

ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

ИММУНОЛОГИЯ ИНФЕКЦИЙ

ОЦЕНКА СИСТЕМЫ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ПРИ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

Байбарина Е.В., Чепурнова Н.С., Невежкина Т.А.,
Бирко О.Н., Кныш С.В.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, Владивосток, Россия

Введение. Система металлопротеиназ (ММП) – это совокупность острофазных белков, вырабатываемых преимущественно индуцибельно (за исключением ММП-2) при физиологических и патологических процессах и состояниях. Представлены данные о регуляции экспрессии ММП цитокинами и факторами роста (Рогова Л.Н. и соавт., 2011). Однако отсутствует единое мнение о роли системы металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов (ТИМП) при герпетической инфекции.

Цель. Проанализировать уровень ММП-2, ММП-8, ММП-9 и их тканевых ингибиторов ТИМП-1, ТИМП-2 и ТИМП-3 при рецидивирующем герпесе разной степени тяжести.

Материалы и методы. Обследовано 79 пациенток с клиническими проявлениями рецидивирующей герпетической инфекции (основная группа): из них 29 чел. с легким течением; 27 чел. – с рецидивами средней тяжести и 23 чел. – с тяжелой герпетической инфекцией. Группой сравнения служили пациентки с латентной герпетической инфекцией (26 чел.) и здоровые женщины без клиническо-лабораторных проявлений герпеса (20 чел.). Обследование пациенток основной группы проводили в период обострения инфекции (1-2 сутки). Металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы в сыворотке крови определяли методом сэндвич-варианта ИФА с применением специфических реактивов R&D Diagnostic Inc. (США). Статистическую обработку результатов проводили параметрическими методами с использованием программы SPSS v.16.

Результаты. Выявлено увеличение ММП-2, ММП-8, ММП-9 и дефицит ТИМП-3 в сыворотке крови женщин при тяжелом течении герпетической инфекции. При герпетической инфекции средней степени тяжести ММП-2 была повышена у 40%, ММП-9 – у 70% обследованных, тогда как содержание ТИМП-1 и ТИМП-2 было снижено. При легкой степени тяжести герпетической инфекции определена относительная недостаточность ТИМП-1 и повышены ММП-9. Аналогичные изменения в системе протеиназ получены при латентной инфекции.

Заключение. Выявлены нарушения в системе металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов, сопровождающиеся тяжестью течения рецидивирующей герпетической инфекцией. Это подтверждает их роль в патогенезе за-

болевания. Установлены особенности в уровне и векторе изменений ММП-2, ММП-8, ММП-9 и их тканевых ингибиторов 1, 2 и 3 типов в зависимости от степени тяжести болезни, что позволяет разработать дополнительные диагностические критерии.

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ И МОНОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С *H. PYLORI*-АССОЦИИРОВАННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЖЕЛУДКА И 12-ПЕРСТНОЙ КИШКИ

Гвоздев И.И.

Научно-исследовательский институт медицинских
проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

В ответ на повреждение штаммами *H. pylori* эпителия желудка развивается воспалительный процесс различной степени активности, низкая фагоцитарная активность не дает возможности полностью элиминировать микроорганизм.

Цель. Определить активность фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов крови у детей с *H. pylori*-ассоциированным поражением желудка и 12-перстной кишки

Объектами исследования служили нейтрофильные гранулоциты и моноциты крови, выделенные у 26 лиц с эрозивно-язвенным поражением желудка и 12-перстной кишки в возрасте от 11 до 18 лет и 25 практически здоровых лиц, у которых было исключено эрозивно-язвенное поражение желудка и 12-перстной кишки в аналогичном возрастном диапазоне. Исследование кислородозависимого фагоцитоза моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов крови в норме и при эрозивно-язвенных поражениях желудка и 12-перстной кишки проводили хемилюминесцентным методом.

Сравнительное изучение респираторной активности общей фракции нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов крови у больных с эрозивно-язвенным поражением желудка и 12-перстной кишки показало увеличение интенсивности в люминол-зависимом спонтанном и зимозан-индуцированном процессе, достоверно повышен у нейтрофильных гранулоцитов, при этом площадь под кривой снижена относительно общей фракции моноцитов крови. Исследование люцигенин-зависимого процесса показало достоверное повышение активности общей популяции нейтрофильных гранулоцитов (интенсивность и площадь под кривой) как при спонтанной реакции, так и в зимозан-индуцированном процессе относительно моноцитов крови. При этом повышен индекс активации в нейтрофилах. Обнаружено, что в спонтанном процессе и при индукции «респираторного взрыва» активность НАДФН-оксидазы увеличивается в нейтро-

филах и снижается в моноцитах. Также в нейтрофилах увеличивается величина индекса активации в люцигенин-зависимой хемилюминесценции, которая характеризует уровень метаболических резервов для синтеза соответствующих активных форм кислорода.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 16-44-240668 и Краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности».

ИММУННЫЙ СТАТУС, СИСТЕМА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, ФАКТОРЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ С РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Гизингер О.А., Зиганшин О.Р., Шеметова М.А.

ФГОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск, Россия

Введение. До 26-28% пациентов страдают рецидивирующими формами герпесвирусной инфекции, у 30-33% из них инфекция протекает в субклинической и латентной формах. Окислительный стресс – важный патогенетический фактор заболеваний, вызванных герпесвирусами, поэтому в изучении механизмов формирования хронической инфекционной патологии, в том числе герпесвирусной инфекции важная роль отводится выраженности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состоянию антиоксидантной защиты организма.

Цель. Изучить состояние факторов врожденного иммунитета, процессы свободнорадикального окисления и состояния антиоксидантной системы при рецидивирующей герпесвирусной инфекции у женщин репродуктивного возраста.

Задачи. Изучить состояние функционально-метаболического статуса нейтрофильных гранулоцитов периферической крови женщин с генитальным герпесом, выявить особенности протекания свободнорадикальных процессов состояния антиоксидантной системы при рецидивирующей герпес-вирусной инфекции у женщин репродуктивного возраста.

Материалы и методы. проведено исследование 55 женщин с герпесвирусной инфекцией мочеполовой системы. Критериями включения в исследование являлись: наличие ВПГ-2, подтверждённое методом ПЦР, наличие в анамнезе герпетического поражения половых органов; клиническая картина рекуррентного герпеса половых органов в периоде продромы или обострения, при этом не более 48 часов от момента появления высыпаний, частота рецидивов от 6 до 8 в год, репродуктивный возраст, согласие пациенток на участие в исследовании. межрецидивный период – 2-3 мес. Исследование иммунного статуса включало подсчёт с помощью проточной цитометрии качественного и количественного состава лейкоцитов крови, их фагоцитарной активности, кислородзависимый метаболизм в НСТ-тесте, определение содержания ИЛ-2. Состояние ПОЛ определяли по уровню малонового диальдегида (МДА) в плазме крови. Состояние антиоксидантной системы определяли по содержанию церулоплазмينا в плазме крови и активности каталазы эритроцитов. Кровь больных обследовали в период обострения герпетической инфекции, угасания клинической симптоматики и ремиссии. Полученные данные обработаны с помощью компьютерных программ Microsoft и Excel Statistica с применением метода вариационной статистики

Результаты. Изучение функционально-метаболического статуса нейтрофилов по анализу показателей спонтанного НСТ-теста показало: у больных герпесвирусной инфекцией выявлено повышение значений НСТ-теста лейкоцитов в плазме крови. В период клинического улучшения общего состояния параллельно с положительной клинической динамикой наблюдалось снижение показателей НСТ-теста, активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофилов периферической крови, снижение концентрации интерлейкина-2. У пациентов с генитальным герпесом зарегистрировано повышение малонового диальдегида, что может служить показателем усиления процессов пероксидации липидов. Отмечено повышение концентрации церулоплазмينا у всех обследуемых больных. При изучении активности внутриклеточного антиоксиданта каталазы эритроцитов у больных с герпесвирусными инфекциями отмечено ее достоверное повышение.

Заключение. При герпесвирусной инфекции обнаружено усиление процессов свободнорадикального окисления липидов, повышение функциональной активности нейтрофилов, нарушению концентрации интерлейкина-2, дисбалансу антиоксидантной системы крови.

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В ИМУННОМ ОТВЕТЕ ПРИ ГРИППЕ У ДЕТЕЙ

Головачёва Е.Г., Афанасьева В.С., Осидак Л.В., Афанасьева О.И.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Известно, что при гриппе при адекватном иммунном ответе в основном происходит активация Тх1-типа иммунного ответа (ИО), что соответствует заболеванию средней степени тяжести и способствует более быстрому выздоровлению. Однако одним из факторов тяжелого течения гриппа может стать активация Тх2-типа иммунного ответа.

Цель. Изучить особенности цитокинового профиля у детей при гриппе в зависимости от типа иммунного ответа с оценкой его влияния на характер течения заболевания для обоснования терапии препаратами интерферона и его индукторами.

Материалы и методы. В течение нескольких эпидемиологических сезонов обследовано 1230 пациентов в возрасте от 1 до 17 лет с верификацией вируса гриппа методами ПЦР и ИФЛ в соскобах из носовых ходов. Также были обследованы 97 здоровых детей. У пациентов в сыворотке крови (метод ИФА, наборы ООО «Цитокин», Санкт-Петербург) при поступлении и в период реконвалесценции определяли содержание общего IgE и цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1ra, а IFNγ, ИЛ-4 и ИЛ-10 еще на 3-й день заболевания. Тип иммунного ответа определяли по предложенным авторами (2014 г.) коэффициентам поляризации (КП), полученными при расчете $KП1 = ИЛ-4/IFNγ$ и $KП2 = ИЛ-10/IFNγ$.

Результаты и обсуждение. Показано, что у детей при гриппе средней тяжести в сыворотке крови содержание цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-10 было повышено на фоне снижения IFNγ. При величине КП1 и КП2 меньше 2 определялся Тх1-тип ИО в 64% случаев, от 2 до 3 – смешанный Тх1/Тх2-тип в 13,4% случаев, а при КП больше 3 – Тх2-тип в 22,6% случаев. Выявлено, что у детей младшего возраста до 6 лет при гриппе с более выраженной интоксикацией, а также при развитии бронхолегочных

осложнений в 57,5% случаев определялся Тх2-тип ИО на фоне повышения содержания общего IgE в сыворотке крови. У пациентов с Тх2-типом ИО при наличии фоновой аллергопатологии, особенно у детей младшего возраста, при умеренном повышении изученных цитокинов в 34% случаев развивался синдром крупа или вирусиндуцированной бронхообструкции. В 87% случаев при увеличении КП1 и КП2 более чем в 3-4 раза на 3-й день заболевания по сравнению с первым исследованием синдромы как крупа, так и бронхообструкции после купирования могли развиваться повторно на 5-6 день, что позволяет использовать данные показатели для прогнозирования рецидива при гриппе. При Тх2-типе ИО было отмечено повышение содержания IL-1 β \geq 70 пг/мл и его рецепторного антагониста IL-1ra \geq 300 пг/мл при уровне у здоровых детей 15,8 \pm 2,4 и 132,3 \pm 13,7 пг/мл соответственно. При развитии синдромов обструкции и/или бактериальных осложнений отмечалось статистически значимое увеличение содержания цитокинов IL-6 и IL-8 по сравнению с Тх1-типом ИО независимо от возраста. У детей, получавших с первых дней заболевания гриппом препараты рекомбинантного интерферона α 2 β (Генферон Лайт и Гриппферон капли в нос) и индуктор интерферона (Кагоцел с 3-х лет) показана хорошая клиническая эффективность, а также значимое снижение содержания IL-4, IL-10, IL-6, IL-8 на фоне незначительного роста содержания IFN γ и рецепторного антагониста IL-1ra.

Выводы. Полученные данные более быстрого восстановления дисбаланса цитокинового профиля у пациентов, получавших изученные препараты, свидетельствовали о преимущественной активации клеточного Тх1 типа ИО и завершении воспалительных реакций за счет противовирусного и иммуномодулирующего действия интерферонов. Клинически это соответствовало более быстрому выздоровлению с уменьшением риска развития синдромов обструкции и бактериальных осложнений, что позволяет рекомендовать раннее применение препаратов интерферона и индуктора интерферона для коррекции типа иммунного ответа при гриппе у детей.

СЕПТИЧЕСКИЙ ШОК: ДВЕ СТРАТЕГИИ ЦИТОКИНОВОГО ОТВЕТА

Зотова Н.В.^{1,2}, Гусев Е.Ю.^{1,2}

¹Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия
²ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Вот уже четверть века патогенез сепсиса рассматривается с позиции системной воспалительной реакции (СВР) и «цитокинового шторма». Это предопределяет учет фазности продукции провоспалительных (например, IL-6, IL-8, TNF α) и противовоспалительных цитокинов (например, IL-10). Концепция компартиментализации предполагает «мозаичность» продукции цитокинов и других медиаторов воспаления во времени и пространстве организма. Такую мозаичность мы рассматриваем в зависимости от критических стадий клеточного стресса, а именно: гиперэргической (стратегия резистентности на действие повреждающего фактора) и депрессивной (стратегия толерантности). Обе стадии характеризуются дисфункцией клеток микрососудов и развитием микроциркуляторных расстройств, но вторая фаза, кроме того, и неспособностью генерировать как провоспалительный,

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ ЗОТОВОЙ Н.В. И ДР.)

Медиаторы	ТПСШ	ОСШ
IL-6	410,06 \pm 1376,55	4168, 86 \pm 5289,08
	75,10/59,60 \div 99,00	2583,50/ 341,00 \div 4074,00
IL-8	140,46 \pm 157,23	698,57 \pm 690,14
	65,90/48,10 \div 185,00	493,00/ 149,00 \div 999,00
IL-10	11,25 \pm 10,35	116,51 \pm 95,40
	7,80/4,90 \div 11,90	93,20/ 47,60 \div 176,00
TNF α	17,99 \pm 7,01	258,28 \pm 616,42
	17,80/15,50 \div 20,00	45,50/ 26,00 \div 141,00
СРБ	206,23 \pm 205,68	253,43 \pm 164,39
	111,00/85,00 \div 251,00	282,50/ 108,00 \div 340,00

Примечание. В верхних строках по каждому медиатору указаны M \pm σ , в нижних – Me/25%-75% процентиля. Жирным наклонным шрифтом выделены показатели, по которым группы отличаются статистически значимо: непараметрический метод по Манну–Уитни для сравнения медиан (U-тест, p < 0,005) и параметрический t-тест для сравнения средних (p < 0,05).

так и противовоспалительный цитокиновый ответ. С наибольшей очевидностью эти закономерности проявляются при развитии септического шока (СШ).

Цель. Выявить отличительные особенности цитокинового ответа при двух вариантах септического шока – острым и подострым/затяжном его течении.

Методы. Концентрацию цитокинов (IL-6, IL-8, IL-10, TNF α) и С-реактивного белка, в плазме крови определяли иммунохемилюминесцентным методом с использованием системы Immulite (Siemens Medical Solutions Diagnostics, USA). В группе доноров крови (контроль, средний возраст (M \pm σ) – 34,1 \pm 10,4, n = 50) концентрации интерлейкинов и СРБ не превышали нормальных значений (IL-6, IL-10 < 5 пг/мл; IL-8 < 10 пг/мл, СРБ < 10 мг/л), TNF α > 8 пг/мл в 2% случаев. Группы обследованных в работе пациентов: острый септический шок (ОСШ), 1-2-е сут. от момента госпитализации, наличие гипотензии, не купируемой вазопрессорами, n = 14, возраст – 54,9 \pm 16,4 года, 28-суточная летальность – 71,43%; третичный перитонит, затяжное и подострое течение септического процесса – более 14 сут. от момента госпитализации, СШ (ТПСШ), n = 17, средний возраст – 50,2 \pm 5,6 года, летальность – 94,12%. Статистический анализ проводили с применением программы Statistica 6,0 (Stat Soft, Inc., USA).

Результаты. В обеих группах пациентов с СШ определяли превышение уровня всех исследуемых медиаторов в сотни и тысячи раз от уровня контроля (табл.). Уровень цитокинемии при ОСШ многократно и значимо выше, чем при ТПОШ, при этом кратность различий снижается в ряду: IL-6 > IL-10 > IL-8 > TNF α . Отличия по показателю острофазного ответа (СРБ) – не достоверны. Установлены корреляционные связи (r-Спирмана \geq 0,5, p < 0,05) уровня IL-10 со всеми цитокинами в группе ОСШ (3 связи), в группе ТПСШ – только с уровнями IL-6 и СРБ (2 связи).

Заключение. Септический шок при затяжном и подостром течении сепсиса в сравнении с ОСШ характеризуется сравнимо высокой летальностью пациентов, существенно меньшим уровнем цитокинемии как в отношении провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, TNF α), так и противовоспалительных цитокинов (IL-10, IL-1ra).

палительного цитокина (IL-10), при снижении корреляционных связей между IL-10 с другими цитокинами. В этом случае, патогенез критического состояния можно характеризовать с позиции возрастания роли депрессивной фазы системного клеточного стресса: преобладание стратегии толерантности над стратегией резистентности клеточного ответа на действие системных повреждающих факторов. При этом СШ при подостром и затяжном течении сепсиса отличается крайней степенью критичности состояния пациентов (летальные исходы у 16 из 17 пациентов). Считаем, что стадийность патогенетических изменений при СШ целесообразно рассматривать с позиции иммуносупрессии как фазоспецифичного феномена. При описании патогенеза СШ шока корректней применять термин «дисфункция иммунной системы», которая определяется, в том числе, и эффектами поликлональной активации лимфоцитов. В свою очередь, несостоятельность антимикробной защиты организма при СШ определяется не только состоянием лимфоидной ткани, но и нарушением микроциркуляции, барьерных и гомеостатических функций многих органов систем, связанных с развитием системного провоспалительного клеточного стресса в ответ на системный характер действия повреждающих факторов.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В19 ПРИ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Зыкова Т.А., Шевякова Е.А., Лысенко И.Б., Кузнецов С.А.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Введение. Парвовирусная инфекция В19 (ПВИ) является одним из серьезнейших факторов риска возникновения осложнений для лиц со злокачественными гематологическими заболеваниями: инфицирование данным возбудителем зачастую происходит при гемотрансфузиях и при терапии препаратами иммуноглобулинов, вызывая в итоге тяжелые анемии, панцитопении и апластические кризы. В литературе активно обсуждается необходимость мониторинга таких пациентов на наличие острой формы ПВИ, однако на территории РФ сведения о ее распространенности в онкогематологии на данный момент весьма разрозненны и малочисленны.

Цель. Определение уровня серопревалентности к парвовирусу В19 (ПВ В19) и частоты проявления острых форм ПВИ среди онкогематологических больных, проходивших стационарное лечение и обследование в ФГБУ «РНИОИ» Министерства здравоохранения РФ в 2016-2017 гг.

Материалы и методы. Определяли уровень IgM и IgG к ПВ В19 в сыворотках крови методом твердофазного ИФА. Образцы цельной крови, а также пунктаты костного мозга 21 человека из данной выборки были дополнительно протестированы на наличие ДНК ПВ В19 методом ПЦР в режиме реального времени. Всего в исследование были включены 70 человек.

Результаты. Их общего числа больных 50 было с лимфомами, 15 с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) и хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ), 5 с множественной миеломой (ММ). Детей было 17, средний возраст 9 лет, взрослых – 53, средний возраст 50 лет. Уровень серопозитивности по ПВ В19 среди онкогематологических больных составил 66%, максимальным он оказался

в группе больных ММ – 80%, при лимфомах он составил 76%, и при различных формах лейкозов – лишь 27%. При этом уровень IgG в целом колебался в пределах 24,9-443,1 Ед/мл, составив в среднем 167,7 Ед/мл. Уровень инфицированности различался по возрастам: среди детей он составил 29%, взрослых – 75%.

О наличии острой формы заболевания (реактивации или первичного инфицирования) судили по присутствию у пациента IgM к ПВ В19 и/или ДНК возбудителя. Данные маркеры были выявлены у 26% больных (56,2 Ед/мл), во всех случаях – на фоне наличия IgG, что свидетельствует о процессах реактивации, а не первичной инфекции. При этом у 21% обследованных была обнаружена ДНК ПВ В19, а IgM были выявлены лишь у 6%, из чего следует необходимость не только серологического, но и ПЦР-анализа при мониторинге онкогематологических больных. У детей маркеры острой ПВИ обнаружены не были, у взрослых они наблюдались в 34% случаев. Из 21 больного, обследованного на наличие ДНК ПВ В19 параллельно в крови и в пункциях костного мозга, в абсолютном большинстве случаев возбудитель выявлялся в пунктатах (67%), тогда как в крови – лишь в 5% случаев; одновременно в крови и в костном мозге – также у 5%. Это свидетельствует о необходимости исследования всех возможных видов биологического материала. Необходимо отметить, что наибольшая частота выявления маркеров острого заболевания наблюдалась у пациентов с лимфомами (36%), при ММ – у 20% больных, при лейкозах IgM и/или ДНК ПВ В19 в данном исследовании обнаружены не были.

Заключение. Был определен уровень серопревалентности к ПВ В19 среди онкогематологических больных: в среднем он составил 66%, у детей 29%, у взрослых 75%. Маркеры острого заболевания чаще наблюдались при лимфомах (36%). Были получены данные, демонстрирующие необходимость мониторинга больных с гемобластозами как серологическими, так и молекулярно-биологическими методами, причем не только в крови, но и в костном мозге для своевременного выявления острых форм ПВИ.

ОСОБЕННОСТИ МИГРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ КОКСИЕЛЛЕЗА

Карпенко С.Ф., Галимзянов Х.М., Аракелян Р.С.

Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

Развитие очагов воспаления в паренхиматозных органах и аллергическая перестройка организма являются особенностью патогенеза коксиделлеза. Изменения миграционной активности лейкоцитов в реакции торможения миграции лейкоцитов (РГМЛ) с экстрактами органов позволяют выявить тканевую аутоенсибилизацию.

Цель. Изучить особенности миграционной активности лейкоцитов при различных формах коксиделлеза.

Задачи: исследовать органную гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) по динамике миграционной активности лейкоцитов в реакции торможения миграции лейкоцитов с печеночным и легочным экстрактами при коксиделлезе в зависимости от формы заболевания.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 326 пациентов со среднетяжелым течением коксиделлеза в возрасте от 18 до 72 лет. Средний возраст больных соста-

вил $40,9 \pm 0,7$ лет. Диагноз коксиеллеза был подтвержден иммуноферментным анализом (Coxiella burnetii Elisa IgG, IgM, Viracell, Испания) и полимеразной цепной реакцией («АмплиСенс Coxiella burnetii-FL» ФБУН «ЦНИИЭ», Россия). Все больные получали комплексную терапию, включающую этиотропное (доксидиклин в первый день по 0,2 г, затем по 0,1 г однократно в течение $8,0 \pm 0,1$ дней), патогенетическое и симптоматическое лечение. Обследование больных проводилось в динамике заболевания: в период разгара и в период ранней реконвалесценции. Для изучения особенностей формирования органной ГЗТ у больных коксиеллезом проводили РТМЛ с печеночным экстрактом (ПЭ) и легочным экстрактом (ЛЭ) по методу I. Clausen в агаровой среде (1971). Контроль – 100 здоровых лиц. Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программ Microsoft Excel и BioStat. Определяли среднюю арифметическую (М), стандартную ошибку средней арифметической (m) – формат (M±m), процентное выражение ряда данных (%).

Результаты. Как показали наши исследования, у здоровых лиц индексы миграции (ИМ) составили в РТМЛ с ПЭ $93,5 \pm 0,1\%$, а в РТМЛ с ЛЭ $93,5 \pm 1,1\%$. Больные поступали в стационар на $6,2 \pm 0,2$ день болезни. У 288 пациентов регистрировалась острая форма коксиеллеза, а у 38 больных отмечалась подострая (затяжная) форма заболевания. Возраст пациентов с подострой формой коксиеллеза в 1,2 раза превышал возраст больных с острой формой ($47,1 \pm 1,8$ лет против $39,9 \pm 0,8$ лет, $p < 0,001$). У больных с подострой формой коксиеллеза чаще, чем у пациентов с острой формой, выявлялись гепатомегалия ($68,4 \pm 7,5\%$ против $47,6 \pm 9\%$ случаев, $p < 0,05$), желтуха ($44,7 \pm 8,1\%$ против $17,9 \pm 2,3\%$ случаев, $p < 0,01$) и снижение аппетита ($71,0 \pm 7,4\%$ против $38,5 \pm 2,3\%$ случаев, $p < 0,001$). Было выявлено, что в разгар болезни изменение миграционной активности лейкоцитов наблюдалось у всех больных с подострой формой коксиеллеза и у большинства больных с острой формой болезни. Причем у пациентов с подострой формой коксиеллеза в 1,3 раза чаще, чем у больных с острой формой, происходили изменения миграционной активности лейкоцитов в РТМЛ с ПЭ (100% против $78,3 \pm 4,2\%$, $p < 0,001$). При этом у больных с подострой формой ИМ при торможении миграции лейкоцитов оказался в 1,3 раза ниже, чем у пациентов с острой формой болезни ($43,3 \pm 3,9\%$ против $56,1 \pm 2,8\%$, $p < 0,05$). Оказалось, что в разгар болезни у пациентов с острой формой болезни изменение миграционной активности лейкоцитов в РТМЛ с ЛЭ развивалось в 1,2 раза реже, чем у больных с подострой формой коксиеллеза (100% против $82,0 \pm 4,2\%$, $p < 0,001$). В разгар болезни у больных с подострой формой коксиеллеза уровень ИМ при ускорении миграции лейкоцитов оказался в 1,5 раза выше, чем у пациентов с острой формой болезни ($227,5 \pm 4,8\%$ против $156,0 \pm 2,3\%$, $p < 0,01$). В период ранней реконвалесценции изменение миграционной активности лейкоцитов отмечалось у большинства пациентов в РТМЛ с ПЭ и с ЛЭ. В этот период болезни различия в частоте выявления этих изменений и величине ИМ в зависимости от формы коксиеллеза выявлены не были.

Заключение. Таким образом, у больных подострой формой коксиеллеза в разгар болезни наблюдаются более выраженные, чем у пациентов при острой форме болезни, реакции гиперчувствительности замедленного типа. Это

позволяет предположить, что аллергический компонент играет определенную роль при формировании затяжного течения коксиеллеза.

СПЕЦИФИКА ФАГОЦИТОЗА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ β-ЛАКТАМАЗ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА (STAPHYLOCOCCUS AUREUS, KLEBSIELLA PNEUMONIAE, PSEUDOMONAS AERUGINOSA)

Коленчукова О.А.^{1,2}, Сарматова Н.И.²

¹ Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия

² Институт биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета Министерства образования и науки РФ, Красноярск, Россия

Исследование посвящено изучению фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов при воздействии антибиотикорезистентных штаммов бактерий *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*, относящихся к β-лактамазам расширенного спектра (БЛРС).

Объектами исследования служили нейтрофильные гранулоциты крови, выделенные у 25 практически здоровых людей в возрасте от 25 до 45 лет, и устойчивые и чувствительные штаммы *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*; штаммы *S. aureus* устойчивые к действию оксациллина (метициллина) (MRSA). В качестве контроля использовались штаммы *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* чувствительные к действию антибиотиков в аналогичной концентрации. Функции фагоцитоза оценивали с помощью FITC меченых бактериями в концентрации 10^6 КОЕ/мл. Анализ проводили в цельной периферической крови на проточном цитофлуориметре FC-500 с использованием метода прямой иммунофлюоресценции моноклональными антителами, мечеными CD14-PE/CD45-PC7/CD16-PC5 (Beckman Coulter, USA).

Анализируя результаты исследования, можно отметить различия, полученные при индукции нейтрофильных гранулоцитов устойчивыми и чувствительными штаммами БЛРС. Так, в ответ на MRSA процент нейтрофилов, вступивших в фагоцитоз и среднее число бактерий, находящихся внутриклеточно, увеличивается относительно чувствительных штаммов. В ответ на резистентные штаммы *K. pneumoniae* происходит снижение фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов. Различия в фагоцитарном ответе могут быть связаны с особенностями строения и жизнедеятельности бактерий. Бактерия *P. aeruginosa* относится к патогенной микрофлоре, в норме не заселяющей слизистые оболочки макроорганизма. В связи с чем при воздействии резистентными и чувствительными штаммами синегнойной палочки не получено существенных различий в фагоцитарном ответе. Таким образом, в результате приобретения резистентности к антибиотикам изменяется рецепторный аппарат бактерий вследствие модификации клеточной стенки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 16-44-240668 и Краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности».

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ЛИМФОАДЕНОПАТИЯХ У ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Мирсаяпова И.А., Хайруллина Р.М.,
Хаматдинова З.Р., Мавзютов А.Р.

ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница»
Уфа, Россия

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Россия

Одно из ведущих мест в структуре обращаемости к врачу педиатру-иммунологу в Республиканской детской клинической больнице г. Уфы занимают доброкачественные лимфоаденопатии. По данным авторов, изучавших патологию лимфоузлов в Республике Башкортостан, установлена доминирующая роль ЦМВ-инфекции у детей, выявлены маркеры дисбаланса клеточного и гуморального звеньев системы иммунитета с формированием вторичного иммунодефицита у взрослых пациентов (Терегулова Л.М., 2006).

Цель. Установить особенности иммунологической реактивности у детей при лимфаденитах, ассоциированных с ЦМВ-инфекцией.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели были изучены показатели гуморального и клеточного иммунитета 37 детей: в первую группу вошли 19 детей в возрасте от 1-11 лет, находившихся на стационарном лечении в РДКБ г. Уфы с диагнозом «серозный подчелюстной лимфаденит, ассоциированный ЦМВ инфекцией», во вторую – 12 детей в возрасте от 1-11 лет, находившихся на стационарном лечении с диагнозом «серозный подчелюстной лимфаденит, бактериальной этиологии» и в третью – 6 практически здоровых детей, не имеющих в анамнезе лимфоаденопатии и ЦМВИ. Для определения популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов проводили иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови с использованием моноклональных антител фирмы Becton Dickinson, методом проточной цитометрии (BDFACSConton). Гуморальная система иммунитета оценивалась по содержанию иммуноглобулинов классов А, М, G и уровня циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови. Для обнаружения специфических антител класса IgG и IgM к ЦМВ проводился иммунохемилюминесцентный анализ (ИХА), а также ПЦР-исследование крови и мазка из зева. Клинико – лабораторное обследование включало также определение лейкоцитограммы, бактериологическое исследование мазка из зева и носа на флору, также уровня антистрептолизина – О в сыворотке крови. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0. Для сравнения данных использовали параметрический критерий Стьюдента.

Результаты. По данным лейкограммы у детей с подчелюстным лимфаденитом, ассоциированным с ЦМВИ, по сравнению со второй и третьей группами отмечался лимфоцитоз ($62,26 \pm 2,79$, $p \leq 0,05$) и моноцитоз ($11,67 \pm 1,23$, $p \leq 0,05$). По результатам бактериологического обследования бактериальная инфекция была детектирована только у второй группы пациентов. Уровень А-стрептолизина – О находился в пределах референсных значений у первой группы пациентов, тогда как во второй группе этот показатель был статистически значимо выше ($337,08 \pm 44,62$, $p \leq 0,05$) по сравнению с первой и третьей группами.

По данным иммунологического обследования уровни сывороточных иммуноглобулинов класса А, М, G первой группы достоверно не отличались от показателей здоровых детей и детей с проявлениями серозного подчелюстного лимфаденита, бактериальной этиологии. По данным иммунофенотипирования лимфоцитов методом проточной цитометрии в первой группе детей отмечалась Т-клеточная недостаточность в виде: снижения общих Т-лимфоцитов ($CD3^+$) ($58,89 \pm 3,23$) и статистически значимого подавления цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD8^+$) ($18,95 \pm 2,75$, $p < 0,05$) и Т-лимфоцитов – хелперов ($CD4^+$) ($30,2 \pm 2,13$, $p \leq 0,05$) на фоне повышения естественных киллерных клеток ($CD16^+$) ($14,15 \pm 1,84$, $p > 0,05$). Причем выраженная Т-хелперная недостаточность ($26,2 \pm 2,41$) была установлена у 8 детей первой группы, которых по данным ПЦР была обнаружена ДНК ЦМВ в крови. Следует отметить, что уровень В-лимфоцитов ($CD19^+$) находился на нижней границе референсных значений ($10,15 \pm 1,84$). Во второй группе детей было выявлено повышение общих Т-лимфоцитов ($67,96 \pm 1,65$, $p \leq 0,05$), Т-хелперов ($48,89 \pm 1,37$, $p \leq 0,05$) и В-лимфоцитоза ($22,5 \pm 1,23$, $p \leq 0,05$) в сравнении с третьей группой обследуемых.

Заключение. Таким образом, у детей с ЦМВ-ассоциированными лимфоаденопатиями установлен избирательный дефицит Т-клеточного звена иммунитета: общие Т-лимфоциты ($CD3^+$), цитотоксические Т-лимфоциты ($CD8^+$) и Т-хелперы-индукторы ($CD4^+$), что в целом согласуется с концепцией прямого избирательного действия ЦМВ на эти клетки. Кроме того, депрессия Т-лимфоцитов – хелперов может служить фоном, на котором происходит инфицирование. Выявлены различия степени выраженности Т-клеточной недостаточности в зависимости от наличия вирусемии по данным ПЦР-исследования в виде значительного подавления Т-хелперной активности клеток. Результаты предварительного этапа исследований, по нашему мнению, являются неоспоримым доказательством целесообразности проведения комплексного диагностического тестирования, включающего определение специфических антител к ЦМВ и ПЦР. Кроме того, для оценки эффективности противовирусной терапии необходимо осуществление иммунологического мониторинга, а именно проточной цитометрии.

УРОВЕНЬ IL-8, IL-13 У ЖЕНЩИН С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Невежкина Т.А., Кныш С.В., Чагина Е.А.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Владивосток, Россия

Введение. Папилломавирусная инфекция (ПВИ) является одним из самых распространенных заболеваний, передающимся половым путем (Роик Е.Е., Баранов А.Н., 2015). ПВИ способствует не только развитию рака шейки матки, но и существенно влияет на репродуктивную функцию женщины. Состояние иммунной системы является решающим фактором, определяющим тяжесть и продолжительность воспалительных заболеваний, особенностей течения «медленных» вирусных инфекций, в том числе и ПВИ (Барановская Е.А., Кустова М.А., 2012). При ПВИ наблюдается снижение клеточного иммунитета, а так же дефицит местного и общего интерферона. Присутствие цитокинов играет важную роль в

модулировании иммунного ответа к инфекциям, и в установлении и поддержании беременности.

Цель и задачи. Оценить уровень IL-8 и IL-13 у женщин с ранними клиническими проявлениями ПВИ.

Материалы и методы. Определение уровня IL-8 и IL-13 в сыворотке крови методом ИФА (R&D Systems, USA) у 32 пациенток с ПВИ, в возрасте от 25 до 44 лет. Пациентки разделены на группы: I – пациентки, с кондиломатозными поражениями шейки матки; II – с цервицитом без кондиломатозных изменений шейки матки; III – контрольная группа здоровых женщин. Статистический анализ проводился с помощью ранжирования вариационного ряда методом Турки. Результаты выражали в пг/мл.

Результаты. Определено повышение уровня IL-13 в сыворотке крови в I и II группе по сравнению с группой контроля в 7 раз (IL-13 в I группе – 73,17 [49,3; 76,2] пг/мл; во II группе – 76,28 [73,17; 90,82] пг/мл, в сравнении с группой контроля – 9,14 [2,0; 13,24] пг/мл). Уровень IL-8 в I группе – 4,2 (1,67; 14,27) пг/мл; во II группе – 21,93 (14,27; 23,19) пг/мл; в сравнении с группой контроля – 3,23 (2,8; 8,41) пг/мл. Не выявлено существенных изменений уровня IL-8 в I группе. Это свидетельствует об отсутствии активации нейтрофилов у этой категории пациенток. Однако повышение IL-8 во II группе свидетельствует о прогрессировании воспалительного процесса с активацией нейтрофилов, которые вырабатывают провоспалительные медиаторы. Последние играют двоякую роль: локальной защиты шейки матки, но при гиперпродукции способны повреждать ткани и усиливать воспаление. Для подтверждения данных требуется провести дополнительные исследования.

Заключение. Увеличение содержания в сыворотке крови противовоспалительного цитокина IL-13 свидетельствует о преобладании Th2-типа иммунного ответа при ПВИ. Не установлено изменения уровня IL-8 в группе с кондиломатозом шейки матки. Определено увеличение IL-8 в крови пациенток с ПВИ цервицитом, что отражает активацию нейтрофилов у этой категории больных.

СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ БОЛЬНЫХ ЛЕПТОСПИРОЗОМ

Петрова О.А.^{1,2}, Любимова Н.Е.¹, Арсентьева Н.А.¹,
Стойнова Н.А.¹, Токаревич Н.К.¹, Тотолян Арег А.^{1,2}

¹ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

²ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Лептоспироз является одной из наиболее широко распространенных и социально значимых зооантропонозных инфекций. Возбудителями являются бактерии рода лептоспир (*Leptospira*). В настоящее время идентифицировано более 250 серовариантов патогенных лептоспир.

В ряде случаев лептоспироз у человека протекает в лёгкой форме, сопровождаясь неспецифическими симптомами, однако у 10–15% больных развивается тяжёлая форма, которая часто быстро прогрессирует и может привести к летальному исходу. Летальность в случае развития тяжёлых форм лептоспироза достигает 20%, а в случае

развития лёгочного геморрагического синдрома превышает 50%. Предполагается, что тяжесть и исход заболевания зависит от вида продуцируемых цитокинов и от их концентрации.

Цель. Изучение роли про- и противовоспалительных цитокинов для углубления знаний об иммунопатогенезе лептоспирозов.

Материалы и методы. Объектом исследования послужили сыворотки крови от больных лептоспирозом (n = 147). В качестве контрольной группы – сыворотки от практически здоровых лиц. Для экспериментальной части работы был взят штамм из коллекции лаборатории зооантропонозных инфекций НИИ Пастера – *Leptospira interrogans*. Данным штаммом проводилась 24 часовая стимуляция цельной крови здорового донора с дальнейшим отбором супернатантов. Определение цитокинов в биоматериалах (сыворотки и супернатанты) проводилось на анализаторе MagPix (Millipore, США) с использованием стандартной панели из 9 анализов: TNF α , MCP-1, IL-8, IL-4, IL-6, IL-10, IL-1ra, IL-12(p70), IFN γ . Математическую обработку данных осуществляли с применением программы GraphPadPrizm6 (GraphPadSoftware, США).

Результаты. При изучении цитокинов *in vivo* в группе больных лептоспирозом по сравнению с контрольной группой выявлены достоверно повышенные уровни IL-8, IL-10, MCP-1, TNF α (p < 0,05). Выявлены корреляционные связи между TNF α и MCP-1, TNF α и IL-1ra (r = 0,51; r = 0,49 соответственно), такие же связи были обнаружены и в группе контроля (но более сильные: r = 0,69 для обоих случаев). Выявлена корреляционная связь между IL-12(p70) и IFN γ (r = 0,55) в опытной группе нехарактерная для группы контроля. Установлено, что увеличение уровня провоспалительных цитокинов к 3 неделе болезни на фоне низких концентраций противовоспалительных цитокинов играет важную роль в развитии поздних осложнений при лептоспирозе.

В части *in vitro* впервые было показано, что пик стимуляции для большинства цитокинов приходится на 2–3 час стимуляции (IFN γ , IL-12(p70), IL-1ra, IL-4 (причём для двух последних цитокинов после достижения пика, продукция цитокинов выходит на плато). Непохожую на остальные цитокины динамику дали IL-8 и TNF α , которые имеют пики стимуляции приходящиеся на 6 ч.

Выводы. Необходимо проводить новые, обширные исследования о взаимодействии цитокинов и их роли в иммунопатогенезе лептоспирозов.

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ПАРОДОНТИТОМ

Полушина Л.Г., Светлакова Е.А., Мандра Ю.В.
Базарный В.В.

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Екатеринбург, Россия

В настоящее время болезни пародонта имеют широкую распространенность, отличаются тяжелым течением, негативным влиянием на здоровье человека и качество его жизни. Несмотря на определенные достижения в разработке методов профилактики и лечения данного заболевания, еще существует проблема в поиске объективных

способов диагностики пародонтита, оценки активности процесса и прогноза прогрессирования заболевания.

Цель. Выявить клинико-иммунологические особенности больных хроническим пародонтитом.

Материалы и методы. Работа основана на исследовании 101 человек, которые на основе ретроспективного анализа были распределены на две группы. Основная группа – 69 больных с пародонтитом средней и тяжелой степени. Клиническое обследование наряду со стандартным стоматологическим осмотром включало дополнительные методы: подсчет индекса интенсивности кариеса зубов (КПУ), определение значения упрощенного индекса гигиены (ОHS) и папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА). Контрольная группа – 32 практически здоровых добровольцев.

Содержание в ротовой жидкости (РЖ) интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4) интерлейкина-17 (IL-17) и лактоферрина (Лф) определяли методом твердофазного гетерогенного ИФА с использованием тест систем «Вектор-Бест» и регистрацией на фотометре Multiscan.

Статистическая обработка результатов проводилась на основании принципов вариационной статистики с использованием программы Gretl. Переменные с непараметрическим распределением сравнивались при помощи критерия Манна–Уитни. Для оценки диагностической эффективности лабораторных тестов проводили ROC-анализ.

Результаты и обсуждение. Объективными клиническими показателями состояния полости рта являются стоматологические индексы. Их значительное повышение указывает на поражение тканей полости рта, особенно – индекс РМА, отражающий тяжесть поражения пародонта.

У больных пародонтитом концентрация IL-2 в РЖ повышалась на 31,1% ($p = 0,05$). У этих же пациентов наблюдалось значительно возрастание уровня IL-4 в 26 раз ($p = 0,001$) в сравнении с контрольной группой. Это дает основание предположить, что цитокиновый баланс при пародонтите характеризуется преобладанием Th-2 продуцируемых факторов, то есть при пародонтите активируются «противовоспалительные» иммуноопосредованные механизмы. Концентрация IL-17 у пациентов обеих групп существенно не различалась.

Среди параметров врожденного иммунитета оценивали содержание ЛФ, которое возрастало при пародонтите как отражение активности воспалительного процесса.

Для оценки диагностических характеристик изучаемых показателей использован ROC анализ с определением площади под ROC кривой (AUC – Area Under Curve). Он позволил установить, что наиболее высокую диагностическую эффективность имеет уровень IL-4 в РЖ при пародонтите: диагностическая чувствительность – 88%, диагностическая специфичность – 99%, AUC = 0,95.

В ходе исследования нами разработаны новые подходы к традиционному цитологическому исследованию буккального эпителия. Подсчет цитогаммы показал, что у пациентов с пародонтитом значительно чаще выявляются кариологические аномалии (микроядра, пикноз и др.), что позволило оценить реактивность слизистой оболочки полости рта при воспалительном процессе.

Заключение. На основании результатов данного исследования мы пришли к заключению, что определение иммунологических показателей в РЖ (в частности IL-4

и Лф), а также микроядерный тест с буккальным эпителием могут рассматриваться в качестве дополнительного инструмента лабораторной диагностики воспалительных заболеваний полости рта, в частности пародонтита. Поэтому сегодня вполне обосновано включение обсуждаемых показателей в алгоритмы диагностики заболеваний полости рта в комплексе с другими методами.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВАКЦИН ИММУНОВАК ВП-4 И СТАФИЛОВАК

Серова Т.А.¹, Краснопрошина Л.И.¹,
Феофанова Т.В.², Бишева И.В.¹, Фошина Е.П.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

² ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА, Москва, Россия

В течение последних десятилетий наблюдается значительный рост рецидивирующих инфекционно-воспалительных заболеваний, сопровождающихся нарушениями у больных как системного, так и местного иммунитета. Такие пациенты нуждаются в проведении иммуномодулирующей терапии, и наиболее перспективными для этой цели являются терапевтические бактериальные вакцины. Первыми отечественными препаратами такого рода являются Иммуновак ВП-4, содержащий компоненты 4-х условно-патогенных микроорганизмов (для взрослого контингента применяются две схемы введения: инъекционное и назально-оральное), и моновакцина Стафиловак.

Цель. Выявление особенностей динамики иммунологических показателей при трех различных способах иммунотерапии: инъекционном и назально-оральном применении Иммуновак ВП-4 и инъекционном применении вакцины Стафиловак.

Материалы и методы. Больные в возрасте 18-50 лет с хроническими воспалительными заболеваниями кожи и ЛОР-органов были распределены в три группы: первая (1) – 11 чел. – получала Иммуновак ВП-4 назально-орально, вторая (2) – 9 чел. – инъекционно, и третья (3) – 8 чел. – получала инъекционно вакцину Стафиловак. До и через 0,5-1,5 месяца после последнего приема препарата у больных определяли параметры системного иммунитета (субпопуляционный состав лимфоцитов и общие иммуноглобулины) и уровень специфических антител к антигенам *S. aureus* и *Kl. pneumoniae* разных изоформ в сыворотке крови, слюне и назальном секрете методом твердофазного ИФА. Для сравнения показателей в трех группах до и после лечения использовали критерий множественного сравнения – медианный тест с уровнем статистической значимости $p_{MT} < 0,05$. Для оценки однородности групп по полу применяли критерий χ^2 Пирсона с уровнем статистической значимости $p_{\chi^2} < 0,05$. Для парного сравнения использовали критерий Манн–Уитни с поправкой Бонферрони ($p_{MU-B} < 0,0167$). Значение величины r для поправки Бонферрони было найдено по формуле $p_{MU-B} = p_{MU}/k$, где k – число сравнений между группами (в нашем случае $k = 3$), а $p_{MU} = 0,05$. Результаты расчетов представлены медианой (Me) и размахом (min-max).

Результаты. Группы были однородны по полу ($p_{\chi^2} = 0,25$) и возрасту ($p_{MT} = 0,14$), исследуемые показате-

тели в трёх группах до лечения не различались ($p_{MT} > 0,05$). После проведенного лечения между тремя группами были выявлены статистически значимые различия по четырем показателям: 1) уровню специфических антител А-изотипа в сыворотке к стафилококку ($p_{MT} = 0,0336$) и 2) к клебсиелле ($p_{MT} = 0,0374$), 3) уровню специфических антител А-изотипа к стафилококку в слюне ($p_{MT} = 0,0357$) и 4) относительному значению НК-клеток CD16⁺ фенотипа ($p_{MT} = 0,0281$). Для этих четырёх показателей дополнительно провели парные сравнения по критерию Манн–Уитни с поправкой Бонферрони. Статистически значимые различия по показателю 1 после проведенного лечения ($p_{MU-B} = 0,0123$) были выявлены между группой 1 [Me = 809,5 (448,0–3650,0)] и 2 [Me = 4147,0 (959,0–15344,0)]; между группой 1 и 3 [Me = 3200,0 (624,0–4907,0)] имелась только тенденция к отличию ($p_{MU-B} = 0,0205$). По показателю 2 значимо ($p_{MU-B} = 0,0066$) отличались только группа 1 [Me = 70,5 (5,0–141,0)] и 2 [Me = 277,0 (112,0–1523,0)], а по показателю 3 имелась только тенденция к отличию ($p_{MU-B} = 0,0276$) между группами 1 [Me = 26,0 (2,0–251,0)] и 3 [Me = 73,0 (66,0–400,0)]. Значение показателя 4 в группе 3 [Me = 18,0 (15,0–32,0)] имело тенденцию к отличию от такового в группе 1 [Me = 10,0 (7,0–25,0)] с $p_{MU-B} = 0,0396$ и 2 [Me = 12,0 (4,0–21,0)] с $p_{MU-B} = 0,0497$.

Заключение. Применение критерия множественного сравнения для анализа результатов динамического исследования в трех группах дало возможность обнаружить на малых выборках наиболее сильные эффекты воздействия на показатели иммунного статуса при использовании трех различных методов иммунотерапии бактериальными вакцинами.

ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКТИВНОГО ИММУНИТЕТА К ПАНДЕМИЧЕСКИМ ВИРУСАМ ГРИППА А(H1N1)pdm СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Сычев И.А.¹, Смолоногина Т.А.¹, Лернер А.А.¹, Кучинская М.М.¹, Краббе Н.В.¹, Дешева Ю.А.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Введение. Пандемия гриппа 2009 г., вызванная вирусом А(H1N1)pdm, дала стимул к исследованиям перекрестно-реагирующих антител к нейраминидазе (NA) подтипа N1. Антитела, направленные против основного антигена вируса гриппа – гемагглютинина (HA) – являются вирус-

нейтрализующими, однако не защищают от инфекции при появлении в циркуляции вирусов с новым подтипом NA. В этом случае наличие у части людей перекрестно-реагирующих анти-NA антител, приобретенных вследствие контактов с ранее циркулирующими вирусами гриппа, может стать решающим в снижении заболеваемости и смертности. В связи с этим в настоящее время целый ряд исследований посвящен изучению формирования и защитной функции антител к NA при инфекции вирусами гриппа и иммунизации гриппозными вакцинами.

Цель. Оценка коллективного иммунитета к HA и NA вируса гриппа А(H1N1)pdm09 и его дрейфового варианта в течение эпидемического сезона 2015–2016 гг. среди пациентов МНЦ ФГБНУ «ИЭМ». Для этого потребовалась разработка нового диагностического вируса гриппа, содержащего NA вируса гриппа А/Южная Африка/3626/2013(H1N1).

Материалы и методы. В исследовании изучались сыворотки крови 134 пациентов МНЦ ФГБНУ «ИЭМ» в возрасте от 24 до 84 лет, собранные в январе–марте 2016 г. согласно протоколу Локального Этического комитета при ФГБНУ «ИЭМ» № 2/16 от 12 мая 2016 г. Для определения антител к NA в твердофазной реакции ингибирования нейраминидазной активности (РИНА) (Смолоногина Т.А. и соавт., 2011) использовались следующие реассортантные вирусы гриппа: А(H7N1), содержащий NA вируса А/Калифорния/07/2009(H1N1)pdm [H1N1pdm] и А(H6N1), содержащий NA вируса А/Южная Африка/3626/2013(H1N1). Вирусы H1N1pdm, А/Южная Африка/3626/2013(H1N1) и А/Новая Каледония/20/1999(H1N1) использовали в качестве антигенов в реакции торможения агглютинации (РТГА).

Результаты. Выявлено статистически значимое повышение средних титров антигемагглютинирующих антител к пандемическим вирусам гриппа среди лиц, перенесших ОРЗ в текущем эпидемическом сезоне, по сравнению с лицами, не имеющими ОРЗ в анамнезе ($P < 0,05$). В группе пациентов 24–45 лет доли лиц с защитными уровнями антигемагглютинирующих антител ($\geq 1:40$) к вирусу А(H1N1)pdm и эпидемическому вирусу А/Новая Каледония/20/1999(H1N1), вышедшему из циркуляции в 2009 г., были значительно выше по сравнению с лицами старшего возраста (табл.). Это может свидетельствовать о наиболее частом инфицировании указанными вирусами в данной возрастной группе. Среди участников молодого и среднего возраста доля лиц с защитными титрами антител к NA дрейфового варианта А/Южная Африка/3626/13(H1N1) была выше по сравнению со участ-

ТАБЛИЦА. УРОВНИ КОЛЛЕКТИВНОГО ИММУНИТЕТА К ПОВЕРХНОСТНЫМ АНТИГЕНАМ ВИРУСОВ ГРИППА А(H1N1) СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ, ОБСЛЕДОВАННЫХ В ЭПИДЕМИЧЕСКОМ СЕЗОНЕ 2015–2016 гг. (К ТЕЗИСАМ СЫЧЕВА И.А. И ДР.)

Возраст	Число в группе	% лиц с титрами антител $\geq 1:40$				
		Антитела к HA (РТГА)			Антитела к NA (РИНА)	
		ЮАР/2013	H1N1pdm	Новая Каледония/1999	ЮАР/2013	H1N1pdm
24–45	24	8,3 ^a	16,7	33,3 ^{b,c}	0	17,7 ^d
46–64	48	6,3	10,4	2,1 ^b	2,8	8,3 ^e
65–84	62	3,2 ^a	6,5	4,8 ^c	3,2	50,0 ^{d,e}

Примечание. ^a – $P = 0,049$; ^b – $P = 0,045$; ^c – $P = 0,001$; ^d – $P = 0,01$; ^e – $P < 0,001$.

никами 65-84 лет, что также может указывать на более частое инфицирование. В то же время в группе до 45 лет не выявлено защитных уровней анти-НА антител к вирусу А/Южная Африка/3626/13(H1N1). Наивысшая доля лиц с защитными титрами антител к НА вируса H1N1pdm (50%) выявлена среди лиц старше 65 лет, в то время как титры антител $\geq 1:40$ к НА пандемических вирусов среди этой возрастной группы встречались значительно реже в сравнении с лицами 24-45 лет. Эти данные свидетельствуют, что высокий уровень коллективного иммунитета к НА вируса H1N1pdm среди участников старше 65 лет не связан с перенесенными инфекциями пандемическими вирусами 2009 года, а опосредован перекрестно-реагирующими антителами, приобретенными, возможно, вследствие предшествующих контактов с циркулирующими до 1957 г. эпидемическими вирусами А(H1N1).

Заключение. Данные серологического обследования показали, что дрейфовый вариант вируса пандемического гриппа, подобный А/Южная Африка/3626/13(H1N1), циркулировал в 2015-2016 гг. на территории Санкт-Петербурга. Уровни коллективного иммунитета к НА дрейфового варианта H1N1pdm среди лиц разного возраста свидетельствует, что наиболее часто инфицированию могли подвергаться лица молодого и среднего возраста. Низкий уровень коллективного иммунитета к НА дрейфового варианта пандемического штамма может свидетельствовать о повышенной уязвимости лиц молодого и среднего возраста перед этим вирусом и указывать на необходимость проведения вакцинации.

ОЦЕНКА Т-КЛЕТОЧНОГО КОМПОНЕНТА В ФОРМИРОВАНИИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРОТИВ МЕНИНГОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Федорова И.М., Устинова М.А., Комбарова С.Ю.,
 Котелева С.В., Капустин И.В., Рамазанова З.К.,
 Скирда Т.А., Мартыненко И.Г.

ФБУН «Московский научно-исследовательский
 институт эпидемиологии и микробиологии»
 им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия

В России профилактика менингококкового менингита предполагает вакцинацию групп риска прежде всего против менингококков серогрупп А и С. В состав отечественных или зарубежных вакцин входят полисахариды *N. meningitidis*, иммунный ответ на которые может реализоваться как Т-независимый. Однако поскольку достигнутый иммунный ответ не отличается значительной длительностью, воз-

растает интерес к конъюгированным вакцинам, вызывающим более выраженный Т-клеточный иммунный ответ.

Цель. Оработка оптимальной процедуры оценки специфического клеточного иммунитета на А-полисахарид (АП) *N. meningitidis* (дозы антигена для активации лимфоцитов, сроков взятия крови у привитых) для последующего мониторинга формирования клеточного иммунитета у лиц, привитых полисахаридной или конъюгированной менингококковой вакцинами.

Методом антигенной стимуляции выделенных из крови лимфоцитов было их культивирование (37 °С, 5% CO₂) в присутствии АП, источником которого служила менингококковая группы А полисахаридная вакцина (производство НПО «Микроген», Россия). К 2×10^5 лимфоцитов добавляли 100 мкл раствора АП, с концентрацией от 5 до 25 мкг/мл. Стимуляция клеток длилась 20 часов, после чего культуральные супернатанты отбирали для определения в них концентрации IFN γ , а в пуле лимфоцитов методом проточной цитометрии выявляли Т-клетки, экспрессирующие маркер ранней активации CD69. Повышение количества таких клеток, как и повышение продукции ими IFN γ , является признаком антигенной активации Т-лимфоцитов. Показатели уровня антигенной стимуляции лимфоцитов сопоставляли с титром антител к *N. meningitidis*, который оценивали методом РНГА.

Результаты. Определение оптимальной дозы для стимуляции проводили на основе сравнения реакции на АП лимфоцитов непривитых людей и лимфоцитов лиц, привитых за 1-2 года до настоящего исследования вакциной Менцевакс ACWY (GlaxoSmithKline Biologicals, Бельгия).

Исследование исходного фона привитых и непривитых показало следующее. В группе из 16 привитых активация лимфоцитов 25 мкг/мл АП вызывала увеличение количества CD4⁺CD69⁺Т-клеток у 38% и CD8⁺CD69⁺Т-клеток – у 88%, дозой 10 мкг/мл АП, – соответственно, у 25 и у 30%, дозой 5 мкг/мл АП – у 0 и у 21%. В группе из 8 непривитых стимуляция лимфоцитов АП была отмечена только у 2 человек, в сыворотке которых уже исходно определялись антитела к *N. meningitidis* в титре 1:20. Концентрация АП 10 мкг/мл была признана оптимальной и в дальнейшем использовалась для оценки поствакцинальной динамики Т-клеточного иммунитета.

Через 1 месяц после введения Менцевакс у 71% обследованных отмечалось 4-кратное и более увеличение титров антител к АП. В таблице можно видеть, что при этом в группе ревакцинированных становится в 1,5-2 раза больше лиц, Т-лимфоциты которых активируются в присутствии 10 мкг/мл АП. В группе первично привитых от менингококковой инфекции те или иные

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ ФЕДОРОВОЙ И.М. И ДР.)

Признаки наличия в крови антигенспецифических Т-клеток, первично привитых	% людей с наличием признака среди		
	ревакцинированных		
Повышение при стимуляции АП количества клеток с фенотипом	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺	88	46
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺	100	69
Повышение продукции IFN γ лимфоцитами при их стимуляции АП		88	62

Заключение. Отработанный метод может служить для оценки клеточного иммунитета к менингококковому полисахариду.

признаки наличия в крови антигенспецифических Т-клеток начинали выявляться у всех людей.

ИНТЕРЛЕЙКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ И КОНЦЕНТРАЦИЯ НИТРАТ-НИТРИТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНАХ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ

Хараева З.Ф., Молова Л.Б.

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

Введение. Иммунологические сдвиги при пародонтите характеризуются нарушениями во взаимодействии факторов неспецифической резистентности организма, угнетением клеточного и гуморального иммунитета, а также подавлением относительно автономной системы местного иммунитета с дисбалансом показателей цитокинов. Оценка состояния больного пародонтитом в современных условиях предполагает комплексное обследование, включающее в себя помимо традиционных клинических методов, микробиологические и иммунологические исследования, которые позволяют объективизировать состояние больного пародонтитом, прогнозировать течение болезни и анализировать эффективность лечебных мероприятий.

Цель. Изучить показатели IL-1 β , IL-6, IL-10 и концентрацию нитрат-нитритов в сыворотке крови и содержимом пародонтальных карманов пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились 45 пациентов 38-60 лет с хроническим генерализованным пародонтитом средней степени тяжести. Лечение включало обучение гигиене, проведение профессиональной гигиены (удаление над- и поддесневых зубных отложений, полирование поверхности зубов). В зависимости от глубины пародонтальных карманов проводили соответствующее хирургическое лечение (кюретаж, открытый кюретаж). Предоперационная подготовка больных пародонтитом включала лечение зубов и замену некачественных пломб. Местное медикаментозное противовоспалительное лечение включало обильное промывание пародонтальных карманов 0,06% раствором хлоргексидина биглюконата. В послеоперационном периоде назначали нестероидные противовоспалительные препараты, десенсибилизирующую, антибактериальную терапию. Местно применяли раствор хлоргексидина для полоскания. Повторное обследование проводили в динамике – на 7,14,45 сутки с момента начала терапии.

В качестве биоматериала использовали содержимое пародонтальных карманов (ПК) и периферическую кровь. В сыворотке крови и содержимом пародонтальных карманов исследовали IL-1 β , IL-6, IL-10 (тест-системы BenderMedSystem, USA) концентрацию нитрат-нитритов (реактив Гриса). В качестве группы контроля исследовали 25 доноров (Республиканская станция переливания крови, МЗ КБР). Статистическую обработку проводили с использованием пакета программы Statistica for Windows. Достоверным считали отличие при $p < 0,05$.

Результаты. До начала терапии уровень IL-1 β в сыворотке крови у больных ХГП превышал таковой у доноров на 70,6%, а в содержимом пародонтальных карманов на 78,4%. Уровень IL-6 в сыворотке крови у больных на 67,7% был выше, чем в группе здоровых доноров, а в содержимом пародонтальных карманов на 68,4%. На фоне тради-

ционной терапии уровни медиаторов снижались ($p < 0,05$). Спустя 45 суток после терапии концентрации IL-1 β в крови больных ХГП уменьшились на 50% по сравнению с исходными значениями, в содержимом пародонтальных карманов на 48,6%. Уровень IL-6 на 41,9% в плазме крови, а в содержимом пародонтальных карманов на 36,8%. На фоне проводимой стандартной терапии происходит постепенное увеличение концентрации IL-10. На 45 сутки уровень IL-10 в пародонтальных карманах, несмотря на положительную динамику, остается ниже показателей здоровых доноров в течение всего периода исследования.

Уровень нитрат-нитритов в сыворотке крови и пародонтальных карманах до начала терапии выше показателей здоровых на 35,6 и 89,6% соответственно. На фоне проводимой терапии показатели крови имеют положительную динамику, но остаются на 45 сутки от начал терапии достоверно выше показателей здоровых ($p < 0,05$).

Заключение. Традиционная терапия пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом не приводит к нормализации показателей иммуноцитокринов и нитрат-нитритов, что доказывает необходимость инновационных подходов в терапии пациентов данной категории. Исследованные показатели могут быть использованы в качестве критериев для оценки эффективности проводимой терапии больных с поражением пародонта разной степени тяжести.

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА РЕОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Шапошников А.В.¹, Зыкова Т.А.¹, Шевякова Е.А.¹, Колпаков С.А.²

¹ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону, Россия
²ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Введение. В последние десятилетия отмечается возрастающая роль вирусов в спектрах патологии человека. К числу вирусов, способных одновременно поражать органы дыхания, ЖКТ, головной мозг, лимфоидную и сердечно-сосудистую системы, помимо прочих относятся и реовирусы.

Цель. Изучить распространенность, клиническую значимость и возможность серологической диагностики реовирусной инфекции.

Материалы и методы. Исследовали сыворотки крови детей до 14 лет и взрослых. Для определения вирусспецифических антител (АТ) использовали диагностический эритроцитарный реовирусный иммуноглобулиновый жидкий для реакции торможения непрямой гемагглютинации (РТНГА). Было исследовано 169 одиночных и 121 парная сыворотка крови от детей, 469 одиночных и 170 парных сывороток от взрослых.

Результаты. Антитела к реовирусам имели 48,7% здоровых детей и 60,6% взрослых. Средняя геометрическая титра АТ у детей составила 6,0 log₂, у взрослых – 5,4 log₂.

При исследовании парных сывороток диагностическое (в 4 раза и более) нарастание титра АТ у детей наблюдалось в 10,8% случаев, у взрослых – в 13,5% случаев. В 69,5% случаев реовирусная инфекция регистрировалась на фоне отсутствия АТ в начале заболевания, в т.ч. у детей – в 65,5%, у взрослых – в 73,9%. Диагностическое нарастание титра АТ у детей в 92,3% случаев регистрировалось при установленном клиническом диагнозе грипп,

ОРВИ, в 7,7% – менингит. У взрослых диагнозы грипп, ОРВИ составили 52,2%, лихорадка неясного генеза – 21,6%, корь – 13,1%, пневмония, бронхит – 8,7%, менингит – 4,4%.

При однократном исследовании сывороток крови детей с диагнозами длительная лихорадка неясной этиологии, пневмония, бронхит, менингит уровень серопозитивных был ниже, чем среди здоровых детей (34,3%), а средняя геометрическая титра АТ не отличалась ($6,1 \log_2$). В группе однократно обследованных взрослых больных АТ к реовирусам в РТНГА имели 53,1%, а средняя геометрическая титра АТ составила $5,9 \log_2$.

Среди пациентов с различной патологией печени количество иммунных к реовирусу было таким же, как в соответствующих возрастных группах здоровых (48,2% у детей и 62,8% у взрослых). В то же время средняя геометрическая титра АТ у детей с патологией печени была на порядок выше ($6,9 \log_2$), чем у здоровых ($5,9 \log_2$). У взрос-

лых с патологией печени явных отличий не наблюдалось. Средняя геометрическая титра АТ у этих больных составила $5,9 \log_2$ против $5,4 \log_2$ у здоровых. В особую группу были выделены взрослые со ЗНО гепатобилиарной системы. Количество серопозитивных среди них составило 51,7%, а средняя геометрическая титра АТ $6,5 \log_2$.

Заключение. Установлено широкое распространение реовирусной инфекции, число серопозитивных среди здоровых детей составило 45,7%, взрослых – 60,6%. Учитывая это, для серологической диагностики реовирусной инфекции необходимо использовать метод парных сывороток. Подтверждение этиологической значимости реовируса чаще было отмечено при клиническом диагнозе грипп, ОРВИ. В случаях однократного исследования сывороток крови наиболее высокий показатель средней геометрической титра антител отмечен в группе детей до 14 лет с патологией печени – $6,9 \log_2$ и взрослых с онкопатологией – $6,5 \log_2$.