

ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

ИММУНОЛОГИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ И ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ

ВЛИЯНИЕ ЦИТОКИНОВ НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ К АНТИГЕНАМ ГЕПАТИТОВ А И В

Алпатова Н.А., Невская Л.В., Медуницын Н.В.

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств
медицинского применения» Министерства
здравоохранения РФ, Москва, Россия

Несмотря на высокую эффективность различных видов имеющихся в настоящее время вакцин, ни одна из них не дает 100 % профилактического и лечебного эффекта. В связи с этим исследования, направленные на решение вопроса повышения эффективности вакцинации, имеют существенную значимость. Для оптимизации вакцинального процесса используются различные иммуномодуляторы, которые отличаются друг от друга по своему происхождению и механизму действия. Особое положение занимают цитокины, естественные медиаторы клеточного взаимодействия, которые необходимы для развития любой иммунной реакции. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что многие цитокины (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, IFN γ , TNF α , Г-КСФ) могут рассматриваться в качестве иммуноадаювантов при вакцинации, обеспечивая активацию вакцинального процесса.

Цель нашей работы заключалась в изучении иммуноадаювантного эффекта препаратов цитокинов на развитие гуморального иммунного ответа у интактных и иммунодефицитных животных, иммунизированных вакцинами против гепатитов А и В, а также в изучении содержания цитокинов в сыворотках крови лиц, вакцинированных против гепатитов А и В.

При изучении адыювантных свойств цитокинов оценивали их влияние на иммуногенность вакцины против гепатита А (ГЕП-А-ин-ВАК) в экспериментах на мышах и морских свинках. Показано, что препараты рсTNF α и Полиоксидония оказывают стимулирующее влияние на иммуногенную активность вакцины, индуцируя синтез специфических АТ к АГ ВГА. Повышение частоты выявления специфических АТ сопровождается увеличением их титра, при этом в опытных группах животных в большинстве случаев выявляются АТ в титре 1:40 – 1:160, тогда как в контроле – в титрах до 1:10. Установлено, что использование цитокинов в качестве адыювантов одинаково эффективно для вакцин с различным содержанием АГ ВГА в прививочной дозе. Наиболее выраженными иммуностимулирующими свойствами обладают цитокины рсTNF α , рсIL-1 β и синтетический гексапептид имунофан. Введение адыювантов одновременно с вакциной способствовало формированию более высоких титров АТ к вирусу гепатита А по сравнению с группой животных, иммунизированных одной вакциной (в 2,5-13,5 раза), и обеспечивало 100% сероконверсию у животных после введения препаратов.

Влияние цитокинов рсIL-1 β и рсIL-2 на интенсивность иммунного ответа животных при иммунизации

вакциной против гепатита В (Энджерикс) изучено на экспериментальных моделях с индуцированной циклофосфатом иммуносупрессией и без иммуносупрессии. Показано, что уровень иммунного ответа интактных животных, иммунизированных меньшими дозами вакцины в сочетании с цитокинами, сопоставим с ответом на большую дозу вакцины. Введение цитокинов с вакциной приводит к увеличению числа сероположительных животных по сравнению с группой, иммунизированной одним АГ. Более выраженный эффект наблюдается в группах животных, которым АГ вводили в сочетании с рсIL-1 β . При исследованиях на иммунодефицитных животных установлено, что частота выявления специфических АТ и средние значения концентрации АТ были значительно выше в группах животных, иммунизированных вакциной в сочетании с цитокинами, по сравнению с животными, иммунизированными одной вакциной. В случае использования исследуемых препаратов цитокинов как на этапе иммунизации, так и реиммунизации иммунодефицитных животных, уровень иммунного ответа приближается к уровню ответа у животных без иммуносупрессии, иммунизированных одним АГ.

Уровни цитокинов изменяются в процессе развития иммунного ответа. Вакцинация, как и инфекция, может привести к повышению концентрации циркулирующих цитокинов. Проведено изучение содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови лиц, вакцинированных против гепатитов А и В (вакцины Геп А-ин-Вак, ВГВдж, Ревакс). Показано, что вакцинация вызывала повышение уровня IL-1 β и TNF α в сыворотке крови привитых лиц, который сохранялся в течение 4 недель после введения препаратов.

Таким образом, стимуляция иммунного ответа на вакцинацию против гепатитов А и В с использованием цитокинов может рассматриваться в качестве перспективного подхода в решении важного вопроса формирования выраженного протективного иммунитета, в том числе у лиц с иммунодефицитными состояниями.

УРОВЕНЬ ОНКОМАРКЕРОВ ПРИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Ахмалтдинова Л.Л.¹, Азизов И.С.², Тюхтина З.П.³,
Сердюк Л.И.³, Козаченко Н.В.⁴

¹ Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан

² Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии, Смоленск, Россия

³ Региональный центр по профилактике и контролю за СПИД, Караганда, Казахстан

⁴ НПО «Кредо», Караганда, Казахстан

Классическая клиническая картина СПИД характеризуется развитием пролиферативных заболеваний, однако в большем случае это касается вирус-ассоциированных онкологических заболеваний (саркома Капо-

ши, лимфома Беркита). Но накапливаются данные, что ВИЧ-инфекция, даже при эффективном своевременном приеме ретровирусных препаратов, способствует увеличению случаев онкологических заболеваний. Связано ли это с ВИЧ-инфекцией или это является следствием социального неблагополучия и токсического воздействия посторонних факторов, вопрос еще открыт. **Целью** исследования стало изучения уровня молекулярных онкомаркеров у ВИЧ-инфицированных с фоном парентеральных форм наркотических средств и без отягощающего фона.

Материалы и методы. Были представлены 3 группы обследуемых. 30 ВИЧ⁺ пациентов без фона наркотической зависимости, 30 ВИЧ-инфицированных потребителей инъекционных форм наркотиков. Контрольную группу составили 30 условно здоровых лиц. Группы формировались сходные по половозрастному составу, в группах с ВИЧ-инфекцией тяжесть заболевания (стадии и среднее число CD4) так же были сравнимы.

Для мультиплексного определения факторов пролиферации и ангионеза, которые могут быть онкомаркерами, мы использовали иммунофлуоресцентное исследование методом xMar на Биолекс 3Д с применением набора Cancer Biomarkers panel (BioRad). В данное исследование мы включили маркеры: sHER/2, sEGFR, sIL-6R α , FGF, sVEGFR-2, PECAM1, PDGF AB/BB, G-SCF, sTIE2, SCF, sVEGFR-1, остеокальцин.

Результаты. Мы обнаружили, что в обеих группах с ВИЧ инфекцией значимо повышены биомаркеры sHER/2, sEGFR. У наших пациентов нет данных за опухолевый процесс, причины повышения этих маркеров возможно кроются в расстройствах регуляции клеточной пролиферации.

Мы обнаружили резкое повышение растворимого рецептора провоспалительного маркера sIL-6RA в обеих группах ВИЧ⁺ пациентов в равной степени. Мы обнаружили увеличение сывороточного уровня sVEGfr2, но не sVEGfr1 в обеих группах ВИЧ⁺ пациентов.

Исследование показало почти 2-кратное увеличение уровня PECAM1 во всех ВИЧ⁺ группах. Это молекула клеточной адгезии с проангиогенные и провоспалительного активности.

Мы обнаружили повышение sTIE2 у всех ВИЧ⁺ пациентов равной степени. sTIE2 — один из важнейших регуляторов ангионеза. Есть данные о повышении его во время ВИЧ-инфекции и использовании в качестве прогностических маркеров тяжести заболевания и осложнений.

Такие биомаркеры как FGF и SCF значимо повышены только в группе ВИЧ-инфицированных потребителей инъекционных форм наркотиков. FGF играет роль в процессах пролиферации, регенерации широкого спектра клеток и тканей. Известно, что продукция его может ограничивать ВИЧ-ассоциированные повреждения.

SCF-цитокин, играющий роль в гемопоэзе, сперматогенезе и меланогенезе. Есть данные, которые обнаружили увеличение его при ВИЧ-инфекции, но у пациентов с неврологическими осложнениями.

Изменения остальных биомаркеров не обнаружено.

Обсуждение. Исследование биомаркеров канцерогенеза имеет свои особенности у пациентов с ВИЧ, в том числе осложненных наркотической зависимостью. Количественный мультиплексный анализ выявил тенденцию к повышению отдельных онкомаркеров, что может расцениваться как реакция на инфекционный агент (sIL-6RA, sVEGfr2, PECAM1, sTIE2). Увеличение таких марке-

ров как SCF и FGF у ВИЧ⁺ потребителей наркотических препаратов, по-видимому, отражают компенсаторные реакции на хроническую интоксикацию. Однако, увеличение уровня маркеров эпителиального происхождения sHER/2, sEGFR сложно объяснить инфекционным процессом.

МОНИТОРИНГ СОДЕРЖАНИЯ Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ С CXCR3 И CCR6 РЕЦЕПТОРАМИ В ПРОЦЕССЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С

Басина В.В.¹, Бацунов О.К.^{2,3}, Арсентьева Н.А.², Эсауленко Е.В.¹, Тотолян Арег А.^{2,3}, Семенов А.В.^{2,3}

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

³ ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Введение. В настоящее время для лечения и предотвращения развития осложнений хронического гепатита С (ХГС) применяют различные варианты противовирусной терапии (ПВТ): интерфероновые схемы и препараты прямого противовирусного действия (ПППД). Эффективность комбинированной терапии с использованием интерферона не превышает 80% при 1 генотипе вируса, а при использовании ПППД составляет 91-98%. В связи с этим в центре внимания оказывается вопрос об эффективности терапии в зависимости от особенности иммунологического ответа организма человека. Определение уровня экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR6 на популяциях лимфоцитов до, во время проведения и после ПВТ может помочь в поиске предикторов ее эффективности.

Цель и задачи. Определение возможных предикторов эффективности ПВТ является основной целью исследования. Задачей данной работы была оценка содержания Т- и В-лимфоцитов с CXCR3 и CCR6 рецепторами у пациентов с ХГС получивших противовирусную терапию с использованием интерферонов и получивших ПППД для оценки ее эффективности.

Материалы и методы. За период с 2014 по 2017 гг. в СПб ГБУЗ «КИБ им. С.П. Боткина» проведено наблюдение 28 пациентов с ХГС до, во время и по окончании проведения ПВТ в возрасте от 22 до 62 лет, средний возраст составил 43,0 \pm 8,5 лет. Все пациенты были разделены на 3 группы: 1 группа — пациенты получавшие ПВТ с использованием интерферонов — 16 человек, 2 группа — пациенты принимавшие ПППД — 7 человек и 3 группа — пациенты принимавшие ПППД перенесшие ранее трансплантацию печени — 5 человек. Во все три группы были включены пациенты, достигшие в процессе ПВТ вирусологического ответа (ВО). У всех пациентов определялось содержание лимфоцитов, несущих хемокиновые рецепторы CXCR3 и CCR6, методом проточной цитофлуориметрии с использованием различных комбинаций моноклональных антител. Для оценки цитотоксических Т-клеток (CTL) и натуральных киллерных клеток (NK) (CD3/CD16,56/CXCR3/CCR6/CD8), В-лимфоцитов

и Т-хелперов (Th) (CD19/CD3/CXCR3/CCR6/CD4). Для определения статистически значимого изменения медиан до, во время и после ПВТ был использован критерий Краскела–Уоллиса с уровнем значимости $p < 0,05$.

Результаты. В работе измерялось содержание Т и В-лимфоцитов с CXCR3 или CCR6 рецепторами в ходе терапии и производилось сравнение со значениями до начала лечения. В периферической крови больных получавших ПВТ с использованием интерферонов обнаружено увеличение содержания Т-клеток, несущих хемокиновый рецептор CXCR3 ($p = 0,018$), как Th ($p = 0,043$), так и CTL ($p = 0,009$). Уровень В-клеток с CXCR3 рецептором снижался на фоне ПВТ в этой же группе пациентов ($p = 0,007$). У пациентов 3 группы (получавших ПППД после трансплантации печени) так же было выявлено увеличение содержания Т-клеток с CXCR3 рецептором за счет CTL ($p = 0,016$). Содержание Т- и В-лимфоцитов несущих CCR6 рецептор не изменялось в процессе ПВТ у пациентов 1 и 2 групп. С высокой достоверностью выявлено увеличение NK CXCR3 – клеток (натуральных киллеров) ($p = 0,0001$) у пациентов, получавших интерфероны, а так же в группе пациентов, получавших ПППД и ранее перенесших трансплантацию печени ($p = 0,016$). У пациентов 3 группы было определено увеличение NK CCR6 –клеток ($p = 0,011$). Изменений содержания малых субпопуляций лимфоцитов у пациентов 2 группы не наблюдалось.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что активация Т-клеточного звена иммунного ответа за счет CTL и NK-клеток, несущих CXCR3 рецепторы, а так же снижение количества В-клеток с CXCR3 рецептором, является прогностически положительным фактором в отношении эффективности ПВТ.

АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ГОРМОНОВ У МУЖЧИН ПРИ ВИЧ/СПИД ЗАБОЛЕВАНИИ

Бегишева Р.Р., Меркушкина Т.А., Залялиева М.В.

Республиканский научный центр иммунологии
Министерства здравоохранения РУ, Ташкент,
Узбекистан

Регуляция обменных процессов в организме мужчин происходит при участии нейроиммуноэндокринной систем. Прогрессирующий иммунодефицит при ВИЧ-инфекции приводит к изменениям всех систем организма, в том числе и эндокринной системы, которая остается наименее изученной. Данные о состоянии половых гормонов при ВИЧ-инфекции очень скудные.

Целью исследования явилось изучение уровней гормонов пролактина, кортизола, тестостерона и эстрадиола у ВИЧ-инфицированных мужчин на 3-й и 4-й стадиях заболевания.

Нами было обследовано 49 ВИЧ-инфицированных мужчин в возрасте от 29 до 45 лет (средний возраст составил 37 лет) на 3-й и 4-й клинических стадиях заболевания. Все пациенты состояли на учете в Республиканском центре по борьбе со СПИДом МЗ РУз. Диагноз стадии ВИЧ/СПИД заболевания был установлен на основании клинических проявлений и лабораторных методов исследования (ИФА, иммуноблоттинг, абсолютное содержание CD4 лимфоцитов, вирусная нагрузка). Все больные находились на АРВ терапии. Концентрацию гормонов определяли с помощью стандартных коммерческих наборов фирмы Human (Германия) согласно инструкции произ-

водителя. Кровь у пациентов для анализа забирали утром натощак в сухую пробирку. Концентрацию гормонов определяли в сыворотке крови, которую до проведения анализа хранили в глубокой заморозке.

В среднем уровень пролактина в группе ВИЧ-инфицированных на 3-й и 4-й клинической стадии составил $19,5 \pm 2,5$ нг/мл и $19,7 \pm 3,0$ нг/мл соответственно, что в 2 раза выше средних значений группы контроля – $9,4 \pm 1,4$ нг/мл ($p < 0,01$). Но у 46% мужчин на 3-й и 4-й стадиях заболевания уровень пролактина был выше верхних границ нормы и составил $29,8 \pm 3,1$ нг/мл на 3-й и $33,8 \pm 7,8$ нг/мл соответственно.

Уровень кортизола в среднем составил $188,1 \pm 23,8$ нг/мл на 3й и $192 \pm 29,5$ нг/мл на 4-й стадии заболевания, что было в 1,25 раза выше контрольных значений – $150,6 \pm 25,3$ нг/мл ($p > 0,05$). Уровень кортизола был выше верхних границ нормы у 37,5% мужчин на 3-й стадии и составил в среднем 308 ± 28 нг/мл, у 29% мужчин на 4-й стадии и в среднем составил $339 \pm 36,2$ нг/мл. Достоверных отличий в зависимости от стадий заболевания по содержанию кортизола не выявлено.

Исследование половых гормонов показало, что концентрация эстрадиола составила $8,9 \pm 2,2$ пг/мл на 3-й стадии и $8,9 \pm 2,8$ пг/мл на 4-й, что в 2 раза ниже уровня контрольной группы – $18,7 \pm 3,0$ пг/мл ($p < 0,05$). У 70% мужчин в 3-й стадии и у 76% мужчин в 4-й стадии заболевания уровень эстрадиола выявлялся ниже границ нормы и составил в среднем $2,6 \pm 0,9$ пг/мл на 3-й и $3,8 \pm 1,0$ пг/мл на 4-й стадиях ($p < 0,001$ относительно контроля).

Содержание тестостерона составило $8,7 \pm 1,1$ нг/мл на 3-й стадии и $6,9 \pm 1,6$ нг/мл на 4-й стадии заболевания, что незначимо отличалось от показателей контрольной группы – $8,6 \pm 2,0$ нг/мл.

Таким образом, нами выявлены изменения всех исследуемых гормонов, что говорит о вовлечении в процесс не только гормонов гипофиза и надпочечников, но и половых гормонов. Каждый гормон имеет свое направленное действие на определенный орган, а также влияние на все системы организма, обеспечивая оптимальное взаимодействие между ними. Повышенный уровень кортизола у больных можно объяснить не только воздействием психического и инфекционного стресса, но и повышенной потребностью в восстановительных процессах при ВИЧ-инфекции, где для синтеза белковых структур организма необходим кортизол. Пролактин также воздействует на клеточный рост ткани и стимулирует синтез иммунных клеток. Снижение выработки половых гормонов объясняется тормозящим влиянием других гормонов, таких как пролактин и кортизол, что, конечно, имеет значение. Интересным является то, что у мужчин уровень эстрадиола был значительно снижен у большинства исследуемых, тогда как тестостерон менялся не так выражено, несмотря на повышенные уровни кортизола и пролактина. Таким образом, на 3-й и 4-й клинических стадиях ВИЧ/СПИД заболевания у мужчин на фоне АРВ терапии происходят значительные изменения гормонов “стресса” и половых гормонов, что может иметь значение в тактике ведения ВИЧ-инфицированных пациентов.

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 2 И 6 У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С (ХВГС)

Васнева Ж.П., Беляева Л.В.

АО «Самарский диагностический центр», Самара, Россия

Введение. Практически все интерлейкины (ИЛ) обладают плеiotропным действием на клетки системы иммунитета, но можно выделить и отдельные направления их действия. Так, ИЛ-2 участвует в формировании Т-клеточного иммунного ответа, ИЛ-6, являясь основным медиатором повреждения тканей, регулирует функциональную активность В-лимфоцитов. Спонтанная продукция ИЛ, как и других цитокинов, отражает состояние активации, тогда как ФГА-стимулированная – резервные возможности клеток иммунной системы. По литературным данным, спонтанная продукция ИЛ-2сп колеблется от 0,0 до 10,0 (среднее 0,3), ИЛ-6сп – 0,0-90,0 (среднее 12,0). ФГА – стимулированная продукция ИЛ-2ст – 25,0-590,0 (среднее 155,0), ИЛ-6ст – 100,0 – 30700,0 (среднее 8500,0) пг/мл. По данным ряда авторов, у пациентов с ХВГС отмечается дисбаланс цитокиновой регуляции воспалительного процесса.

Цель. Исследование особенностей спонтанной и ФГА – стимулированной продукции ИЛ-2 и ИЛ-6 у пациентов с ХВГС.

Материалы и методы. Обследовали 26 человек в возрасте от 29 до 67 лет с диагнозом «ХВГС» (мужчины 27,0%) в 2016 г. В гепаринизированной периферической крови определяли плазменные уровни ИЛ-2, ИЛ-6. Спонтанную и ФГА-стимулированную продукцию ИЛ определяли после 48 часовой инкубации крови при 37 °С с использованием ИФТС («Вектор – Бест», Россия). Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 5.5.

Результаты. У пациентов с ХВГС плазменные уровни ИЛ-2 и 6 сопоставимы с таковыми здоровых доноров (1,2±0,6 и 2,3±1,2 пг/мл соответственно).

Спонтанная продукция ИЛ-2сп и ИЛ-6сп составила 24,0±8,7 (0,0-184,0) и 1466,2±333,5 (34,0-4460,0) пг/мл, соответственно, что значительно превышает таковую, приведенную для здоровых доноров. ФГА-стимулированная продукция ИЛ-2ст и ИЛ-6ст составила 106,7±22,3 (0,-391,0) и 1736,0±380,4 (50,0-4484,0) пг/мл, соответственно, что ниже таковой здоровых доноров.

Более детальный анализ результатов исследования спонтанной продукции ИЛ показал, что низкий уровень (< 100 пг/мл) ИЛ-6сп отмечался в 38,5% случаев. Низкий (< 10,0 пг/мл) уровень ИЛ-2сп – в 50,0%. Высокий уровень спонтанной продукции (> 1000,0 пг/мл) ИЛ-6сп регистрировался в 46,0% случаев. Для ИЛ-2сп высокий (> 150,0 пг/мл) – в 11,5% случаев.

Анализ результатов ФГА-стимулированной продукции ИЛ показал, что низкий (< 100 пг/мл) уровень ИЛ-2ст регистрировался в 61,5% случаев, ИЛ-6ст – в 38,5%. Высокие уровни (> 1000,0 пг/мл) ИЛ-6ст отмечались в 46,0% случаев. Для ИЛ-2ст высокие (> 150,0 пг/мл) отмечались в 23,0% случаев.

Кроме того, нами было отмечено, что у пациентов с ХВГС выброс ФГА – стимулированного ИЛ-2ст относительно спонтанного уровня отмечался в 94,0% случаев, тогда как ИЛ-6ст только в 57,7% случаев.

Заключение. У пациентов с ХВГС отмечается повышенная текущая активация продукции ИЛ-2 и ИЛ-6, регулирующих Т- и В-клеточный иммунитет, что в свою очередь сопровождается снижением резервных возможностей клеток иммунной системы к выбросу данных ИЛ.

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ИНТЕРФЕРОНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С (ХВГС)

Васнева Ж.П., Беляева Л.В.

АО «Самарский диагностический центр», Самара, Россия

Введение. Продукция интерферонов (ИФН) клетками системы иммунитета является показателем их функционального состояния, которое, в свою очередь, зависит от состояния организма, в том числе природы инфицирующего агента. Спонтанная продукция ИФН, как и других цитокинов, отражает состояние активации, тогда как ФГА-стимулированная – резервные возможности клеток иммунной системы.

По литературным данным, спонтанная продукция гамма-ИФНсп колеблется от 0,0 до 14,0 (среднее 4,0), альфа-ИФНсп – 0,0-6,0 (среднее 1,0), ФГА-стимулированная продукция гамма – ИФНст – 165,0 – 7450,0 (среднее 1200,0), альфа-ИФНст – 0,0-13,0 (среднее 3,0) пг/мл.

По данным Касимовой Н.В. и др. (2015), у пациентов с ХВГС регистрируется дисбаланс продукции альфа- и гамма-ИФН.

Цель. Исследование особенностей продукции ИФН у пациентов с ХВГС в сравнении с другими воспалительными заболеваниями.

Материалы и методы. Обследовали 267 человек в возрасте от 29 до 67 лет (26 с диагнозом «ХВГС» (группа 1, мужчины 27,0%) и 241 с другими воспалительными заболеваниями (группа 2, мужчины 28%) в 2016 г. В периферической крови определяли плазменные уровни альфа и гамма- ИФН. Спонтанную и ФГА – стимулированную продукцию таковых определяли после 48 часовой инкубации при 37 °С с использованием ИФТС («Вектор-Бест», Россия). Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 5.5.

Результаты. В 1 группе плазменный уровень альфа-ИФН составил 0,58±0,3 пг/мл, что сопоставимо с таковым здоровых доноров. Тогда как спонтанный и стимулированный достигали более высоких уровней – 9,4±1,8 (пределы колебаний 1,0-25,0) и 11,7±2,0 (пределы колебаний 1,0-43,0) пг/мл соответственно.

Сравнительный анализ продукции гамма – ИФН показал, что в группе 1 гамма-ИФНсп составил 71,3±31,9, гамма-ИФНст – 725,4±89,6 пг/мл. В группе 2 уровни спонтанной и стимулированной продукции гамма-ИФН составили 12,1±1,6 и 764,0±34,1 пг/мл соответственно.

Более детальный анализ результатов исследования спонтанной продукции показал, что в 20,0% случаях в группе 1 и 33,0% в группе 2 уровень гамма-ИФНсп не превышал 0,0 пг/мл. Низкий уровень (< 10 пг/мл) гамма-ИФНсп в группе 1 отмечался в 44,0%, в группе 2 – в 33,2% случаев. Высокий уровень спонтанной продукции (> 20,0 пг/мл) в группе 1 регистрировался в 32,0% случаев, в группе 2 – в 19,5%.

Более детальный анализ результатов ФГА-стимулированной продукции гамма-IFN показал, что низкий (< 100 пг/мл) уровень в группе 1 регистрировался в 4,0% случаев, в группе 2 – в 15,8%, средние (100,0 – 1000,0 пг/мл) уровни – в 48,0 и 26,0% случаев соответственно, высокие (> 1000,0 пг/мл) – в 48,0 и 65,5% случаев, соответственно. ФГА-стимулированный выброс IFN γ относительно спонтанного уровня отмечался в 92,0% случаев всех пациентов.

Заключение. Пациенты с ХВГС характеризуются более высокими показателями спонтанной и более низкими показателями ФГА-стимулированной продукции гамма-IFN по сравнению с пациентами с другими воспалительными заболеваниями. Спонтанная и ФГА-стимулированная продукция альфа-IFN превышает уровни, приведенные для здоровых доноров.

Полученные нами данные могут свидетельствовать о более высокой текущей продукции IFN и большем истощении резервных возможностей клеток системы иммунитета к выбросу IFN.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ ПРИ КОИНФЕКЦИИ С ВИРУСОМ ГЕПАТИТА В

Власик Р.А.^{1,3}, Останкова Ю.В.¹, Семенов А.В.^{1,2}

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

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

³ ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Введение. По данным ООН количество инфицированных вирусом иммунодефицита человека типа 1 в мире составляет свыше 35 миллионов человек, а ВГВ заражены почти 2 млрд человек, из которых у 240 млн развивается хроническая форма. При этом общность механизмов заражения ВГВ и ВИЧ-инфекцией способствует повышению вероятности сочетания этих инфекций у пациентов. Проблема ВИЧ-инфекции, а также иных вирусных инфекций, часто сопровождающих ВИЧ, в настоящее время остаётся актуальной. В связи с этим важным вопросом являются иммунологические аспекты лабораторной диагностики как самой ВИЧ-инфекции, так и состояний коинфекции ВИЧ и других вирусных инфекций. Одним из таких состояний является коинфекция ВИЧ и вируса гепатита В.

Цель и задачи. Проанализировать показатели вирусной нагрузки и количества CD4⁺ клеток в сыворотке крови у пациентов с моноинфекцией ВИЧ и с коинфекцией ВИЧ + ВГВ.

Результаты. На основании филогенетического анализа показано, что в обследованной группе преобладает ВГВ генотипа D, при этом наиболее высокая частота

встречаемости у субгенотипа D1 (39,7%) по сравнению с субгенотипом D2 (29,5%) и D3 (30,6%).

В результате работы выявлено, что в группе пациентов с ВИЧ-инфекцией количество CD4⁺ составило 329,08±31,277 клеток/мкл при CI: 267,78-390,08, p < 0,0001; вирусная нагрузка 184976,41±29718 копий/мл CI: 126730-243223, p < 0,0001. В группе пациентов с коинфекцией ВИЧ + ВГВ субгенотипа D1 244,67±45,701 CD4⁺ клеток/мкл при CI: 150,73-338,6, p = 0,0001; вирусная нагрузка 189087,73±64897 копий/мл при CI: 52739-325436, p = 0,0349; в группе пациентов с ВИЧ + ВГВ D2 – 336,27±81,562 CD4⁺ клеток/мкл при CI: 166,66-505,88, p = 0,0005; вирусная нагрузка 281544,86±157672 копий/мл при CI: 56662-619752, p = 0,0086; в группе пациентов с ВИЧ + ВГВ D3 – 227,47±56,296 CD4⁺ клеток/мкл при CI: 109,20-345,75, p = 0,0008; вирусная нагрузка – 381575,44±315897 копий/мл при CI: 284966-1048117, p = 0,001.

Таким образом, достоверных различий по показателям вирусной нагрузки и CD4⁺ клеток между группой пациентов с ВИЧ-инфекцией и пациентами с коинфекцией ВИЧ + ВГВ субгенотипа D1, D2 и D3 не выявлено.

Вывод. На основании полученных данных можно сделать вывод об отсутствии у пациентов с коинфекцией ВИЧ + ВГВ каких-либо особенностей представленных в работе иммунологических аспектов. В связи с этим невозможно выделить среди пациентов с ВИЧ лиц группу риска относительно инфицирования ВГВ. Необходимо проводить скрининг на наличие ВГВ у всех ВИЧ-инфицированных лиц.

ДИФФЕРЕНЦИРОВАННАЯ ЭКСПРЕССИЯ ЭНДОГЕННОГО РЕТРОВИРУСА ЧЕЛОВЕКА HERV-E λ 4-1 ПРИ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВАХ

Гольдина И.А.¹, Гольдин Б.Г.²

¹ Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия

² ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск, Россия

Введение. Изменения в функционировании иммунной системы являются важным звеном этиологии, патопсихологии и патогенеза ряда психических расстройств. Высокая степень коморбидности с аутоиммунными, инфекционными и хроническими воспалительными заболеваниями, выявляемая у больных с психическими расстройствами, подтверждает гипотезу о наличии общих для данных патологических процессов иммуопосредованных механизмов патогенеза. Среди этиологических факторов психических расстройств рассматриваются персистирующие инфекции, а также эндогенные ретровирусы (ЭР). Известно, что ЭР человека I класса HERV-E λ 4-1 ассоциирован с психическими заболеваниями – шизофренией и биполярным расстройством, а также рядом аутоиммунных заболеваний, причем частота и уровень его экспрессии в мононуклеарных клетках крови (МНК) больных коррелирует с активностью заболевания. Учитывая иммуотропные свойства HERV-E λ 4-1, а также вовлеченность иммунологических механизмов в патологический процесс при депрессии, целью настоящего ис-

следования явилось выявление ассоциации активации данного ЭР и аффективных расстройств – депрессии и депрессивного расстройства.

Материалы и методы. В исследование были включены 17 больных с установленным диагнозом аффективного расстройства в виде депрессии (F 32, МКБ – 10), 26 больных с депрессивными реакциями (F 43, МКБ – 10), а также 35 клинически здоровых лиц. Протокол исследования соответствовал этическим стандартам, и соответствовал Хельсинской Декларации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека». Экспрессию гена env ЭР человека HERV-E λ 4-1 определяли МНК. Выделение тотальной РНК проводили методом фенольной экстракции, фрагменты кДНК анализировали в 2% геле агарозы, положительными считали образцы с наличием в геле полосы кДНК, соответствующей ожидаемому размеру ампликона. Продукты амплификации стандартизировали относительно β-актина и визуализировали на денситометре Pharmacia – LKB. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ STATISTICA v.7.0 (StatSoft, США).

Результаты и обсуждение. У всех больных, включенных в исследование, были выявлены признаки аффективных расстройств в форме депрессивных реакций или депрессии. Экспрессия env ЭР HERV-E λ 4-1 обнаружена во всех исследуемых группах. При этом частота ее в группе условно здоровых доноров была незначительной (2,9%), что, возможно, связано с наличием у них персистирующих форм инфекций. Частота экспрессии env ЭР HERV-E λ 4-1 в группе больных с депрессивными реакциями составляла 7,7% и достоверно не превышала таковую у доноров, тогда как в группе больных депрессией данный параметр достигал 52% и значительно превышал значения в группе и условно здоровых лиц, и больных с депрессивными реакциями ($p < 0,05$, Fisher exact test, two-tailed). Следовательно, активация env ЭР HERV-E λ 4-1 в МНК больных аффективными расстройствами была ассоциирована с развитием депрессии. Учитывая, что депрессия в настоящее время представляется как полиэтиологическое иммунопосредованное заболевание, а транскрипты ЭР человека HERV-E λ 4-1 идентифицированы в головном мозге больных психическими заболеваниями, и одним из механизмов реализации биологических эффектов ЭР является выработка протеинов, обладающих иммуностропными свойствами, активация HERV-E λ 4-1, выявленная нами у больных депрессией, может обуславливать изменения в иммунном статусе этих больных и обуславливает актуальность дальнейших исследований роли HERV-E λ 4-1 в этиопатогенезе депрессии, с целью выявления возможных диагностических маркеров данного заболевания и разработки новых патогенетически обоснованных стратегий терапевтической коррекции.

Заключение. В результате проведенного исследования была установлена различная частота экспрессии env HERV-E λ 4-1 в МНК и больных аффективными расстройствами в форме депрессивных реакций и депрессии. У больных депрессией данный показатель значительно превышал таковой больных с депрессивными реакциями и условно здоровых лиц, что свидетельствует об ассоци-

ации депрессии с активацией ЭР HERV-E λ 4-1 в мононуклеарных клетках крови.

СЕРОЛОГИЧЕСКОЕ ПОРТРЕТИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА В

Коноплева М.В.¹, Соколова М.В.¹,
Фельдшерова А.А.¹, Баженов А.И.², Суслов А.П.¹

¹ ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия
² ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

Поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) и, прежде всего, «а»-детерминанта HBsAg, является основным кластером антигенных детерминант, против которых вырабатываются протективные антитела (естественные или поствакцинальные). Кроме того, преимущественно именно к «а»-детерминанте HBsAg направлены антитела, используемые в диагностических тест-системах для выявления HBsAg. Мутации в S-гене вируса гепатита В и соответствующие аминокислотные замены способны критическим образом влиять на связывание антител с HBsAg, приводя к ускользанию вируса гепатита В от вакцинального и диагностического контроля.

Целью данной работы была серологическая характеристика рекомбинантных белков HBsAg дикого и мутантного типа для выявления степени их соответствия природным молекулам HBsAg.

Молекулы HBsAg изучали методами конкурентного анализа и серологического «портретирования» путем проведения сравнительного анализа реакций моноклональных анти-HBs конъюгатов и выявления дефектов связывания этих антител с антигенными детерминантами HBsAg. Кроме того, изучалось влияние восстановления и алкилирования на реактивность HBsAg различных типов.

Конкурентный анализ оказался информативным для изучения HBsAg «дикого» типа. Эти эксперименты позволили установить, что моноклональные конъюгаты, использованные в данной работе, конкурируют за одни и те же эпитопы «а»-детерминанты HBsAg «дикого» типа. В то же время такой подход оказался малоинформативным для изучения связывания моноклональных антител, имеющих дефекты по распознаванию мутантного HBsAg.

Проведенный анализ серологических «портретов» рекомбинантных мутантных HBsAg позволил установить существенные серологические различия природных и рекомбинантных форм мутантного HBsAg. Был обнаружен лишь один рекомбинантный антиген с мутацией G145R с «портретом», максимально приближенным к «портрету» природного аналога.

Таким образом, методику серологического «портретирования» можно использовать при отборе рекомбинантных мутантных HBs-антигенов с целью создания контрольных панелей, предназначенных для оценки качества диагностических тест-систем, а также для разработки вакцин против гепатита В.

ИЗМЕНЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ КОИНФЕКЦИИ ВИЧ И *Mycobacterium tuberculosis*

Кудрявцев И.В.^{1,2}, Васильева Е.В.^{4,5}, Максимов Г.В.³, Вербов В.Н.⁴, Серебрякова М.К.², Тотолян Арег А.^{1,4}

¹ ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ СПбГУЗ «Городской противотуберкулезный диспансер», Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

⁵ Bostongene, Москва

ВИЧ-инфекция традиционно ассоциируется с уменьшением как относительного, так и абсолютного содержания общего пула CD4⁺ лимфоцитов в периферической крови. Однако изменения в составе Т-хелперов, обладающих широким спектром регуляторных функций, оказывают влияние на эффективность реакций врожденного и приобретенного иммунитета в целом, в том числе и цитотоксических Т-клеток, играющих ведущую роль в защите от внутриклеточных патогенов. Целью данной работы был анализ субпопуляционного состава и оценка уровня дифференцировки CD3⁺CD8⁺ клеток, а также поиск новых перспективных маркеров, позволяющих отличить больных с ВИЧ от больных с коинфекцией ВИЧ-ТБ в условиях клинико-диагностической лаборатории. Объектом исследования служила венозная кровь, полученная от условно здоровых добровольцев (n = 37) и больных трех указанных групп. Для исследования особенностей дифференцировки цитотоксических Т-клеток у больных ВИЧ (n = 23), ТБ (n = 28) и при коинфекции ВИЧ-ТБ (n = 30) была использована тактика поэтапного «гейтирования», основанная на первоначальной оценке экспрессии CD45RA и CD62L с последующим анализом ко-экспрессии CD27 и CD28 клетками с фенотипами CD45RA⁻CD62L⁻ (клетки эффекторной памяти, EM) и CD45RA⁺CD62L⁻ («терминально-дифференцированных») клетки эффекторной памяти, экспрессирующие CD45RA, TEMRA). Было определено относительное и абсолютное содержания CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов с фенотипами CD45RA⁺CD62L⁺ («наивные» клетки), CD45RA⁺CD62L⁻ клеток эффекторной памяти и их основных субпопуляций (EM1, EM2, EM3 и EM4), а также клеток TEMRA, которые подразделялись на «пре-эффекторы» 1 типа (pE1), «пре-эффекторы» 2 типа (pE2) и эффекторные (E) клетки. На всех упомянутых выше типах цитотоксических Т-клеток определяли уровень молекулы CD57, уровень экспрессии которой тесно связан с накоплением перфорина и гранзима В в составе цитолитических гранул. Относительное и абсолютное содержание CD3⁺CD8⁺ у здоровых доноров и больных ТБ не отличались, тогда как наличие ВИЧ приводило к увеличению данных показателей в два и полтора раза соответственно (в обоих случаях p < 0,001). В случае коинфекции относительное содержание CD3⁺CD8⁺ превосходило все указанные группы и достигало 60,94% (45,88; 72,03), а абсолютное содержание – 890 (538; 1159) кл/1 мкл. Столь же существенные изменения касались и субпопуляционного

состава CD3⁺CD8⁺ клеток. Так, наличие ВИЧ приводило к резкому снижению числа «наивных» клеток и увеличению в циркуляции субпопуляций более «зрелых» фенотипов – EM и TEMRA. При сопоставлении групп больных только ВИЧ-инфекцией и на фоне туберкулеза, наиболее информативным являлся анализ субпопуляционного состава клеток EM. Так, относительное содержание клеток EM3 (CD45RA⁻CD62L⁻CD27⁻CD28⁻) при ВИЧ-инфекции составляло 5,66% (3,63; 7,84) или 82 (46; 102) клеток в 1 мкл крови, а при коинфекции ВИЧ-ТБ эти значения составили 12,05% (8,48; 23,17) и 180 (90,65; 294) кл/мкл соответственно (p < 0,001 в обоих случаях). При анализе групп сравнения – условно здоровые добровольцы и больные ТБ – эти значения были значимо ниже (2,11% (0,75; 3,95) и 42 (14; 76) кл/мкл, а также 3,06% (1,68; 5,69) и 47 (24; 100) кл/мкл соответственно). Более того, отмечено снижение относительного числа EM3 клеток, экспрессирующих CD57, в исследованных группах. Так, у здоровых добровольцев и больных ТБ CD57 обнаруживался на поверхности 79,83% (71,05; 88,20) и 76,75% (66,55; 83,64) клеток, соответственно, тогда как при ВИЧ-инфекции – лишь на 62,26% (51,30; 72,71) клеток, а при ВИЧ-ТБ – на 52,43% (34,73; 63,02) клеток. Полученные результаты позволяют предположить, что на основании анализа уровня дифференцировки CD3⁺CD8⁺ клеток при помощи многоцветной проточной цитометрии возможно разработать новые перспективные способы мониторинга течения ВИЧ и ТБ.

ИЗУЧЕНИЕ ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА CCR5 У ПОПУЛЯЦИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

Любимова Н.Е.¹, Семёнов А.В.^{1,2}

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

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

Введение. Ген хемокинового рецептора CCR5 локализован на коротком плече 3 хромосомы. Лиганды CCR5, такие как хемокины CCL3, CCL4, CCL5 и CCL8, играют главную роль в хемотаксисе и активации лимфоцитов во вторичных лимфоидных органах. Аллель delta32 гена CCR5 представляет собой делецию 32 пар оснований этого гена. Эта мутация приводит к нарушению адгезивных свойств кодируемого ею белка CCR5 Т-лимфоцитов.

Гомозиготы по делеции CCR5del32 резистентны к некоторым заболеваниям, например к ВИЧ. Аллель CCR5del32 преимущественно распространён в европейских популяциях, тогда как частота аллеля в большинстве азиатских популяциях ниже 3-5%. Этот аллель практически полностью отсутствует в аборигенных популяциях Америки и Океании. Его частота самая высокая в Северной Европе, в областях, прилегающих к Балтийскому и Белому морям (15-18%).

Определение пациентов с аллелью CCR5del32 важно для прогноза течения ВИЧ-инфекции у инфицированных пациентов, а также для оценки риска передачи ВИЧ в дискордантных парах, где только один из партнёров инфицирован.

Цель. Изучение частоты встречаемости аллелей CCR5del32 в Санкт-Петербурге.

Методы. Обследовали группу, состоящую из 423 условно здоровых доноров возрастом от 0 до 95 лет, про-

живающих в Санкт-Петербурге. Из образцов крови или буккального эпителия с помощью коммерческих наборов (Интерлабсервис, РФ) выделяли геномную ДНК. Генотип CCR5 определяли методом пиросеквенирования на пиросеквенаторе PyroMark Q24 (Qiagen), используя коммерческие наборы (Интерлабсервис, РФ), по рекомендации фирмы-производителя.

Результаты. Не было выявлено достоверного влияния пола и возраста на частоту распределения изучаемых аллелей. Распределение частот генотипов в исследуемой популяции не отличается от распределения Харди–Вайнберга. У 346 человек выявили генотип дикого типа. 72 человека были гетерозиготами по делеции изучаемого гена. В обследуемой популяции выявлено пять человек, являющимися гомозиготами по делеции. Таким образом, частота генотипа CCR5 дикого типа составляла 81,8% (346/423), гетерозигот по делеции – 17,0% (72/423), гомозигот CCR5del32/CCR5del32 – 1,2% (5/423). Частота аллеля дикого типа была 0,9, делеции – 0,1.

Заключение. Полученные результаты по частоте аллелей CCR5del32 совпадают с частотой аллелей в северной Европе и Северо-Запада РФ, где частота этих аллелей одна из самых высоких в мире. Высокая частота встречаемости аллели CCR5del32 делает обоснованным скрининг ВИЧ-инфицированных и группу риска по ВИЧ-инфекции.

ОЦЕНКА ГЕМОПОЭЗА У ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Меледина И.В., Старостина Н.М., Шипунов М.В.,
Меняева Е.В., Филимонов П.Н., Черных Е.Р.,
Шевела Е.Я.

Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии,
Новосибирск, Россия

Введение. При исследовании периферической крови у 80-88% больных циррозом печени (ЦП) регистрируется цитопенический синдром, степень выраженность которого не всегда коррелирует со спленомегалией, тяжестью заболевания, проведением противовирусной терапии (ПВТ). Цитопения имеет клиническое значение при развитии осложнений ЦП, а также ограничивает возможность проведения ПВТ. Кроме того, учитывая возможность использования аутологических мононуклеарных и мезенхимальных стромальных клеток костного мозга в терапии больных ЦП, представляется актуальной оценка костномозгового кроветворения у этой группы пациентов.

Цель и задачи. Оценка особенностей гемопоэтического плацдарма и развития линий клеточных элементов крови у больных ЦП различной этиологии.

Материалы и методы. Исследование клеточного состава костного мозга и периферической крови проведено у 19 пациентов (средний возраст $45,8 \pm 10,6$ лет) с подтвержденным ранее диагнозом ЦП различного генеза: как исход вирусного гепатита ($n = 11$), токсического гепатита ($n = 6$), первичного билиарного цирроза (ПБЦ) и аутоиммунного гепатита (АИГ) ($n = 2$). Пациентам выполнялась трепанобиопсия подвздошной кости с последующим патогистологическим и цитологическим исследованием биоптата. Статистическую обработку проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0 для Windows.

Результаты. Цитопенический синдром был диагностирован у 97,4% пациентов исследуемой группы. При патогистологической оценке трепанобиоптата подвздошной

кости нарушение соотношения гемопоэтической и жировой ткани было зарегистрировано у 66,7% пациентов.

Наиболее выраженные изменения гемопоэза выявлены у пациентов с ЦП вирусной этиологии. Так, при оценке гранулоцитарного ряда, у 90,9% пациентов этой группы снижено количество промиелоцитов, у 63% – сегментоядерных нейтрофилов. У 36,4% регистрируется увеличение количества плазматических клеток. Количество мегакариоцитов снижено у 54,5% пациентов, преобладают мелкие формы. В группе больных ЦП вирусной этиологии эритроидный ряд гиперплазирован у 63,6% пациентов, снижение количества эритробластов и про-нормоцитов регистрируется у 100 и 45,5% соответственно, более зрелые формы – нормоциты – представлены в нормальном количестве. У 64% пациентов снижен индекс созревания эритробластов.

В группе пациентов с ЦП токсической этиологии наблюдается преимущественно супрессия кроветворения – в 100% случаев был выявлен миелофиброз 1 ст, у 66,7% ($n = 4$) – гипоплазия эритроидного ростка за счет снижения количества эритробластов, при оценке гранулоцитарного ряда регистрируется снижение количества промиелоцитов (100%) и миелоцитов (66,7%), количество мегакариоцитов снижено у 83,3% пациентов.

У пациентов с аутоиммунным генезом ЦП (ПБЦ и АИГ) имеется реактивная гиперплазия эритроидного ростка, особенностью мегакариоцитарного ростка является преобладание мелких гипосегментированных форм, у 1 пациента зарегистрирован миелофиброз 1 степени, также у 1 пациента – гиперплазия плазматического ряда, ассоциированная с увеличением количества В-лимфоцитов периферической крови и гиперпродукцией IgG.

Заключение. Таким образом, у больных циррозом печени с высокой частотой регистрируются изменения костномозгового кроветворения, имеющие особенности в зависимости от этиологии заболевания печени, в связи с чем для рациональной коррекции гемопоэза могут требоваться различные подходы. В развитии нарушений костномозгового кроветворения обсуждается роль активной вирусной инфекции, резервуаром которой являются в т.ч. мононуклеарные и полиморфноядерные клетки периферической крови и костного мозга, опосредованной Т-лимфоцитами миелосупрессии, аутоиммунных реакций, влияния цитокинов (IFN γ , TNF α , хемокинов MIP 1 α/β , CXCL-10, CXCL-3, VCA-1). Представляется целесообразным дальнейшее уточнение генеза нарушений гемопоэза и оценка их влияния на структурные и функциональные характеристики гемопоэтических стволовых клеток.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО РИСКА НА СОСТОЯНИЕ ИММУНИТЕТА БОЛЬНЫХ ХГС ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

Никитин В.Ю., Сухина И.А., Яременко М.В.,
Жданов К.В., Иванов А.М., Никитин Ю.В.,
Ширина И.В., Козлов К.В., Жанарстанова Г.А.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. В настоящее время активно изучается взаимосвязь хронического гепатита С (ХГС) и метаболического синдрома. Коморбидные заболевания, такие как ожирение, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца (ИБС), часто сопровождающие ХГС являются предикторами метаболического

синдрома. Эти факторы метаболического риска могут влиять на его течение и ответ на противовирусную терапию (ПВТ).

Цель и задачи. Целью данного исследования явилось изучение влияния факторов метаболического риска на состояние иммунитета больных ХГС при проведении ПВТ и достижения устойчивого вирусологического ответа (УВО).

Материалы и методы. Проведено первичное иммунологическое обследование периферической крови (ПК) 73 больных ХГС, как с метаболическими факторами риска, так и без них. В динамике через 24 недели после противовирусной терапии (ПВТ) пегилированным интерфероном- α и рибавирином иммунологическое обследование было проведено повторно у 25 больных с ХГС, из них у 7 больных не был достигнут УВО. Иммунологическое обследование включало определение содержания субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG и циркулирующих иммунных комплексов высокомолекулярных (ЦИК выс.), среднемолекулярных (ЦИК сред.) и низкомолекулярных (ЦИК низ.). Иммунофенотипирование лимфоцитов ПК осуществляли на проточном цитометре Cytomics FC500 (фирма Beckman Coulter, США) с использованием 4-х цветных комбинаций прямых моноклональных антител той же фирмы: CD19/CD5/CD27/CD45, CD4/CD8/CD3/CD45, CD16/CD56/CD3/CD45, CD3/CD25/HLA-DR/CD45, CD4/CD127/CD25/CD45, CD8/CD38/CD3/CD45. Определение концентраций IgA, IgM, IgG в сыворотке крови проводили турбидиметрическим методом на полуавтоматическом анализаторе BTS-350 фирмы BioSystems с помощью наборов той же фирмы, уровней ЦИК – методом, предложенным Ю.А. Гриневичем и А.Н. Алферовым (1981). Средние значения исследуемых показателей представлены медианой (Me).

Результаты. Иммунологическое обследование показало, что относительное содержание ТНК-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) (до ПВТ 5,85%; УВО 4,45%), НК-клеток (CD3⁺CD56⁺) (до ПВТ 7,30%; УВО 5,30%), НК-клеток цитолитических (CD3⁺CD16^{+/high}CD56^{dim}) (до ПВТ 8,00%; УВО 5,95%), достоверно снижалось ($p < 0,05$) у больных ХГС с метаболическими факторами риска, достигших УВО, в отличие от его отсутствия. Снижение активированных НК-лимфоцитов (CD3⁺CD8^{dim}CD38⁺) было зафиксировано у больных после ПВТ, как достигших (до ПВТ 24,80%; УВО 14,00%), так и не достигших УВО (до ПВТ 24,80%; без УВО 15,05%). В то же время у этой категории больных в ПК статистически значимо повышалось ($p < 0,05$) содержание активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD25⁺), как при достижении УВО (до ПВТ 0,08%; УВО 0,25%), так и при его отсутствии (до ПВТ 0,08%; без УВО 0,21%). Уровни этих показателей у больных ХГС без метаболических факторов риска, как достигших, так и не достигших УВО, не имели значимых различий, что может свидетельствовать о влиянии метаболических факторов риска на функциональность ТНК- и НК-клеток при ХГС. Количество В-клеток CD19⁺ у больных с метаболическими факторами риска повышалось у больных не достигших УВО (до ПВТ 12,4%; без УВО 20,9%), тогда как при достижении УВО их количество практически не изменялось (до ПВТ 12,4%; без УВО 13,65%). В то же время выявлено статистически значимое снижение сред. ЦИК у больных ХГС без метаболических факторов риска достигших УВО (до ПВТ 187%; УВО 114%) по сравнению с теми, у кого произошел рецидив заболевания (до ПВТ 187%; УВО

194%). Уровень ЦИК низ. достоверно снижался у больных с УВО в обеих группах (с и без метаболических факторов риска) (до ПВТ 699%; УВО 367%) и (до ПВТ 799%; УВО 398%) соответственно. У больных, не достигших УВО ЦИК низ., также имели тенденцию к снижению, но статистически значимых отличий не было получено. Исследование содержания IgA, IgM, IgG не показало какой-либо взаимосвязи с метаболическими факторами риска и вирусологическим ответом.

Заключение. Исследования показали, что метаболические факторы риска влияют на состояние иммунитета больных при ХГС. У пациентов с ХГС и метаболическими факторами риска при достижении УВО после ПВТ снижается количество Т- и НК-киллерных клеток, тогда как при отсутствии УВО увеличивается содержание В-клеток. Таким образом, у больных ХГС с метаболическими факторами риска снижение содержания популяций истинных киллеров и Т-киллеров во время терапии можно считать благоприятным признаком, а повышение числа В-клеток неблагоприятным.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПИЛОТНОГО КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕНДРИТНО-КЛЕТОЧНЫХ ВАКЦИН В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ HCV-ИНФЕКЦИИ

Олейник Е.А., Леплина О.Ю., Курочкина Ю.Д., Останин А.А., Старостина Н.М.

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

Введение. Многочисленными исследованиями показано, что ключевую роль в патогенезе и исходе инфекции, обусловленной вирусом гепатита С (HCV), играют антиген-специфические CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки. Развитие сильного устойчивого и мультиэпитопного Т-клеточного ответа приводит к элиминации вируса, тогда как несостоятельность адаптивного Т-клеточного ответа ассоциируется с персистенцией вируса. Дендритные клетки являются профессиональными антиген-презентирующими клетками, которые играют доминирующую роль в примировании Т-клеток и поддержании сильного Т-клеточного ответа.

Цель и задачи. Изучение безопасности ДК, нагруженных рекомбинантными белками Core (1-120) и NS3 (1192-1457) HCV генотипа 1b, и способности ДК-вакцин индуцировать антиген-специфический Т-клеточный ответ.

Материалы и методы. В исследование были включены 10 пациентов с хроническим гепатитом С 1-го генотипа с вирусной нагрузкой – РНК ≥ 104 МЕ/мл, без трансформации в цирроз. Иммунотерапия проводилась в виде иницирующего (4 вакцинации с кратностью 1 раз в неделю) и поддерживающего (4-6 вакцинаций с кратностью 1 раз в месяц) курсов. Обследование пациентов проводилось до начала терапии, после 1-го, 2-го курса и последующего 6-месячного наблюдения. IFN-ДК получали путем культивирования прилипающей фракции мононуклеарных клеток (МНК) больных ХГС в присутствии ГМ-КСФ и IFN α с последующей часовой нагрузкой вирусными антигенами. Специфический пролиферативный Т-клеточный ответ на вирусные антигены оценивали радиометрически по включению H3 тимидина. Th1 и Th2 Т-клеточный ответ оценивали по продукции цитокинов IFN γ и IL-4 в антиген-стимулированных культурах Т-клеток.

Результаты. Установлено, что иммунотерапия аутологичными ДК, нагруженными рекомбинантными вирусными антигенами, характеризуется хорошей переносимостью, не вызывает тяжелых поствакцинальных реакций. Вакциноterapia сопровождается возрастанием пролиферативного ответа мононуклеарных клеток на вирусные антигены, в большей степени на Core, индукцией антиген-специфических Th1-клеток (с пиком ответа после 2-го курса вакцинаций), и не приводит к генерации регуляторных CD4⁺CD25⁺CD127⁻ T-клеток. Несмотря на отсутствие устойчивого вирусологического ответа, было показано, что пролиферативный ответ МНК на вирусные антигены после 1-го курса вакцинотерапии обратно коррелирует с вирусной нагрузкой. Полученные данные свидетельствуют о том, что ДК, нагруженные HCV Core (1-120) и NS3 (1192-1457) рекомбинантными белками, способны стимулировать антигенспецифический T-клеточный ответ и могут рассматриваться в качестве адьювантной иммунотерапии в комбинированном лечении больных хроническим гепатитом С.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о безопасности иммунотерапии IFN-ДК, нагруженными рекомбинантными вирусными антигенами, и позволяют рассматривать данный подход в качестве дополнения к терапии пегилированными интерферонами и рибавирином для улучшения результатов лечения.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ОККУЛЬТНОГО ГЕПАТИТА В У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

Останкова Ю.В.¹, Семенов А.В.^{1,2}, Тотолян Арег А.^{1,2}

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

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

Введение. По данным ООН количество инфицированных вирусом иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ) в мире составляет свыше 35 миллионов человек, количество инфицированных вирусом гепатита С (ВГС) составляет почти 3% от населения земного шара, у 70-80% которых развивается хронический вирусный гепатит С, вирусом гепатита В (ВГВ) заражены почти 2 млрд человек, из которых у 240 млн развивается хроническая форма. Общность механизмов заражения ВГВ, ВГС и ВИЧ-инфекцией способствует повышению вероятности сочетания этих инфекций у пациентов, а чем больше группа людей подвержена действию основных факторов риска в отношении ВГВ и других парентеральных инфекций, тем более высокий уровень носительства HBsAg она будет демонстрировать. Исходя из вышесказанного, логично было бы предполагать высокую частоту встречаемости ВГВ у ВИЧ-инфицированных пациентов. Однако ХВГВ выявляют примерно у 10%, а ХВГС у 25% ВИЧ-инфицированных. Такое противоречие ожидаемого и диагностируемого уровней распространенности ВГВ у ВИЧ-инфицированных пациентов может объясняться использованием для диагностики ВГВ преимущественно серологических методов (главным образом HBsAg), в то время как известно, что ВИЧ способен подавлять репликацию ВГВ, что приводит к распространенности оккульт-

ной формы ХВГВ (окГВ), а иммуносупрессия, вызванная ВИЧ-инфекцией, может приводить к низкой реакции антител на HBsAg, а также реактивации ВГВ.

Цель. Проанализировать распространенность генотипов оккультного гепатита В у HBsAg-негативных ВИЧ-инфицированных лиц с вирусологически неэффективной антиретровирусной терапией (АРВТ).

Материалы и методы. В работе использованы образцы плазмы крови 264 HBsAg-негативных ВИЧ-инфицированных пациентов из СЗФО с вирусологической неэффективностью АРВТ (вирусная нагрузка > 50 МЕ/мл после 6 месяцев АРВТ или повышение вирусной нагрузки после первичного подавления репликации вируса). Выявление ДНК ВГВ проводили с помощью разработанного метода «гнездовой» ПЦР с использованием праймеров, фланкирующих рекомендованный для генотипирования ВГВ регион Pre-S1/Pre-S2/S протяженностью 1169 п.о., и в дальнейшем проводили прямое секвенирование фрагмента. Первичный анализ полученных в ходе секвенирования фрагментов проводили с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA версия 5, используя алгоритм ClustalW.

Результаты. При использовании предложенного нами метода выявления ДНК ВГВ при низкой вирусной нагрузке ВГВ был обнаружен у 33,7% пациентов. На основании филогенетического анализа 89 изолятов показано, что в обследованной группе представлен преимущественно ВГВ генотипа D и только один пациент с ВГВ генотипа С, преобладает ВГВ субгенотипа D1 (39,3%) по сравнению с субгенотипами D2 (29,2%), D3 (30,4%) и С1 (1,1%). Внутригрупповой процент нуклеотидной идентичности среди пациентов с ВГВ субгенотипов D1, D2 и D3 составил 98,6%±0,6%, 98,9%±0,4% и 98,1%±0,4% соответственно. На филогенетическом древе выделяются несколько тесных кластеров, изоляты которых получены преимущественно (83,3%) от мужчин, более чем для половины из которых в анамнестических данных указана принадлежность к активным или бывшим ПИН. Так, среди пациентов с ВГВ D1 выявлен кластер, внутри которого средняя эволюционная р-дистанция составила 0,0025±0,001, среди пациентов с ВГВ D2 кластер со средней р-дистанцией 0,0013±0,0009, среди пациентов с ВГВ D3 кластер со средней р-дистанцией 0,004±0,001, что указывает на единый источник происхождения вирусов в каждом из этих случаев. Таким образом, становится очевидным, что главную роль в кластеризации играет не столько географическая общность, сколько пути передачи инфекции. Дополнительным подтверждением этого предположения является высокая встречаемость в группе ВГВ D3, ассоциированного с парентеральным инфицированием среди ПИН, при этом четко разделяющегося на специфический кластер близкородственных изолятов и последовательности ВГВ, находящиеся на различных филогенетических отрезках, не имеющих близкого генетического родства.

Заключение. По всей видимости, среди ВИЧ-инфицированных лиц ВГВ распространяется не за счет значимых эпидемиологических сетей с конкретными единичными прародителями, а преимущественно независимыми путями посредством гетеросексуальных контактов, исключая отдельные случаи, явно связанные с парентеральным инфицированием у ПИН.