х.    | 124, 174        |
| Арташян О. С.       | 1060          | Борщевский В. И.   | 719             |
| Архипова А. Ю.      | 873           | Бохан Н. А.        | 183, 673        |
| Атанесян Е. А.      | 754           | Бочарова О. С.     | 338             |
| Атретханы К-С. Н.   | 873           | Бочкова М. С.      | 257             |
| Афанасьев С. А.     | 849           | Боярская П. Н.     | 951             |
| Афиногенова В. П.   | 608           | Бриллиант С. А.    | 766, 1048       |
| Афоница И. А.       | 927           | Будихина А. С.     | 858, 891        |
| Ачасова К. М.       | 713, 852      | Букреева Е. Б.     | 966             |
| <b>Б</b>            |               | Буланова А. А.     | 966             |
| Багдасарян Т. Р.    | 870           | Булдакова Ю. А.    | 208             |
| Бажан С. И.         | 1000, 1024    | Бумай А. О.        | 483             |
| Базаев А. Л.        | 270           | Бунева В. Н.       | 242, 451        |
| Байбарина Е. В.     | 305           | Бурмистрова А. Л.  | 572, 599        |
| Балаева Ж. Т.       | 963           | Бутова Л. Г.       | 278             |
| Балмасова И. П.     | 144, 281      | Бушмина О. Н.      | 230             |
| Балясова Л. С.      | 858, 891      | Быстрова Н. А.     | 177, 380        |
| Баранова О. А.      | 560           | Бычкова Н. В.      | 180             |
| Барило А. А.        | 147, 150      | <b>В</b>           |                 |
| Барков С. Ю.        | 984           | Валиева Ю. В.      | 725             |
|                     |               | Ванько Л. В.       | 341, 403        |

## Авторский указатель

|                     |            |                   |               |
|---------------------|------------|-------------------|---------------|
| Василев Ч. Л.       | 566        | Грачева Л. А.     | 614           |
| Василишина А. А.    | 728        | Гребенщиков И. С. | 221           |
| Васильев Ю. М.      | 1006, 1009 | Григорьева Е. С.  | 459           |
| Васильева А. Р.     | 451        | Гридунова Л. В.   | 792           |
| Васильева Н. В.     | 311        | Гриценко В. А.    | 778, 781      |
| Вахитова Ю. В.      | 359        | Гумилевская О. П. | 455           |
| Веревокин С. В.     | 136        | <b>Д</b>          |               |
| Ветлугина Т. П.     | 183, 374   | Давлетбаева Г. А. | 1038          |
| Викторов Д. В.      | 1015       | Давыдова Е. В.    | 127, 130      |
| Виноградов С. Ю.    | 888        | Дагиль Ю. А.      | 858, 891      |
| Винс М. В.          | 966        | Даниленко Е. Д.   | 575, 716      |
| Виткина Т. И.       | 187        | Данилова Е. И.    | 224           |
| Власова А. О.       | 731        | Данилова И. Г.    | 766, 861, 894 |
| Волосникова Е. А.   | 575        | Деева Н. С.       | 227, 617      |
| Волох Ю. В.         | 1012       | Демина Д. В.      | 168, 650      |
| Воробьев Д. С.      | 1012       | Демьянов А. В.    | 728           |
| Воробьева Е. С.     | 432        | Демяшкин Г. А.    | 432           |
| Воробьева Н. В.     | 733, 855   | Денисенко Е. С.   | 728           |
| Воробьева О. П.     | 650, 707   | Денисенко О. А.   | 1057          |
| Воронин Д. Н.       | 190, 409   | Дженкова Е. А.    | 512           |
| Воронина Е. Н.      | 218, 227   | Дзех О. Ю.        | 757           |
| Воронина Л. И.      | 1028, 1034 | Диндяев С. В.     | 760           |
| Воронкина И. В.     | 834        | Добрынина М. А.   | 778, 781      |
| Ворошилова Т. М.    | 293        | Долгарева С. А.   | 230, 1051     |
| Воскресенская Д. Л. | 190, 192   | Долгова Д. Р.     | 197, 704      |
| Вторушина В. В.     | 194, 341   | Долгополов М. С.  | 233           |
| <b>Г</b>            |            | Долгополова Е. Л. | 267           |
| Гаврилова Т. В.     | 739        | Долгушин И. И.    | 236, 1042     |
| Гаврилюк В. П.      | 978        | Долгушина Н. В.   | 391           |
| Гаврилюк Е. В.      | 736, 978   | Друцкая М. С.     | 873, 876      |
| Гавриш С. А.        | 323        | Дудко С. Г.       | 1000, 1024    |
| Галагудин И. В.     | 1063       | Дутова С. В.      | 239, 299, 521 |
| Гамaley С. Г.       | 575, 716   | Душкин А. В.      | 623           |
| Гамалея Н. Б.       | 162        | <b>Е</b>          |               |
| Ганковская Л. В.    | 406, 614   | Евдокимов А. В.   | 763           |
| Гвоздев И. И.       | 804        | Елагина К. А.     | 284           |
| Гейн О. Н.          | 739        | Емелина А. И.     | 831           |
| Гейн С. В.          | 742, 969   | Емельянов В. В.   | 766, 930      |
| Гельцер Б. И.       | 260        | Емельянов И. В.   | 828, 912      |
| Генинг С. О.        | 197, 704   | Емельянова Е. С.  | 611           |
| Генинг Т. П.        | 197, 704   | Епанчинцева Е. М. | 445           |
| Герасимова Д. Г.    | 200        | Епишев Р. В.      | 200           |
| Гервазиева В. Б.    | 320, 388   | Ерджанян Л. Л.    | 347, 365      |
| Гетте И. Ф.         | 766, 930   | Ермаков А. А.     | 462           |
| Гизингер О. А.      | 203, 745   | Ермаков Е. А.     | 242           |
| Гитинова М. М.      | 406        | Ермакова О. В.    | 769           |
| Гладкова Е. В.      | 748        | Ермолина Е. В.    | 548, 906      |
| Глебездина Н. С.    | 751        | Ерохина С. А.     | 795           |
| Глушков А. Н.       | 218, 221   | Ершов Ф. И.       | 448           |
| Гоголева Е. А.      | 468        | Ерыгина Е. Н.     | 492, 494      |
| Годовалов А. П.     | 206, 981   | Ефратова Е. П.    | 144           |
| Голенков А. К.      | 596        | Ешимбетова Г. З.  | 290           |
| Головизнин М. В.    | 208        | <b>Ж</b>          |               |
| Головнева Е. С.     | 936        | Жахов А. В.       | 728, 754      |
| Гольдина И. А.      | 212        | Железнова А. Д.   | 527, 602      |
| Гончарова А. С.     | 775        | Жеребятьева О. О. | 245           |
| Горбунов Н. П.      | 215, 754   | Жестков А. В.     | 281           |
| Гордеева Л. А.      | 218        | Жиляев Е. В.      | 314           |
| Горенков Д. В.      | 1018       | Жук И. Е.         | 1018          |
| Грачев Н. И.        | 394        |                   |               |

## Авторский указатель

|                    |                    |                     |               |
|--------------------|--------------------|---------------------|---------------|
| Жукова Ю. В.       | 707                | Калёнова Л. Ф.      | 605           |
| Журавлева М. О.    | 248                | Калинина А. В.      | 365           |
| <b>З</b>           |                    | Калиниченко Е. О.   | 1015          |
| Забков О. И.       | 778, 781           | Калиновская Н. Ю.   | 663           |
| Завгородний Е. С.  | 203, 745           | Калиновский А. В.   | 933           |
| Зайнетдинова Л. Ф. | 251                | Калошин А. А.       | 1015          |
| Зайцева Е. В.      | 1028, 1034         | Кальметьева Л. Р.   | 789, 1038     |
| Зайцева Л. Ю.      | 171                | Каплин В. С.        | 792           |
| Зайцева Н. С.      | 254                | Каплина О. Н.       | 1000, 1024    |
| Закиров Р. Ш.      | 200                | Капрельянц Е. Ю.    | 492, 494      |
| Заморина С. А.     | 257                | Карабанова Е. А.    | 754           |
| Захаров М. В.      | 614                | Карандашов В. И.    | 203, 745      |
| Захаров М. С.      | 754                | Караулов А. В.      | 394           |
| Заяц Т. А.         | 831                | Кармакова Т. А.     | 296           |
| Зверев В. В.       | 596                | Кармиргодиев А. А.  | 924           |
| Здвижкова И. А.    | 156                | Карнаухов Н. С.     | 775           |
| Здор В. В.         | 260                | Карпенко Л. И.      | 1000, 1024    |
| Зеленова З. В.     | 400                | Карпина Н. Л.       | 915           |
| Зенина А. А.       | 264                | Карпова М. Р.       | 239           |
| Зенкова Т. В.      | 332                | Карпунина Т. И.     | 206           |
| Зиганшин О. Р.     | 203, 442, 828, 831 | Карташова О. Л.     | 474           |
| Зиганшина М. М.    | 267, 987           | Касаткин Д. В.      | 760           |
| Зимица Е. М.       | 1015               | Каспаров Э. В.      | 545           |
| Зиновьев С. В.     | 480, 772           | Катаева Н. Н.       | 524           |
| Златник Е. Ю.      | 270, 775           | Кашенко Э. А.       | 957, 960      |
| Зобова С. Н.       | 545                | Кжышковска Ю. Г.    | 459, 569      |
| Зозуля С. А.       | 273                | Кику П. Ф.          | 584           |
| Золотарева Е. И.   | 512                | Килина О. Ю.        | 299, 521      |
| Зольникова О. Ю.   | 276, 287           | Киргизова С. Б.     | 245           |
| Зотова М. А.       | 912                | Киреев Ф. Д.        | 302           |
| Зубков А. В.       | 278, 356           | Киселевский М. В.   | 133           |
| Зурочка А. В.      | 778, 781           | Климкина Т. Н.      | 338           |
| Зурочка В. А.      | 778, 781           | Климко Н. Н.        | 311           |
| <b>И</b>           |                    | Климов В. И.        | 1018          |
| И Александра       | 264                | Климова Т. А.       | 162           |
| Ибрагимова Л. Г.   | 789, 1038          | Клинушкина Е. Ф.    | 596           |
| Иванов А. М.       | 455, 629           | Клычева М. М.       | 897           |
| Иванов К. М.       | 906                | Клюшник Т. П.       | 273           |
| Иванов М. Ф.       | 281                | Кнауэр Н. Ю.        | 462           |
| Иванов С. Ю.       | 432                | Кныш С. В.          | 305           |
| Иванова Е. В.      | 224, 626           | Княжева М. А.       | 397           |
| Иванова О. Ю.      | 284                | Князева Е. М.       | 669           |
| Иванова С. А.      | 451                | Кобызева П. А.      | 795           |
| Ивашкин В. Т.      | 276, 287           | Ковалева С. В.      | 308, 503, 867 |
| Ильичёв А. А.      | 1000               | Коваленко Е. А.     | 462           |
| Илюкина Н. А.      | 566                | Коваленко Е. И.     | 795           |
| Илюха В. В.        | 784                | Козелкова Е. В.     | 344, 362      |
| Инояттов А. Ш.     | 647                | Козлов А. П.        | 136           |
| Ираклионова Н. С.  | 786                | Козлов В. А.        | 168, 653      |
| Исенгулова А. А.   | 411, 548           | Козлова Т. Ю.       | 1018          |
| Исмоилова Д. У.    | 385                | Козлова Я. И.       | 311           |
| Ихтиярова Г. А.    | 435                | Колбин И. А.        | 798           |
| Ищенко А. М.       | 486, 728, 754      | Колбина Е. В.       | 798           |
| <b>К</b>           |                    | Коленчукова О. А.   | 801, 804      |
| Кабина Н. А.       | 927                | Колесников О. Л.    | 1063          |
| Кадочникова Я. А.  | 739                | Колесникова Н. В.   | 590           |
| Казанцева Д. В.    | 451                | Колобов А. А.       | 807           |
| Казимирский А. Н.  | 518                | Колобовникова Ю. В. | 496           |
| Каландарова А. Н.  | 290                | Коломоец И. И.      | 284           |
| Калашникова А. А.  | 293                | Коломоец И. И.      | 994           |

## Авторский указатель

|                     |               |                   |               |
|---------------------|---------------|-------------------|---------------|
| Колпаков С. А.      | 924           | Кулаков В. В.     | 733           |
| Колпакова Е. П.     | 924           | Кулакова Т. С.    | 299, 521      |
| Колыванова С. С.    | 605           | Кулешова Н. И.    | 792           |
| Кольцова Е. Н.      | 314           | Куликова Г. В.    | 267           |
| Комлева М. О.       | 317           | Куликова Е. В.    | 843           |
| Комлева Н. В.       | 317           | Кумыков В. К.     | 124           |
| Конаныхина С. Ю.    | 608           | Курилин В. В.     | 843, 945      |
| Кондаков С. Э.      | 1057          | Курчевенко С. И.  | 846           |
| Кондаков С. Э.      | 536           | Куст А. В.        | 344, 362      |
| Кондратьева Д. С.   | 849           | Л                 |               |
| Кондрашова Н. М.    | 772           | Ладынина Л. П.    | 801           |
| Коненков В. И.      | 769           | Лазанович В. А.   | 666           |
| Конищева А. Ю.      | 320, 388      | Лазарев А. И.     | 757           |
| Конопля А. А.       | 323, 882      | Лакницкая А. О.   | 203           |
| Конопля А. И.       | 371, 736      | Ларкин Б.         | 784           |
| Конопля Е. Н.       | 471, 810, 978 | Латышева Т. В.    | 614           |
| Конопля Н. А.       | 230, 1051     | Лаушкина Ж. А.    | 302           |
| Копейкин П. М.      | 710           | Лахман О. Л.      | 846           |
| Коркмазов А. М.     | 745           | Лахонина Н. С.    | 208           |
| Коркмазов М. Ю.     | 745           | Лебедев Л. Р.     | 575, 716, 792 |
| Корнетова Е. Г.     | 374, 451      | Лебедева А. И.    | 849           |
| Корнилова О. Г.     | 326           | Левкович А. Ю.    | 368           |
| Корнюшина Е. А.     | 632           | Левкович М. А.    | 365, 368      |
| Королевская Л. Б.   | 329, 515      | Леопова А. Ю.     | 1012          |
| Коростелев А. А.    | 617           | Леплина О. Ю.     | 423, 942      |
| Корошвили В. Т.     | 542           | Лиознов Д. А.     | 136           |
| Коршикова М. Ю.     | 578           | Липина Т. В.      | 638           |
| Коряушкина А. В.    | 251           | Литвинова Е. А.   | 713, 852      |
| Костевич В. А.      | 215           | Литвинова Е. С.   | 371           |
| Костоломова Е. Г.   | 332, 939      | Литвинова Л. С.   | 257           |
| Костюшко А. В.      | 335, 635      | Лобачева О. А.    | 374, 445      |
| Котикова А. И.      | 1045          | Логинова Ю. В.    | 377           |
| Коцарь А. Г.        | 611           | Локтионов А. Л.   | 380           |
| Коченгина С. А.     | 127           | Локтионова А. В.  | 380           |
| Кочуев С. С.        | 270           | Ломтатидзе Л. В.  | 308, 867      |
| Кравченко Л. В.     | 368           | Лопатникова Ю. А. | 650, 837      |
| Красильникова А. К. | 813           | Лосенок С. А.     | 810           |
| Красников В. Е.     | 666           | Лотош Н. Ю.       | 855           |
| Красницкая А. С.    | 338           | Лукина Г. В.      | 314           |
| Кречетова Л. В.     | 194, 341      | Лукоянова Л. А.   | 825           |
| Криволапова И. М.   | 816           | Лысак А. А.       | 187           |
| Кривонкина Е. А.    | 819           | Лысюк Е. Ю.       | 432           |
| Кривоносова О. А.   | 332           | Львова М. Н.      | 623           |
| Кривых М. А.        | 326           | Любимов Д. С.     | 383           |
| Кротенко Н. М.      | 242           | Лядова И. В.      | 870, 915      |
| Крошкина Н. В.      | 344, 897      | Ляшенко И. Э.     | 245           |
| Крукиер И. И.       | 347, 365      | М                 |               |
| Крячко О. В.        | 822, 825      | Маврин М. Ю.      | 975           |
| Кудревич Ю. В.      | 828, 831      | Магамедов И. Д.   | 1054          |
| Кудренко А. С.      | 673           | Магзумова Н. М.   | 385           |
| Кудрявцева Т. А.    | 834           | Мазурина С. А.    | 388           |
| Кудряшова А. В.     | 350, 353      | Мазуров В. И.     | 483           |
| Кузнецова Е. К.     | 828, 831      | Макарова А. Е.    | 168           |
| Кузнецова М. С.     | 650, 837      | Макарова Г. У.    | 1038          |
| Кузьменко Г. Н.     | 897           | Макеева О. В.     | 332           |
| Кузьмин М. Д.       | 474           | Максимов А. Ю.    | 775           |
| Кузьмина Н. С.      | 356           | Максимчик П. В.   | 858, 891      |
| Кузьмина У. Ш.      | 359           | Максютов Р. А.    | 945           |
| Кузьмичева Н. А.    | 411, 548      | Малиновская В. В. | 438           |
| Куклина Е. М.       | 725, 840      | Малков В. А.      | 305           |

## Авторский указатель

|                    |                 |                    |                    |
|--------------------|-----------------|--------------------|--------------------|
| Малова Е. С.       | 144             | Нарзуллаева Н. С.  | 435                |
| Мальшев М. Е.      | 483             | Невежкина Т. А.    | 581                |
| Мальшкина А. И.    | 192, 813        | Невинский Г. А.    | 242                |
| Мальшкина Д. А.    | 391             | Недоспасов С. А.   | 873, 876           |
| Мальцев В. Н.      | 611             | Некрасова И. В.    | 751                |
| Мандель А. И.      | 183             | Некрасова К. А.    | 728, 754           |
| Маркелова Е. В.    | 394, 584        | Нелюбин В. Н.      | 432                |
| Маркина Л. Д.      | 264             | Ненашева Т. А.     | 870, 915           |
| Маркова Е. В.      | 212, 397        | Нестерова И. В.    | 308, 438, 503, 867 |
| Мартынов А. И.     | 400             | Нефедьева Ю. В.    | 442                |
| Мартынов Б. В.     | 629             | Нечкин А. В.       | 1031               |
| Материкин А. И.    | 200             | Никашина А. А.     | 347                |
| Матросова Т. А.    | 299             | Никитин В. Ю.      | 455, 629           |
| Махалова Г. О.     | 245             | Никитина В. Б.     | 183, 445           |
| Машарский А. Э.    | 136             | Никитина И. Ю.     | 870, 915           |
| Машошина Д. О.     | 177             | Никитина С. Г.     | 273                |
| Медведева С. Ю.    | 861             | Никитина Т. Н.     | 1018               |
| Межевова И. В.     | 921, 924        | Никифоров В. С.    | 1042               |
| Мезенцева Е. А.    | 798             | Никифоров И. А.    | 224, 626           |
| Мелентьев В. С.    | 843             | Николаева М. А.    | 194, 341           |
| Меликян С. Г.      | 524             | Никонова С. Е.     | 506                |
| Менжинская И. В.   | 403             | Никонова Т. И.     | 377, 509, 912      |
| Меркулов В. А.     | 557             | Никушкина К. В.    | 509, 912           |
| Меркушова Е. Д.    | 406             | Новиков П. С.      | 1057               |
| Мещеряков А. В.    | 248             | Новикова И. А.     | 512                |
| Милеева П. Л.      | 409             | Новицкий В. В.     | 496, 966           |
| Милованова А. В.   | 278             | Новожеева Т. П.    | 669                |
| Мирзаева И. В.     | 462             | Нокель А. Ю.       | 267, 987           |
| Миронов А. Ю.      | 245             | Носенко М. А.      | 873, 876           |
| Миронова А. Р.     | 156             | Нохрин С. П.       | 1054               |
| Мирошниченко И. В. | 411, 548        | Нузова О. Б.       | 879                |
| Мирсяпова И. А.    | 1038            | <b>О</b>           |                    |
| Михайлова Е. А.    | 245             | Облеухова И. А.    | 843                |
| Михайлова И. В.    | 411, 548        | Обухова Л. Е.      | 620                |
| Михайлова Н. А.    | 448, 1012, 1015 | Огурцова А. Д.     | 614                |
| Михин В. П.        | 736             | Оленникова Р. В.   | 218                |
| Мишинов С. В.      | 933             | Олефир Ю. В.       | 326                |
| Мойсенович М. М.   | 873             | Олина А. А.        | 751                |
| Молокова А. В.     | 414, 417        | Омашарифа Ж. П.    | 323, 882           |
| Монахова В. С.     | 728             | Омельченко В. О.   | 653                |
| Мордвинов В. А.    | 623             | Орлов Д. С.        | 710                |
| Мордык А. В.       | 554             | Орлов Н. Б.        | 769                |
| Моренкова А. Ю.    | 420             | Орлова Е. С.       | 632                |
| Морозов С. А.      | 423             | Осиков М. В.       | 127, 885           |
| Морозова Н. В.     | 474             | Осипова И. В.      | 468                |
| Морозова О. В.     | 448             | Оспельникова Т. П. | 388, 448           |
| Москалец О. В.     | 426, 429        | Останин А. А.      | 142, 423, 942      |
| Мудров В. П.       | 432             | <b>П</b>           |                    |
| Мун С. А.          | 218             | Павленко В. Н.     | 867                |
| Мурашев Б. В.      | 136             | Панашатенко А. С.  | 353                |
| Мурашкин Н. Н.     | 200             | Панкратенко Т. Е.  | 426                |
| Муругин В. В.      | 858, 891        | Панова И. А.       | 350, 353           |
| Муругина Н. Е.     | 858, 891        | Панфилова Т. В.    | 527, 602           |
| Мусаходжаева Д. А. | 385, 435        | Панченко П. С.     | 924                |
| Муслимов С. А.     | 849             | Параскун А. А.     | 888                |
| Мухлынина Е. А.    | 864             | Паршукова Д. А.    | 451                |
| <b>Н</b>           |                 | Пасман Н. М.       | 139, 942           |
| Назаренко О. В.    | 136             | Патрушев А. В.     | 455                |
| Назаров С. Б.      | 897             | Патышева М. Р.     | 459, 569           |
| Наймушина Ю. В.    | 936             | Пашкина Е. А.      | 168, 462           |

## Авторский указатель

|                    |           |                   |               |
|--------------------|-----------|-------------------|---------------|
| Пашкова И. А.      | 590       | Ромашин Ф. А.     | 760           |
| Пашкова Т. М.      | 474       | Рудницкий В. А.   | 445           |
| Пашнина И. А.      | 465, 816  | Рудобаба Е. Л.    | 786           |
| Пашенко А. Л.      | 951       | Рузибакиева М. Р. | 499           |
| Пашенков М. В.     | 858, 891  | Русанова Т. С.    | 578           |
| Пенечко Е. М.      | 533       | Русинова Т. В.    | 503, 867      |
| Первов Ю. Ю.       | 338       | Рыбчинская И. И.  | 906           |
| Первозчикова Т. В. | 669       | Рыжикова Г. Н.    | 994, 1051     |
| Перунова Н. Б.     | 156, 626  | Рябова Л. В.      | 506, 509      |
| Петричук С. В.     | 200       | Рябчикова Е. И.   | 575           |
| Петров А. В.       | 807       | С                 |               |
| Петров С. А.       | 954       | Сабыныч В. А.     | 587           |
| Петров Ю. А.       | 347       | Савкин И. В.      | 212           |
| Петухова Е. С.     | 1012      | Савочкина А. Ю.   | 236, 912      |
| Пивоварова Л. П.   | 468, 1054 | Савчук К. С.      | 509           |
| Пинегин Б. В.      | 858, 891  | Сагакянц А. Б.    | 512, 921      |
| Плеханова Н. Г.    | 1015      | Садыгова А. В.    | 362           |
| Плехова Н. Г.      | 480, 772  | Садыкова Г. К.    | 751           |
| Плотникова М. О.   | 927       | Сазонова Т. А.    | 807           |
| Поздина В. А.      | 894       | Сайдакова Е. В.   | 329, 515      |
| Поленок Е. Г.      | 218       | Салмаси Ж. М.     | 518           |
| Полоников А. В.    | 530       | Самойликов П. В.  | 909           |
| Полторак А. Е.     | 236       | Самусева И. В.    | 912           |
| Полторак А. Н.     | 784       | Сапожников А. М.  | 719           |
| Польща Н. Г.       | 299, 521  | Саранчина Ю. В.   | 299, 521      |
| Поляков Д. В.      | 471, 810  | Саркисян Н. Г.    | 524           |
| Понасенко А. В.    | 617       | Сарычева Ю. А.    | 527, 602      |
| Пономарева Н. А.   | 284       | Сахно Л. В.       | 903, 997      |
| Попова И. Г.       | 897       | Свиридов В. В.    | 356           |
| Попова Л. Л.       | 281       | Свитич О. А.      | 406, 596, 614 |
| Попова Л. П.       | 474       | Святченко В. А.   | 722           |
| Попова М. М.       | 921       | Селедцова Г. В.   | 957, 960      |
| Порядин Г. В.      | 518       | Селищева А. А.    | 855           |
| Прокопьева В. Д.   | 183       | Сельцов С. А.     | 632           |
| Прокофьева Ю. В.   | 736       | Семенихин А. А.   | 394           |
| Пролыгина Д. Д.    | 789, 1038 | Семенова И. Б.    | 1012          |
| Пронкина Н. В.     | 423       | Семке А. В.       | 242, 374      |
| Просекова Е. В.    | 233, 477  | Сенников С. В.    | 302, 837      |
| Прохорова А. П.    | 784       | Сенникова Ю. А.   | 650, 707      |
| Пушкарева Л. А.    | 411, 548  | Сердюк Я. В.      | 870, 915      |
| Пыхова Л. Р.       | 236       | Серёжкина А. В.   | 530           |
| Пятикова М. В.     | 368       | Серёжкина А. С.   | 171           |
| Р                  |           | Серикова Л. Н.    | 736           |
| Рагимбекова М. Р.  | 174       | Серова Т. А.      | 539, 608      |
| Рагулина В. А.     | 975, 994  | Сидлецкая К. А.   | 187           |
| Радаева О. А.      | 900       | Сидоров А. В.     | 278, 1012     |
| Раджабова Н. Р.    | 563       | Сидорова Л. П.    | 766           |
| Радьгина Т. В.     | 200       | Сидорова О. Н.    | 581           |
| Радьков И. В.      | 480       | Сизиков А. Э.     | 420, 707      |
| Раев М. Б.         | 257       | Сизякина Л. П.    | 254, 533, 918 |
| Раймуев К. В.      | 483       | Силков А. Н.      | 945           |
| Рак А. Я.          | 486       | Симашкова Н. В.   | 273           |
| Ращупкин И. М.     | 903       | Симбирцев А. С.   | 728, 754, 900 |
| Ремизова И. И.     | 489, 641  | Симонян Е. В.     | 885           |
| Родин С. В.        | 728, 754  | Ситдикова Т. С.   | 477           |
| Рожков А. В.       | 347       | Ситковская А. О.  | 921, 924      |
| Рокотянская Е. А.  | 350, 353  | Ситникова А. В.   | 966           |
| Романов В. А.      | 492, 494  | Ситникова О. Г.   | 897           |
| Романова Е. В.     | 496       | Скирневская А. В. | 536           |
| Романова Н. В.     | 492, 494  | Слатинова О. В.   | 539, 608      |

## Авторский указатель

|                     |               |                   |                    |
|---------------------|---------------|-------------------|--------------------|
| Слащева О. М.       | 293           | Тараканов В. А.   | 503, 867           |
| Слонимская Е. М.    | 459           | Таран А. М.       | 825                |
| Смахтин М. Ю.       | 542, 644      | Ташкина Е. А.     | 942                |
| Смахтина А. М.      | 542, 644      | Телегина О. В.    | 284                |
| Смердова М. А.      | 1021          | Телешева Л. Ф.    | 251, 936           |
| Смирнов В. С.       | 834           | Темиржанова Ф. Х. | 174                |
| Смирнова А. В.      | 362           | Тендрякова С. П.  | 972                |
| Смирнова А. О.      | 719           | Терещенко В. П.   | 843, 945           |
| Смирнова Л. П.      | 242, 451      | Терещенко С. Ю.   | 545, 948           |
| Смирнова С. В.      | 147, 150, 804 | Терновой В. А.    | 722                |
| Смольникова М. В.   | 545, 948      | Тетрашвили Н. К.  | 194, 341           |
| Смолягин А. И.      | 317, 548      | Тимганова В. П.   | 257                |
| Смык А. В.          | 551           | Тимофеев В. Т.    | 208                |
| Снимщикова И. А.    | 927           | Тихонов В. В.     | 411                |
| Сокол Н. Н.         | 554           | Тихонова М. А.    | 420, 903           |
| Соколов А. В.       | 215           | Ткачёва А. Р.     | 1063               |
| Соколова К. В.      | 930           | Тлакадугова М. Т. | 963                |
| Соколова Т. Ф.      | 554           | Токарева А. А.    | 527, 602           |
| Солдатенкова А. В.  | 1015          | Топтыгина А. П.   | 1021               |
| Солдатов А. А.      | 133, 557      | Торопицын С. А.   | 206                |
| Соловьева Е. Д.     | 933           | Трофимов А. В.    | 162, 486, 728, 754 |
| Соловьева Э. Ю.     | 560           | Трунов А. Н.      | 769                |
| Солонский А. В.     | 673           | Тузанкина И. А.   | 524, 1034          |
| Сорока В. В.        | 1054          | Тулупова М. С.    | 581, 635           |
| Сорокин А. В.       | 1051          | Туляев Я. А.      | 984                |
| Сотникова Д. Д.     | 335           | Туркина С. В.     | 786                |
| Сотникова Н. Ю.     | 563, 813      | Турмова Е. П.     | 584                |
| Стадников А. А.     | 411, 879      | Турянская А. И.   | 477, 587           |
| Станкова Н. В.      | 162           | Тыринова Т. В.    | 903, 933           |
| Старикова Э. А.     | 834           | Тюменцева Н. В.   | 1048, 1060         |
| Старкина О. В.      | 566           | Тютюмова Е. А.    | 560                |
| Старостина Е. В.    | 1003, 1024    | <b>У</b>          |                    |
| Старостина Н. М.    | 423           | Ульянова Е. П.    | 512                |
| Стахеева М. Н.      | 459, 569      | Ульянова Л. И.    | 162                |
| Стаценко К. Г.      | 921           | Унгер И. Г.       | 332, 939           |
| Сташкевич Д. С.     | 159, 572      | Уразова О. И.     | 496, 966           |
| Степанов О. Г.      | 438           | Устинов В. А.     | 221                |
| Степанова Л. В.     | 804           | Учеваткина А. Е.  | 311                |
| Столяр С. В.        | 801           | <b>Ф</b>          |                    |
| Стрельцова М. А.    | 795           | Федин А. И.       | 560                |
| Студеникин А. В.    | 879           | Федоренко Т. В.   | 590                |
| Студенников А. Е.   | 221           | Федорина А. С.    | 719                |
| Ступак В. В.        | 933           | Федоров А. А.     | 459                |
| Суздальцев А. А.    | 281           | Федорова А. В.    | 593                |
| Сулутьян А. Э.      | 420           | Федоскова Т. Г.   | 400                |
| Сумеркина В. А.     | 936           | Феофанова Т. В.   | 400                |
| Суняйкин К. И.      | 644           | Фетисова И. Н.    | 409                |
| Суняйкина О. А.     | 177           | Филатенкова Т. А. | 710                |
| Суслова Т. А.       | 572           | Филина А. Б.      | 596                |
| Сутормин О. С.      | 804           | Филипенко М. Л.   | 218, 227           |
| Сухарев А. В.       | 455           | Филиппова Л. В.   | 311                |
| Сухарева М. С.      | 710           | Филиппова С. Ю.   | 921                |
| Сухачев А. Н.       | 710           | Филиппова Ю. В.   | 602, 879           |
| Сухина И. А.        | 455, 629      | Филиппова Ю. Ю.   | 599                |
| Суховой Ю. Г.       | 332, 939      | Фисенко В. Г.     | 951                |
| Сысоева Г. М.       | 575, 792      | Фишер И. В.       | 954                |
| Сычугов Г. В.       | 831           | Фишер Т. А.       | 605, 954           |
| <b>Т</b>            |               | Фоменков И. С.    | 432                |
| Тарабановская Н. А. | 459, 569      | Фомина Л. О.      | 778, 781           |
| Тарабрина О. В.     | 578           | Фомина М. В.      | 245                |

## Авторский указатель

|                    |               |                   |           |
|--------------------|---------------|-------------------|-----------|
| Фомина О. И.       | 951           | Чурина Е. Г.      | 966       |
| Фошина Е. П.       | 539, 608      | Чурсанова Е. Н.   | 719       |
| Фролов Б. А.       | 527           | <b>Ш</b>          |           |
| Фролова Е. В.      | 311           | Шабалдин А. В.    | 227, 617  |
| <b>Х</b>           |               | Шабалдина Е. В.   | 227       |
| Хабалова Т. С.     | 957, 960      | Шамова О. В.      | 710       |
| Хабирова Т. Г.     | 483           | Шандаков П. И.    | 299, 521  |
| Хаджибаев Ф. А.    | 499           | Шапошников А. В.  | 512       |
| Хазиахматова О. Г. | 257           | Шаравьева И. Л.   | 969, 972  |
| Хайруллина Р. М.   | 1038          | Шарипова В. Х.    | 499       |
| Халтурина Е. О.    | 438           | Шаропов С. Г.     | 647       |
| Хамошина М. Б.     | 581           | Шарутин В. В.     | 1063      |
| Ханарин Н. В.      | 299, 521      | Шатохин М. Н.     | 611, 975  |
| Хантакова Ю. Н.    | 843, 945      | Шафигуллина З. А. | 861       |
| Хараева З. Ф.      | 963           | Швец О. Ю.        | 332       |
| Харина А. С.       | 335           | Шевела Е. Я.      | 903, 997  |
| Харитоновна М. В.  | 918           | Шевченко М. А.    | 719       |
| Хасанова Е. М.     | 406           | Шевченко Ю. А.    | 650       |
| Хасбиуллина Н. Р.  | 267, 987      | Шевырев Д. В.     | 653       |
| Холименко И. М.    | 611           | Шелухина А. Н.    | 978       |
| Хоменко Р. М.      | 822           | Шибзухова Л. А.   | 124       |
| Хонина Н. А.       | 139, 593      | Шилов Д. Ю.       | 981       |
| Хорева М. В.       | 614           | Шилов С. Ю.       | 981, 984  |
| Хорляков К. В.     | 975           | Шилов Ю. И.       | 981, 984  |
| Хорлякова О. В.    | 230           | Шилова Н. В.      | 267, 987  |
| Храмцов П. В.      | 257           | Ширинский В. С.   | 657       |
| Храмцова Ю. С.     | 1060          | Ширинский И. В.   | 165, 660  |
| Худякова М. И.     | 536           | Ширшов О. В.      | 411       |
| Хуснатдинова Е. А. | 326           | Ширяева А. В.     | 305       |
| <b>Ц</b>           |               | Шишкова Ю. С.     | 798, 1063 |
| Цейтлер Т. А.      | 766           | Шкаруба Н. С.     | 707       |
| Цепокина А. В.     | 227, 617      | Шкатова Н. Г.     | 906       |
| Цигулева О. А.     | 620           | Шлепотина Н. М.   | 1063      |
| Цыганов М. А.      | 623           | Шляхтенко Т. Н.   | 632       |
| <b>Ч</b>           |               | Шмагель К. В.     | 515, 990  |
| Чагина Е. А.       | 335, 951      | Шмагель Н. Г.     | 515       |
| Чайникова И. Н.    | 224, 626      | Шмидт Е. И.       | 314       |
| Чеканов А. В.      | 560           | Шмулевич С. А.    | 227, 617  |
| Челпаченко О. Е.   | 224, 626      | Шнайдер М. А.     | 663       |
| Чемодакова К. А.   | 629           | Шомахова З. А.    | 963       |
| Чепанов С. В.      | 632           | Шорохова В. А.    | 870       |
| Чепурнова Н. С.    | 635           | Штоббе А. А.      | 423       |
| Чердынцева Н. В.   | 459, 569      | Шульгинова А. А.  | 177, 994  |
| Черевко Н. А.      | 536, 1057     | Шуматов В. Б.     | 480, 666  |
| Черешнев В. А.     | 739, 816      | Шушпанова О. В.   | 669       |
| Черешнева М. В.    | 739           | Шушпанова Т. В.   | 669, 673  |
| Чернов С. В.       | 933           | <b>Щ</b>          |           |
| Черных В. В.       | 769           | Щеглова Е. Л.     | 554       |
| Черных Е. Р.       | 420, 423      | Щеголев А. И.     | 267       |
| Честнихина А. Д.   | 927           | <b>Ю</b>          |           |
| Четвернина Е. А.   | 236           | Юдина С. М.       | 578, 819  |
| Чижова Н. Д.       | 638           | Юрова К. А.       | 257       |
| Чистякова Г. Н.    | 489, 641      | Юшков Б. Г.       | 1048      |
| Чкадуа Г. З.       | 858, 891      | <b>Я</b>          |           |
| Чудилова Г. А.     | 308, 503, 867 | Яковлев А. А.     | 335       |
| Чудотворов К. Н.   | 632           | Яковлева О. В.    | 864       |
| Чуланова А. А.     | 542, 644      | Янишевская М. А.  | 1045      |
| Чумакова С. П.     | 966           | Янковская А. А.   | 997       |
| Чумасова О. А.     | 420, 707      |                   |           |