

ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

АУТОИММУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

ОЦЕНКА ПАТОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Анисимова Т.Е., Абрамова З.И., Туаева Н.О.,
Пинчук Ю.В.

Казанский государственный университет,
г. Казань, Россия

Введение. Выявление аутоиммунных заболеваний имеет большое социальное значение и является одной из важнейших по причине широкого распространения и тяжести заболеваний, сложности патогенеза и высокого индивидуализирующего фактора из-за развития многочисленных осложнений, в том числе инвалидизация. Существует ряд критериев оценки состояния, но тяжесть и клиническая картина не всегда совпадают. Это приводит к ложной оценке тяжести патологии. Важно подобрать маркеры, характеризующие патологию на ранней, доклинической стадии. Это предотвратит использование «жестких методов» коррекции, что является весьма актуальным.

Выяснено, что патология, возникающая на фоне внутриутробной гипоксии плода, сопровождается увеличением проницаемости мембран эритроцитов вследствие активации перекисного окисления липидов (ПОЛ), недостаточно уравновешенной активностью антиоксидантной системы (АОС) крови, тоже происходит и при аутоиммунных заболеваниях.

Значение имеет аутоиммунный феномен, проявляющийся при аутоиммунных заболеваниях и атопической бронхиальной астме (АБА). Механизм индукции аутоантител при АБА малоизучен. Внеклеточная ДНК (внкДНК) плазмы крови вызывает интерес в связи с ее прогностической и диагностической значимостью. Нарушение антиоксидантной системы (АОС) под действием свободных радикалов имеет важное значение для ранней диагностики патологического состояния.

Цель работы. Выявление маркеров предрасположенности к аутоиммунным заболеваниям для доклинической оценки патологического состояния.

Материалы и методы. В настоящей работе мы разложили значения, полученные методом ИФА, т.е. уровень антител (АТ) (в сф. ед), и определили процент людей (условно здоровых и с диагнозом АБА (18-36 лет)), попадающих в соответствующий интервал.

Проницаемость мембран эритроцитов исследовали методом ядерно-магнитного резонанса (ЯМР). Антиоксидантную емкость крови (АОЕ) крови определяли методом гальванометрической кулонометрии. Оценку интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) выявляли по накоплению в плазме крови малонового диальдегида (МДА).

Результаты. Кривая, описывающая течение АБА, имеет максимум в средней области значений, т.е. среди пациентов с АБА встречается определенное число лиц с пониженным и высоким по сравнению с нормой титром АТ к ДНК. Кривая, относящаяся к условно здоровым лицам, является нисходящей. Это подтверждено в случае с уровнем антител к нДНК и дДНК. Это выявляет общую закономерность течения различных заболеваний, в том числе и перинатальной патологии ЦНС (ПП ЦНС). Установлена ($p < 0,05$) корреляционная зависимость как между концентрацией внкДНК и уровнем АТ к ДНК [$r_s = 0,33$], так и между внкДНК и степенью тяжести АБА [$r_s = -0,06$].

Обнаружено ($p < 0,05$) снижение показателя τ (проницаемости мембран эритроцитов) (23,13 мс – для детей с задержкой развития плода; 36,95 мс – ПП ЦНС) относительно условно здоровых (УЗ) лиц (61,8 мс); увеличение ($p < 0,05$) концентрации малонового диальдегида (МДА) в плазме крови при ПП (0,046 мкмоль/л) относительно УЗ (0,012 мкмоль/л); различия ($p < 0,05$) в состоянии АОС между УЗ (22,46 кКл/л) и детьми с ПП (27,89 кКл/л); соотношение МДА/АОС снижается у новорожденных с ПП с 295% в первые сутки, до 219% на 2-3-е сутки относительно УЗ (100%); корреляционные зависимости между: τ и МДА ($r_s = -0,45$); МДА и АОС ($r_s = 0,648$); τ и АОС ($r_s = -0,673$); τ и МДА/АОС ($r_s = -0,23$).

Заключение. Выявлены новые молекулярные маркеры отличия иммунологического состояния исследуемой группы лиц. Молекулярно-биохимические критерии в контексте с математическим анализом могут быть использованы клиницистами в качестве интегративного теста определения тяжести АБА и прогнозирования развития заболевания. Исследование проницаемости мембран эритроцитов в комплексе с ПОЛ и АОС позволит эффективно использовать мембраностабилизирующую и антиоксидантную терапию для своевременной коррекции патологического состояния, улучшая показатели здоровья.

ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ ПАЦИЕНТОВ, БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

Бельтюкова А.С.¹, Сысоев К.А.¹, Хобейш М.М.¹,
Монахов К.Н.¹, Тотолян Арег А.²

¹ Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Санкт-Петербург, Россия

² НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,
Санкт-Петербург, Россия

Псориаз является одним из самых распространенных дерматозов. Несмотря на интенсивное изучение этого

заболевания некоторые вопросы этиологии и патогенеза остаются малоизученными. Целью исследования было определение особенностей цитокиновой регуляции у больных псориазом. Уровень 50 цитокинов в сыворотке периферической крови ($n = 10$) и 8 цитокинов в моче ($n = 52$) пациентов псориазом, склеродермией и атопическим дерматитом (группы сравнения; $n = 5$) и практически здоровых лиц ($n = 13$) методом мультиплексного анализа белков. У пациентов с псориазом по сравнению со здоровыми добровольцами в сыворотке периферической крови было выявлено повышенное содержание провоспалительных (IL-1 β , TNF α) молекул, Th-1-цитокинов (IFN γ , IL-2), Th-2-цитокинов (IL-6, IL-13), хемокинов (CCL11/Eotaxin, CCL4/MIP-1 β , CCL7/MCP-3, CCL27/STACK, CXCL1/GRO α , CXCL9/MIG, CXCL12/SDF-1 α) и факторов иммуногемопоэза (GM-CSF, G-CSF). Анализ уровня цитокинов в моче больных псориазом с разным значением индекса PASI показал повышенное по сравнению с контрольной группой содержание IL-4, IL-10, GM-CSF, IFN γ и TNF α , зависящее от тяжести и распространенности кожного поражения. Была выявлена корреляционная зависимость между содержанием IL-6 и уровнем белка в моче. Полученные данные свидетельствуют о значительных сдвигах в системе цитокиновой регуляции при псориазе. Эти сдвиги можно рассматривать как проявление эндогенных гомеостатических механизмов, направленных на ограничение интенсивности воспалительного процесса.

АУТОИММУННЫЕ РЕАКЦИИ У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА В ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Бережнова И. А., Анциферова Л.А., Шишкова Н.И., Коршунов Г.В.

ГУЗ «Областной госпиталь для ветеранов войн», г. Саратов, Россия

ФГУ «СарНИИ травматологии и ортопедии Росмедтехнологии», г. Саратов, Россия

Обследовано 204 женщины с ИБС в возрасте 60-90 лет с различными сроками менопаузы. Исследование аутоиммунитета (АУИ) проводилось с использованием набора «ЭЛИ-П-Комплекс» и «ЭЛИ-АИМ-Тест» («Иммункулус»). Определялись антитела к хорионическому гонадотропину (А-ХГЧ), к ДНК (А-ДНК), к β 2-гликопротеину (А-ГП), антиидиотипические антитела к β 2-гликопротеину (А-А-ГП), ревматоидный фактор (А-Fc), антитела к коллагену (А-К), к S100 (А-S), к МР-65 (А-МР) и миозину (А-М). Нормальное их содержание для обследуемых тканей в пределах [-30; +20 у.е.]. Учитывалась степень гормональной насыщенности по Geist и Salmon, соответствующая схемам клеточного состава, предложенным Group и Bradbury и Schmitt [Мандельштам В.А., Свиндлер Е.А., 1966]. Данные кольпоцитологических исследований (КЦИ) оценивались по шкалам с учетом типа и класса мазка, наличия воспалительных изменений, степени дисплазии, признаков, характерных для доброкачественных и злокачественных новообразований; индексов: созревания (ИС); кариопикнотическо-

го индекса (КИ), индекса складчатости (СИ), индекса скученности или группировки клеток (ГК). По данным КЦИ, были сформированы группы: 1-я группа с воспалительным типом мазка (44%); 2-я группа с атрофическим типом (состоящая из трех подгрупп с атрофией I степени (2а гр.), с атрофией II степени (2б гр.) и с атрофией III степени (2с гр.)) (39%), 3-я группа с пролиферативным типом мазка (3%), 4-я группа с промежуточным типом мазка (10%); 5-ая группа с цитолитическим типом мазка (2%), 6-я группа с андрогенным типом мазка (2%).

У пациентов 1-й группы данные содержания А-ХГЧ (57,1 \pm 6,6); А-ДНК (131,2 \pm 7,1); А-ГП (117,3 \pm 11,3); А-А-ГП (125,8 \pm 11,5); А-Fc (103,5 \pm 9,1); А-К (172,3 \pm 14,3); А-S (163,5 \pm 12,6); А-МР (124,2 \pm 12,1); А-М (137,6 \pm 12,5) свидетельствовали об иммуноактивности, что может быть связано с активацией инфекционно-воспалительного процесса или онкопроцесса. У пациентов 2а группы содержание А-ХГЧ (-13,2 \pm 0,8); А-ДНК (-14,1 \pm 1,1); А-ГП (-17,2 \pm 1,6); А-А-ГП (-16,3 \pm 1,1); А-Fc (-23,4 \pm 1,9); А-К (-18,2 \pm 2,3); А-S (-19,2 \pm 1,6); А-МР (-13,2 \pm 1,0); А-М (-14,6 \pm 2,5) практически не отличалось от нормы, но имели отрицательные значения у исследуемых показателей, что свидетельствовало об умеренной иммуносупрессии на фоне хронической аутоинтоксикации. У пациентов 2б группы содержание А-ХГЧ (-21,5 \pm 1,8); А-ДНК (-24,3 \pm 2,3); А-ГП (-27,5 \pm 3,6); А-А-ГП (-19,2 \pm 1,9); А-Fc (-16,7 \pm 2,9); А-К (-27,3 \pm 4,3); А-S (-31,5 \pm 3,6); А-МР (-21,5 \pm 1,7); А-М (-26,2 \pm 3,5) свидетельствовали о более выраженной иммуносупрессии. У пациентов 2с группы содержание А-ХГЧ (-27,1 \pm 2,8); А-ДНК (-38,2 \pm 3,3); А-ГП (-56,1 \pm 3,1); А-А-ГП (-63,1 \pm 2,7); А-Fc (-35,2 \pm 1,9); А-К (-41,5 \pm 2,4); А-S (-36,7 \pm 2,5); А-МР (-35,4 \pm 2,5); А-М (-27,7 \pm 2,2) свидетельствовали о еще более выраженной иммуносупрессии. У пациентов 3-й группы содержание А-ХГЧ (6,2 \pm 0,8); А-ДНК (32,1 \pm 3,3); А-ГП (23,2 \pm 1,6); А-А-ГП (37,6 \pm 2,3); А-Fc (21,2 \pm 3,0); А-К (27,2 \pm 1,3); А-S (35,3 \pm 1,6); А-МР (-24,2 \pm 2,7); А-М (-11,5 \pm 0,5) свидетельствовали об эндокринно-метаболических нарушениях. У пациентов 4-й группы содержание А-ХГЧ (-28,3 \pm 2,8); А-ДНК (31,5 \pm 3,3); А-ГП (-6,1 \pm 0,6); А-А-ГП (32,1 \pm 2,9); А-Fc (-35,1 \pm 3,1); А-К (34,5 \pm 2,1); А-S (17,3 \pm 1,6); А-МР (-24,1 \pm 1,2); А-М (-11,2 \pm 1,5) свидетельствовали также об эндокринно-метаболических нарушениях. У пациентов 5-й группы содержание А-ХГЧ (11,1 \pm 0,7); А-ДНК (89,6 \pm 4,3); А-ГП (64,2 \pm 2,6); А-А-ГП (71,4 \pm 4,9); А-Fc (-27,3 \pm 1,1); А-К (31,2 \pm 1,3); А-S (21,5 \pm 1,8); А-МР (19,6 \pm 1,4); А-М (24,1 \pm 1,7) выявили их избыток в циркуляции, что указывает на активацию процессов апоптоза и индукцию выработки соответствующих антител. У пациентов 6-й группы содержание А-ХГЧ (-11,3 \pm 0,7); А-ДНК (-34,6 \pm 1,3); А-ГП (-22,2 \pm 2,1); А-А-ГП (-56,3 \pm 2,9); А-Fc (-69,1 \pm 2,1); А-К (-23,5 \pm 2,3); А-S (-32,4 \pm 2,8); А-МР (-26,1 \pm 1,7); А-М (-51,3 \pm 4,1) свидетельствовало об умеренной иммуносупрессии на фоне хронической аутоинтоксикации. В 70% случаев во всех группах отмечались

признаки воспалительной дисплазии (1-2 балла). КИ (при пролиферативном типе мазка) у больных составлял не более 30%, СИ – 0 баллов, ГК – не более 3 баллов.

Интегральная оценка при скрининговом кольпоцитологическом исследовании в старшей возрастной группе в сочетании с другими методами диагностики, среди которых исследование аутоиммунных реакций, позволяет выявить степень патологических изменений в шейке матки, что обеспечивает более дифференцированный подход к подбору методов и средств терапии.

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ОСТРОЙ СЕНСОНЕВРАЛЬНОЙ ТУГОУХОСТИ

Бубнова Л.Н., Павлова И.Е., Беличева Э.Г.¹

¹ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург, Россия

Тугоухость является широко распространенным заболеванием. Нарушения слуха имеются у 14% лиц в возрасте от 45 до 64 лет и у 30% лиц старше 65 лет. Число больных с нарушениями слуха в Российской Федерации превышает 12 млн человек. Согласно прогнозам, к 2020 году более 30% всей популяции земного шара будут иметь нарушения слуха, поэтому поиск иммуногенетических факторов, определяющих снижение слуха или его потерю при острой сенсоневральной тугоухости (ОСНТ), является исключительно актуальным направлением.

Целью исследования явилось изучение особенности распределения аллелей HLA-генов локусов A, B, DRB1* DQB1* для выявления генетических факторов риска развития ОСНТ.

Проведено обследование больных с идиопатической (65 человек), сосудистой (46 человек), инфекционной (43 человека) тугоухостью, а также в группе с другими причинами развития заболевания (23 человека).

Определение аллелей HLA-A, B, DRB1* DQB1* проводили методом PCR-SSP, контрольную группу составили 346 здоровых жителей Северо-Запада России. При проведении статистической обработки значения хи-квадрат определяли с поправкой Йетса для малых выборок.

Обследование больных с идиопатической тугоухостью показало, что аллель B51 встречается у них в 2 раза чаще, чем у здоровых лиц (20,00% против 10,59% в контроле, $\chi^2 = 5,92$, RR = 2,11, EF = 0,11), так же как и аллель B44 (32,31% против 17,73% в контроле, $\chi^2 = 9,24$, RR = 2,21, EF = 0,18). В локусе DRB1* достоверно чаще встречался аллель DRB1*03 (31,25% против 16,5% в контроле, $\chi^2 = 7,73$, RR = 2,30, EF = 0,18). HLA B18 при этой форме тугоухости встречался в 2 раза реже, чем у здоровых лиц (6,15% против 15,46% в контроле, $\chi^2 = 4,27$, RR = 0,36, PF = 0,06), так же как DRB1*04 (9,38% против 21,1% в контроле, $\chi^2 = 4,77$, RR = 0,39, PF = 0,09) и DRB1*13 (12,50% против 23,7% в контроле, $\chi^2 = 3,95$, RR = 0,46, PF = 0,13). В локусах A и DQB1* у больных с идиопатической тугоухостью не было выявлено достоверных различий в сравнении с контрольной группой.

При анализе распределения HLA специфичностей у пациентов с сосудистой этиологией установлено, что в этой группе больных в 2 раза чаще, чем среди здоровых лиц, встречается аллель B38 (17,39% против 8,69% в контроле, $\chi^2 = 4,30$, RR = 2,21, EF = 0,10). в локусе DRB1* достоверно чаще встречается специфичность DRB1*15 (43,75% против 28,3% в контроле, $\chi^2 = 4,76$, RR = 1,97, EF = 0,22). В локусах A и DQB1 достоверных отличий не выявлено.

Распределение HLA специфичностей у больных с тугоухостью инфекционного генеза, так же как и в группе с другими причинами, не отличается от таковой в контрольной группе.

Полученные результаты позволяют считать аллели HLA B44, B51 и DRB1*03 иммуногенетическими маркерами предрасположенности к развитию идиопатической тугоухости, а аллели HLA B38 и DRB1*15 – к развитию тугоухости сосудистой этиологии. HLA-B18 и HLA-DRB1*04 и DRB1*13 ассоциированы с резистентностью к идиопатической тугоухости.

СОСТОЯНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ЖЕНЩИН С АУТОИММУННЫМ ТИРЕОИДИТОМ С РАЗЛИЧНЫМ СОСТОЯНИЕМ ФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кадричева С.Г., Савченко А.А., Манчук В.Т., Белоусова С.В.

НИИ медицинских проблем севера СО РАМН, г. Красноярск, Россия

Специфичность патогенеза аутоиммунного тиреоидита (АИТ) на уровне организма определяется в том числе и уровнем тиреоидных гормонов. В организме больных происходит перестройка иммуноэндокринных взаимосвязей, что отражается и на обладающих богатым рецепторным аппаратом лимфоцитах периферической крови. В результате воздействия нефизиологических доз цитокинов и тиреоидных гормонов на лимфоциты изменяется уровень их функциональных возможностей. Вместе с тем реализация регуляторных воздействий и формирование ответных реакций происходит именно на уровне метаболической системы. Несомненно, что обмен веществ клеток также зависит и от концентрации метаболитов и регуляторных веществ. Следовательно, именно изучение метаболизма лимфоцитов позволяет охарактеризовать метаболическое состояние клеток всего организма и оценить уровень функциональных возможностей систем организма.

Обследованы 74 женщины с АИТ: 32 – в состоянии эутиреоза (43,3%), 24 – субклинического гипотиреоза (32,4%) и 18 – гипотиреоза (24,3%). У пациенток при эутиреозе статистически достоверно повышена концентрация ТТГ относительно уровня, выявляемого у женщин контрольной группы. У больных с субклиническим гипотиреозом в сыворотке крови снижена концентрация сТ4 и еще в большей степени (чем при эутиреозе) повышено содержание ТТГ. Наибольшие изменения тиреоидного статуса выявлены при гипотиреозе. У больных АИТ данной группы выявляется минимальная концентрация Т4, сТ4 и максимальный уровень ТТГ в отличие от групп

пациентов с эутиреозом и субклиническим гипотиреозом. В качестве контроля обследованы 98 практически здоровых женщин аналогичного возраста. Исследование активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови проведено с помощью биолюминесцентных методов.

Исследование метаболизма лимфоцитов женщин с АИТ показало особенности, характерные для различных состояний функции щитовидной железы. При состоянии эутиреоза в лимфоцитах крови выявлено снижение активности лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы (МДГ), НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы при повышении – НАД-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ). Показатели активности ферментов указывают на разбалансировку метаболизма лимфоцитов, выражающуюся, в первую очередь, в нарушении энергопродукции: при активации лимитирующего фермента цикла Кребса подавлены ключевой и вспомогательный энзимы этого процесса. К тому же наблюдается некоторое снижение анаэробного окисления. Однако выявленное повышение уровня аминирования α -кетоглутарата с образованием глутамата отражает активацию аминокислотного обмена и, возможно, белкового синтеза. Несмотря на нормальный уровень тиреоидных гормонов и, следовательно, гормональную регуляцию метаболизма, именно в этой группе обследованных выявлено наиболее выраженное отличие метаболизма лимфоцитов. Подобное состояние обмена веществ в клетках соответствует нарушению регуляции на межсистемном уровне при аутоиммунном процессе.

Метаболизм лимфоцитов крови женщин с АИТ в состоянии субклинического гипотиреоза характеризуется повышением активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Следовательно, при гипотиреозе активирована иницирующая и ключевая реакция пентозофосфатного пути окисления глюкозы, что может быть вызвано увеличением потребления пентозофосфатов и НАДФН, необходимых в реакциях макромолекулярного синтеза. Зафиксированное нами нормальное состояние энергетических процессов в лимфоцитах, вероятно, отражает результат адаптации системы метаболизма к влиянию биологически активных веществ, сопровождающих аутоиммунную реакцию.

При состоянии клинического гипотиреоза у лиц с АИТ в лимфоцитах крови снижена активность МДГ и НАДИЦДГ. В условиях снижения тиреоидной стимуляции в лимфоцитах пациенток с АИТ подавлены ключевая и лимитирующая реакции цикла Кребса и, соответственно, аэробное окисление. Следовательно, при длительно протекающей аутоиммунной реакции, сопровождающейся гипотиреозом, в первую очередь страдают реакции митохондриального окисления.

Таким образом, исследование метаболизма лимфоцитов показало его зависимость от состояния функции щитовидной железы у женщин с АИТ. В наибольшей степени метаболизм лимфоцитов изменен при эутиреоидном состоянии тиреоидной функции женщин, больных АИТ, что выражается в нарушении окислительных процессов при активации аминокислотного обмена.

У пациентов с АИТ при субклиническом гипотиреозе активирован синтез пентозофосфатов и НАДФН в лимфоцитах крови. В условиях манифестного гипотиреоза в лимфоцитах крови женщин с АИТ подавлены реакции ЦТК и, соответственно, аэробное окисление.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ЦИТОКИНОВ, МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ И ИХ СООТНОШЕНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ И ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Казаков С.П.

*Главный военный клинический госпиталь
им. акад. Н.Н. Бурденко МО РФ, Москва, Россия*

Введение. В последние годы значительное внимание уделяется накоплению знаний о цитокиновом статусе при разных нозологиях, для чего используют самые современные методы оценки большого количества цитокинов в одной пробе. Для дополнительной диагностики, оценки тяжести и прогнозирования течения заболевания определяют концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов. Полноценного изучения цитокинов и молекул адгезии при злокачественных, доброкачественных новообразованиях и аутоиммунной патологии щитовидной железы не проводилось. Результаты исследования в одной пробе большого количества цитокинов и молекул адгезии и их соотношений при этих патологиях щитовидной железы представляют значительный интерес для раскрытия механизмов развития заболевания, а также помощи в дополнительной диагностике изучаемых нозологий.

Цель исследования: изучить концентрации про- и противовоспалительных цитокинов и молекул адгезии, а также рассчитать наиболее приемлемые их соотношения для диагностики аутоиммунной патологии, злокачественных и доброкачественных новообразований и щитовидной железы.

Материалы и методы. Исследовали плазменную концентрацию цитокинов $IFN\gamma$, IL-10, IL-6, IL-4, MCP-1, $TNF\beta$ и молекул адгезии – sE-selectin, sICAM-1 у 47 пациентов при злокачественных (20 пациентов), доброкачественных (15 пациентов) новообразованиях и аутоиммунной патологии (12 пациентов) щитовидной железы. Все нозологические формы были верифицированы стандартными гистологическими исследованиями. Концентрацию плазмы крови исследовали методом проточной цитометрии (Coulter Epix XL-MCL) с использованием наборов «Multiplex» (Bender Medsystems GmbH, Австрия). Полученные данные обрабатывали с помощью программы FlowCytomix Pro 2.1.

Результаты. Результаты исследования показали, что обследуемых больных отмечалось отчетливое увеличение концентраций некоторых цитокинов (IL-10, IL-4, MCP-1, $TNF\beta$) и молекул адгезии (sE-selectin, sICAM-1) по сравнению с донорами в направлении аутоиммунные заболевания, доброкачественные новообразования и злокачественные новообразования щитовидной железы. В то же время концентрация $IFN\gamma$ по сравнению с донорами и с заявленной выше патологией снижалась

и была минимальной у больных с злокачественными новообразованиями щитовидной железы. Концентрация IL-6 имела разнонаправленный характер, так при аутоиммунной патологии щитовидной железы составила $30,39 \pm 6,38$ пг/мл, что было значительно выше, чем у доноров – $7,8 \pm 5,2$ пг/мл. Концентрация IL-6 у больных со злокачественными новообразованиями щитовидной железы была максимальной и составила $31,30 \pm 17,41$ пг/мл. В то время как у больных с аденомами щитовидной железы концентрация IL-6 была значительно меньше, не значительно превышая нормальные значения, составила $16,56 \pm 12,19$ пг/мл.

Наиболее значимые результаты получены при поиске приемлемых соотношений цитокинов и молекул адгезии и анализе их в обследуемых группах больных. Выявлено, что наиболее важные в диагностическом плане являются следующие соотношения – $IFN\gamma/IL-10$, $IFN\gamma/IL-4$, $IFN\gamma/MCP-1$, $IFN\gamma/TNF\gamma$, $IFN\gamma/sE-selectin$, $IFN\gamma/sICAM-1$ и $IL-6/IFN\gamma$. Исследование полученных соотношений, за исключением $IL-6/IFN\gamma$, показало значительное снижение показателя этих соотношений, в некоторых случаях до 300% при последовательной диагностике аутоиммунных заболеваний, доброкачественных новообразований и злокачественных новообразований щитовидной железы. Соотношение $IL-6/IFN\gamma$ у больных с патологией щитовидной железы имело другую динамику развития. Так, показатель этого соотношения был максимален у больных с раками щитовидной железы и составил 5,32, значительно отличался от такого же показателя у доноров – 2,1. В то же время показатели соотношения $IL-6/IFN\gamma$ у больных с аутоиммунной патологией щитовидной железы составил 2,91, а у больных с аденомами щитовидной железы – 1,73.

Заключение. Таким образом, определение концентрации цитокинов и молекул адгезии и в особенности показателя их соотношения позволяют использовать эти данные в дополнительной диагностике аутоиммунных заболеваний щитовидной железы от онкологической патологии в ней. А также применять показатели соотношения цитокинов и молекул адгезии в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных новообразований щитовидной железы.

ЗНАЧЕНИЕ ВЫЯВЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ АУТОАНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

Лазарева Н.М., Лапин С.В., Тотолян Арег А.

СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Системная красная волчанка (СКВ) является классическим ревматическим заболеванием. Определение ряда аутоантител: антинуклеарного фактора (АНФ), антител к двуспиральной ДНК (дсДНК), антител к экстрагируемому ядерному антигену (ЭНА), антител к кардиолипину (АКЛА) и к $\beta 2$ -гликопротеину 1 ($\beta 2$ -ГП1) используется для иммунологической лабораторной диагностики данного заболевания.

Цель и задачи. Определить совместную встречаемость АНФ, антител к дсДНК и ЭНА у больных СКВ. Выяснить встречаемость антител к дсДНК у больных СКВ с поражением почек. Сравнить частоту выявления АКЛА у пациентов с СКВ на тест-системах разных производителей.

Материалы и методы. Было исследовано 115 сывороток больных СКВ (111 женщин и 4 мужчины) в возрасте от 19 до 65 лет. У всех больных определялись АНФ, антитела к дсДНК и ЭНА. АНФ определялся методом непрямой иммунофлюоресценции (нРИФ) на клеточной линии Her-2. ЭНА и антитела к дсДНК выявлялись с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА). У больных с высокими титрами антител к дсДНК использовался метод нРИФ на простейших рода *Crithidia luciliae* (СЛ-ИФТ). Была проведена оценка сочетанной встречаемости АНФ, АКЛА и антител к $\beta 2$ -ГП1 в 558 сыворотках больных с различной аутоиммунной патологией. Были проанализированы тест-системы разных производителей для выявления АКЛА и антител к $\beta 2$ -ГП1.

Основные результаты. У 87% больных СКВ был обнаружен АНФ. ЭНА и антитела к дсДНК были обнаружены у 46 и у 18% соответственно. При использовании различных методов выявления антител к дсДНК они были обнаружены у 41% методом ИФА и у 29% методом СЛ-ИФТ. С помощью метода ИФА у больных с поражением почек и без почечной патологии антитела к дсДНК определялись у 41%. Метод СЛ-ИФТ показал, что у больных с поражением почек антитела к дсДНК были обнаружены у 41%, а без поражения – у 18%. Тест-системы различных производителей значительно отличались по чувствительности и специфичности, причем специфичность выявления АКЛА колебалась от 50-95%. в группе из 558 человек АКЛА были обнаружены у 12% больных, антитела к $\beta 2$ -ГП1 – у 9,5%. Пациенты с положительным скринингом АКЛА в 33% случаев были положительны по $\beta 2$ -ГП1. У пациентов, положительных по $\beta 2$ -ГП1, АКЛА класса IgG определялись у 26%, АКЛА класса IgM – у 30%.

Заключение. Антинуклеарный фактор является основным маркером для постановки диагноза СКВ. Антитела к дсДНК, ЭНА и АКЛА необходимо использовать в качестве дополнительных в диагностике данного заболевания. При определении антител к дсДНК с помощью метода СЛ-ИФТ, они чаще определялись у больных СКВ с почечной патологией. АКЛА классов IgG/IgM изолированно встречаются чаще, чем совместно с антителами к $\beta 2$ -ГП1. Следовательно, АКЛА и антитела к $\beta 2$ -ГП1 – независимые показатели.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НЛА-АНТИГЕНОВ 1-ГО КЛАССА У ЖЕНЩИН УЗБЕКСКОЙ НАЦИОНАЛЬНОСТИ

Мирахмедова Н.Н., Арипова Т.У.

Институт иммунологии АН РУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан

По данным многих исследователей, заболеваемость ревматоидным артритом (РА) у женщин примерно в 3 раза выше, чем у мужчин. При этом ревматоидным артритом женщины страдают в наиболее трудоспособном возрасте и часто приводит к ранней инвалидизации.

В связи с этим остается актуальным вопрос о ранней диагностике и первичной профилактике ревматоидного артрита. С этой целью нами было изучено распределение HLA-антигенов 1-го класса (А, В и С) у 86 женщин узбекской популяции. HLA-антигены выявлялись 2-ступенчатым микролимфоцитотоксическим тестом с применением антилейкоцитарных HLA-антисывороток (Санкт-Петербург, РФ) и кроличьего комплемента. Контрольную группу составил 301 здоровый человек. В процессе работы экспрессировалось 39 антигенов А, В и С локусов. С повышенной в сравнении с контролем частотой выявились такие антигены, как А25 (15,1% против 0,7% в контроле), А28 (22,1% против 4,9% в контроле). Для этих антигенов установлена достоверная разница в частоте встречаемости. Достоверно реже, чем в контроле по HLA-A локусу, встречался антиген А19 (3,5% против 11,9% в контроле).

По HLA-B локусу достоверно чаще в сравнении с контролем встречались такие антигены, как В16 (17,4% против 4,9% в контроле), В18 (9,3% против 3,7% в контроле), В22 (10,5% против 1,3% в контроле), В27 (15,1% против 8,9% в контроле).

По HLA-C локусу достоверно реже, чем в контроле, встречался антиген Сw4 (12,8% против 36,2% в контроле).

Наивысший показатель относительного риска RR был установлен для антигена А25 (RR = 26,6), далее следует В22 (RR = 8,7), В16 (RR = 4,0), В27 (RR = 2,8), В18 и А10 (RR = 2,7). Среди всех выявленных ассоциаций истинная связь была установлена для антигенов А25 и А28 ($P < 0,001$), что позволяет выделить эти антигены в качестве главных генов, тогда как другие В16, В18, В22, В27 несут аддитивный вклад в подверженность к РА среди женщин.

Таким образом, результаты наших исследований показывают важную вклад HLA-антигенов в формирование подверженности к ревматоидному артриту у женщин узбекской популяции.

ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛЬНОЙ СЕКРЕЦИИ ПРО- И АНТИАНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ЛАЗЕРКОАГУЛЯЦИИ СЕТЧАТКИ У ПАЦИЕНТОВ С ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ

Нероев В.В., Сарыгина О.И., Левкина О.А., Слепова О.С.

ФГУ Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца Росмедтехнологий, Москва, Россия

Введение. По мнению многих исследователей, нарушение баланса между проангиогенными факторами и ингибиторами ангиогенеза играет ключевую роль в патогенезе диабетической ретинопатии, а лазеркоагуляция сетчатки способствует восстановлению нарушенного равновесия и замедлению или остановке пролиферативного процесса. Основными ростовыми факторами, которые синтезируются тканями глаза и участвуют в локальной регуляции пролиферативного ответа, являются стимулятор ангиогенеза VEGF и его антагонист, ингибитор ангиогенеза, PEDF.

Цель: изучить содержание VEGF и PEDF в слезной жидкости (СЖ) пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией (ПДР) до и после проведения

транссклеральной диодной лазеркоагуляции сетчатки (ТДЛКС).

Материал и методы. СЖ собирали у 26 пациентов (50 глаз) с ПДР различной степени тяжести и у 5 здоровых доноров (контроль). 16 пациентам из 26 проводилась ТДЛКС, забор СЖ осуществляли перед лазерным вмешательством, а также на 3-й, 7-й и 14-й дни после него. На 25 глазах ранее была проведена панретинальная лазеркоагуляция (ПЛК). ИФА-определение VEGF – «Human VEGF ELISA Kit» (BioSource International Inc., USA), PEDF – «ChemiKine™ Pigment Epithelium-Derived Factor Sandwich ELISA Kit» (Chemicon International Inc., USA).

Результаты. У пациентов с ПДР и в контроле оба фактора выявлялись во всех пробах СЖ. Содержание VEGF при ПДР составляло $365,1 \pm 124,2$ пг/мл, что было выше контроля – $207,4 \pm 24,8$ пг/мл ($p > 0,05$), уровни PEDF $3,87 \pm 2,45$ нг/мл были достоверно ниже контроля $12,56 \pm 2,44$ нг/мл ($p < 0,01$). Самые высокие значения VEGF ($479 \pm 41,4$ пг/мл) в сочетании с минимальными показателями PEDF ($1,26 \pm 0,05$ нг/мл) определялись в случаях распространения пролиферативного процесса на передний отдел глаза с развитием рубеоза радужки, вторичной неоваскулярной глаукомы и достоверно отличались от контроля ($p < 0,01$). При преимущественной локализации пролиферативного процесса в заднем отделе глаза и наличии осложнений в виде кровоизлияния в стекловидное тело или тракционной отслойки сетчатки значения VEGF были ниже (гемофтальм – $343,8 \pm 57,7$ пг/мл, отслойка сетчатки – $403,2 \pm 90,9$ пг/мл), а PEDF выше (гемофтальм – $4,64 \pm 1,49$ нг/мл, отслойка сетчатки – $3,22 \pm 0,64$ нг/мл) показателей при неоваскулярной глаукоме ($p < 0,05$). Концентрация VEGF, равная 467 пг/мл и выше, выявлялась только при осложненной ПДР, равная 202 пг/мл и ниже, обнаруживалась исключительно при отсутствии осложнений. Значения VEGF, находящиеся в пределах 202-467 пг/мл, могли соответствовать любой стадии ПДР. Уровни PEDF, равные 1,84 нг/мл и меньше, определялись только при осложненной ПДР. Более высокая концентрация PEDF встречались при всех стадиях ПДР. Выявленная обратная корреляционная зависимость между VEGF и PEDF в СЖ при различных стадиях ПДР ($r = -0,7587$, $p = 0,007$) свидетельствует о разбалансировке в системе про- и антиангиогенных факторов, что может влиять на развитие осложнений пролиферативного процесса. При наличии лазеркоагуляции сетчатки в анамнезе значения VEGF были ниже ($p < 0,05$), а PEDF выше ($p > 0,05$) показателей без лазерного воздействия. После проведения ТДЛКС содержание VEGF снижалось на 3-й день ($p = 0,0102$), повышалось к концу 1-й недели, вновь снижалось на 2-й неделе ($p = 0,0059$). Значения PEDF к 3-му дню повышались, на 1-й неделе снижались, а к концу 2-й недели вновь повышались ($p = 0,0498$). На первой неделе после вмешательства уровни факторов изменялись зависимо друг от друга, что подтверждает проведенный корреляционный анализ ($r = -0,7142$, $p = 0,006$).

Выводы. Содержание VEGF и PEDF в СЖ пациентов с ПДР достоверно отличалось от контроля, отражало тяжесть течения пролиферативного процесса в глазу и зависело от наличия лазеркоагуляции сетчатки в анамнезе.

Обратная корреляционная связь между VEGF и PEDF в СЖ, выявленная при различных стадиях ПДР, указывает на реципрокные отношения между двумя факторами. В течение двух недель после проведения ТДЛКС у пациентов с ПДР выявлялась обратная динамика концентраций ростовых факторов, изменявшая их локальный баланс в пользу ангиогенных влияний.

АПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ЮВЕНИЛЬНОМ АРТРИТЕ У ДЕТЕЙ

Пашнина И.А.

Областная детская клиническая больница № 1,
г. Екатеринбург, Россия
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
г. Екатеринбург, Россия

В настоящее время накоплены данные о нарушении процессов апоптоза при различных аутоиммунных заболеваниях. Целью работы явилось исследование апоптотической активности лимфоцитов при ювенильном артрите (ЮА) у детей.

Обследовано 6 детей в стадии ремиссии (1 группа); 22 ребенка в активной фазе заболевания (2 группа); 14 детей без аутоиммунных заболеваний (контроль); средний возраст в 1 и 2 группах составил 13 лет, в контроле – 14 лет. У детей определяли уровень раннего апоптоза лимфоцитов (AnV+7AAD-) в спонтанном и стимулированном вариантах. Спонтанный уровень оценивали сразу после выделения лимфоцитов на градиенте плотности и после 2-х и 4-х часовой инкубации в среде RPMI с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки (37 °С, 5% CO₂). Стимуляцию проводили с помощью H₂O₂ в конечной концентрации 25 и 50 мкМоль/л при тех же условиях инкубации. Для математической обработки данных использовали непараметрический критерий Манна–Уитни и парный критерий Вилкоксона.

Уровень спонтанного апоптоза свежевыделенных лимфоцитов в обследованных группах не различался. После инкубации спонтанная апоптотическая активность лимфоцитов увеличилась во всех выборках по сравнению с соответствующим исходным уровнем апоптоза (p < 0,05). Однако в группах детей с ЮА это увеличение было более выраженным, что привело к появлению различий с контролем. У больных в активной фазе заболевания количество AnV+лимфоцитов существенно возросло и было больше контрольного уже после 2 ч инкубации (p < 0,05), а у пациентов в стадии ремиссии различия с контролем стали заметны после 4 ч (p < 0,05). Вероятно, лимфоциты больных с ЮА исходно имеют более высокую

готовность капоптотической гибели, которая реализуется в процессе их инкубации.

Добавление перекиси водорода в любой из использованных концентраций уже после 2 ч инкубации стимулировало апоптотическую активность лимфоцитов во всех группах детей, через 4 ч этот показатель возрасстал еще более значительно. Увеличение количества AnV+лимфоцитов во всех выборках было дозозависимым.

Наиболее высокими показателями стимулированного апоптоза были у больных в стадии ремиссии, различия с контрольной группой прослеживались при концентрациях H₂O₂ 25 и 50 мкМоль/л в оба срока инкубации (p < 0,05). В этой выборке перекись водорода в конечной концентрации 25 мкМоль/л через 4 ч вызвала усиление апоптотической активности лимфоцитов в 1,6 раза, а в концентрации 50 мкМоль/л – в 2,2 раза по сравнению с лимфоцитами, инкубированными без стимулятора. В группе больных в активной фазе ЮА динамика ответа на стимуляцию H₂O₂ была иной. После 2 ч инкубации доля AnV+лимфоцитов заметно возросла и была выше, чем в контрольной выборке (p < 0,05), затем темпы роста апоптотической активности снизились, и после инкубации в течение 4 ч существенные различия с контролем уже не прослеживались.

Таким образом, апоптотическая активность лимфоцитов у больных с ювенильным артритом отличалась от таковой у детей без аутоиммунных заболеваний. При ЮА, и в фазе ремиссии, и в фазе обострения лимфоциты периферической крови характеризовались повышенной готовностью к апоптозу, что выявлялось после их инкубации, как без стимулятора, так и в условиях экспериментального оксидативного стресса. Динамика апоптотической активности клеток зависела от стадии заболевания.

ДИСФУНКЦИИ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ С ЭРОЗИВНО-ЯЗВЕННЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ, СОЧЕТАЮЩИХСЯ С РАЗЛИЧНЫМИ ВАРИАНТАМИ МЕТАБОЛИЗМА НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Рудой А.С., Москалёв А.В.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург,
Россия
432-й главный военный клинический госпиталь,
г. Минск, Республика Беларусь

Введение. Не ослабеваает интерес к изучению иммунопатогенеза заболеваний желудочно-кишечного тракта

ТАБЛИЦА. КОЛИЧЕСТВО AnV+ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ЮА В СТАДИИ РЕМИССИИ И ОБОСТРЕНИЯ И У ДЕТЕЙ ИЗ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ (К ТЕЗИСАМ ПАШНИНОЙ И.А.)

AnV+лимф., % Группа	Исходный уровень	После 2 часов инкубации			После 4 часов инкубации		
		Не стимулир.	H ₂ O ₂ , 25 мкМоль/л	H ₂ O ₂ , 50 мкМоль/л	Не стимулир.	H ₂ O ₂ , 25 мкМоль/л	H ₂ O ₂ , 50 мкМоль/л
Контроль	4,1	6,2	7,5	9,0	8,0	10,4	13,0
1 группа	5,3	7,7	11,0	13,2	12,2	19,5	26,7
2 группа	5,6	8,9	10,6	12,5	11,3	13,9	19,1

с различными проявлениями синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ). Достоверно выявлена нарушенная функция фибробластов, что сопровождается неадекватной продукцией провоспалительных цитокинов, способствующих хронизации эрозивно-язвенных дефектов желудочно-кишечного тракта. Однако профили цитокинов в зависимости от клинического течения имеют весьма разнообразную динамику. Данный выявленный факт может быть положен в основу прогнозирования течения заболеваний с различной степенью активности, а также коррекции проводимой патогенетической терапии.

Цель: выявить возможные патогенетические взаимосвязи между содержанием провоспалительных цитокинов и трансформирующим ростовым фактором β (TGF β) в периферической крови у больных эрозивно-язвенными заболеваниями гастродуоденальной области с сопутствующей дисплазией соединительной ткани.

Материалы и методы. Осуществлено комплексное обследование 117 больных язвенной болезнью и эрозивными гастродуоденитами (возраст $21,4 \pm 2,6$ года) в фазе обострения и клинико-эндоскопической ремиссии. Основную группу составили 73 больных, имеющих признаки недифференцированной дисплазии соединительной ткани, остальные вошли в группу контроля. Продукцию интерлейкинов в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА с помощью тест-систем «Вектор-бест», г. Новосибирск. TGF β определяли с помощью диагностических тест-систем фирмы «Biosource», Бельгия.

Результаты. Установлен повышенный уровень TGF β у лиц с язвенной — $84,3 \pm 3,1$ пг/мл — патологией в сравнении с эрозивной — $78,6 \pm 2,8$ пг/мл, что указывает на высокую активность метаболизма коллагенсодержащих структур соединительной ткани при язвенном дефекте. При этом уровни TGF β были достоверно более низкими (в 2,7 раза) у лиц основной группы в фазе клинико-эндоскопической ремиссии, отражающей снижение активности фибрилло- и коллагеногенеза. Установлена незначительная динамика цитокинов к фазе ремиссии в основной группе: IL-1 β , IL-2, IL-6, особенно TNF β и IL-8 ($78,7 \pm 5,8$ и $77,5 \pm 4,5$; $73,94 \pm 4,4$ и $73,5 \pm 3,6$ пг/мл соответственно), что указывает на замедление репарации слизистой оболочки.

По результатам однофакторного корреляционного анализа были установлены достоверные отрицательные связи между TGF β и провоспалительными цитокинами в периферической крови — IL-1 β ($r_{xy} = -0,5$; $p < 0,005$), IL-2 ($r_{xy} = -0,6$; $p < 0,004$), IL-6 ($r_{xy} = -0,5$; $p < 0,005$), IL-8 ($r_{xy} = -0,6$; $p < 0,001$), TNF α ($r_{xy} = -0,5$; $p < 0,01$).

Данные результаты в какой-то степени объясняют сохранение повышенной продукции цитокинов, отвечающих за коллагеносинтетическую функцию фибробластов — IL-1 β , IL-6, TNF α , в фазе клинико-эндоскопической ремиссии у больных основной группы.

Выводы. Ранее нами были сделаны выводы, что более высокие уровни провоспалительных цитокинов, стимулирующих метаболизм соединительной ткани, у больных язвенной болезнью с сопутствующей НДСТ в фазе ремиссии могут носить адаптационно-компенсаторный характер, направленный на активную стимуляцию коллагенообразования в условиях сниженного метаболизма

коллагенсодержащих структур. Выявленная взаимосвязь провоспалительных цитокинов с TGF β позволяет считать, что в основе иммунопатогенеза данной категории больных лежит повышенная TGF β -активность. Избыточная активность TGF β может являться следствием дефицита фибриллина-1, мутации которого определяют фенотипические проявления ряда наследственных расстройств соединительной ткани, что является следствием хронизации эрозивно-язвенных процессов.

ВЛИЯНИЕ КАСКАДНОГО ПЛАЗМАФЕРЕЗА НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТА С IgA-НЕФРОПАТИЕЙ

Соснина А.В., Галкина О.В., Воинов В.А., Чернигина Л.В., Зуева Е.Е.

СПбГМУ им. ак. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. IgA-нефропатия — самая распространенная форма гломерулонефрита во всем мире. При данном заболевании происходит отложение в мезангии полимерного IgA и увеличение его концентрации в плазме крови. Известно, что данное заболевание может приводить к почечной недостаточности. В связи с этим актуальным является поиск новых терапевтических подходов для лечения IgA-нефропатии и лабораторная оценка их эффективности.

Цель и задачи. Целью данного исследования была оценка возможности применения методики каскадного плазмафереза для лечения пациентов с IgA-нефропатией. Для этого определяли концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, G, Е и сывороточный альбумин до и после процедуры каскадного плазмафереза в материале.

Материалы и методы. Материалом для исследования служила периферическая кровь мужчины 36 лет, который в течение года наблюдался в клинике нефрологии СПбГМУ им. ак. И.П. Павлова по поводу IgA-нефропатии и выраженной протеинурии. Определение концентрации иммуноглобулинов классов А, М, G и Е проводили до лечения, во время сеанса каскадного плазмафереза на аппарате «Гемофеникс» и после окончания процедуры. Определение концентрации иммуноглобулинов проводили турбидиметрическим методом на иммунохимическом автоматическом анализаторе «Image» («Beckman Coulter», США). Для оценки потери белка проводили определение концентрации альбумина в сыворотке крови до и после плазмафереза биуретовым методом.

Результаты. Уровень IgA до проведения плазмафереза был $6,4$ г/л ($n = 0,8-4,5$ г/л), после процедуры — $3,7$ г/л и соответствовал нормальному уровню. Концентрация иммуноглобулинов классов М и G до начала процедуры соответствовала референтному интервалу ($14,0$ г/л, $n = 7,7-15,6$ и $1,0$ г/л, $n = 0,5-3,0$ соответственно), после плазмафереза уровень снизился в 2 раза, и соответствовал $7,6$ и $0,4$ г/л. Исходная концентрация IgE значительно превышала границы нормы (600 МЕ, $n = 20-100$ МЕ), а после окончания терапии снизилась до 170 МЕ. Концентрация альбумина до и после плазмафереза не изменилась и соответствовала 38 г/л ($n = 35-50$ г/л).

Выводы. Сохранение неизменной концентрации альбумина после окончания процедуры свидетельствует о безопасности каскадного плазмафереза для здоровья пациента. При IgA-нефропатии в почечных клубочках идет депонирование иммунных комплексов с иммуноглобулином А. Снижение концентрации IgA после проведения процедуры каскадного плазмафереза подтверждает перспективность для лечения пациентов с IgA-нефропатией.

АССОЦИАЦИЯ МЕЖГЕННОЙ КОМБИНАЦИИ ГЕНОТИПОВ IL-1 β И IL-4 С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ/УСТОЙЧИВОСТЬЮ К РЕВМАТОИДНОМУ АРТРИТУ

Шашкевич Д.С., Бурмистрова А.Л., Сусллова Т.А.
Девальд И.В.¹

*Центр молекулярной иммуногенетики УрО РАН,
ГОУ ВПО «Челябинский государственный университет»,
г. Челябинск, Россия*

¹ *ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Росздрава», г. Челябинск, Россия*

Ревматоидный артрит (РА) – сложнаследуемое мультифакторное заболевание с неизвестной этиологией. К настоящему времени принято считать, что цитокины образуют регуляторную сеть и осуществляют свое действие во взаимосвязи друг с другом [Ярилин А.А., 1997, Сибиряк С.В., 2006]. В связи с тем, что одним из важных факторов, определяющих течение воспалительного процесса при РА, является сетевое взаимодействие провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, вероятно, и различные комбинации их генов также могут определять предрасположенность/устойчивость к РА.

Цель: провести анализ ассоциации сочетаний генотипов межгеновой комбинации IL-1 β и IL-4 с предрасположенностью/устойчивостью к РА в популяциях русских и башкир.

Материалы и методы. Группы больных РА составили пациенты больниц г. Челябинска и Челябинской области (97 человек русской и 61 башкирской популяций). Группы контроля составили потенциальные доноры стволовой клетки крови русской и башкирской популяций (213 и 93 человека соответственно) ОГУП «Челябинская областная станция переливания крови». Принадлежность к популяционной группе определялась по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения (согласно рекомендациям Международного Симпозиума, 1980 г., Лос-Анджелес). Прямая ПЦР-амплификация для VNTR в третьем интроне гена IL-4, ПДРФ для SNP в пятом экзоне гена IL-1 β (+3953 С/Т). Праймеры Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск). Детекция результатов – электрофорез в 8% ПААГ.

В качестве основного метода статистической обработки результатов использовался иерархический логлинейный анализ, который состоял из оценки трехфакторного взаимодействия (носительство определенных генотипов двух генов и их ассоциация РА), которое, в свою очередь состоит из трех двухфакторных взаимодействий: 1) комбинация «частоты встречаемости комбинаций генотипов гена I и гена II» (ген I – ген II); 2) комбинация «частоты встречаемости генотипов первого гена у больных РА

и здоровых лиц» (ген I – предрасположенность/устойчивость к РА); 3) комбинация «частоты встречаемости генотипов второго гена у больных РА и здоровых лиц» (ген II – предрасположенность/устойчивость к РА).

Достоверность различий оценивалась с помощью критерия максимального правдоподобия (G). Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, незначимыми при $p > 0,10$; для промежуточных значений p ($0,05 \leq p \leq 0,10$) обсуждали тенденцию к различиям. Для расчета вероятности возникновения заболевания в зависимости от носительства комбинаций генотипов применялся критерий отношения шансов с расчетом 95% доверительного интервала.

Результаты исследования. Межгеновое взаимодействие составлено из комбинаций генотипов генов провоспалительного цитокина IL-1 β и противовоспалительного цитокина – IL-4, подавляющего синтез IL-1 β и связанного с активацией продукции антител В-лимфоцитами при РА [Chou E.H.S., 2001]. Исследуемые гены располагаются на разных хромосомах: ген IL-1 β – на второй хромосоме, в локусе 2q13-q21, ген IL-4 – на пятой хромосоме, в локусе 5q23-31.

Установлены межпопуляционные различия между русскими и башкирами, больными РА, заключающиеся в том, что межгеновая комбинация генотипов генов IL-1 β – IL-4 ассоциирована с предрасположенностью/устойчивостью к РА у башкир, у русских – только с восприимчивостью к РА у женщин.

У башкир к РА предрасполагают две комбинации генотипов IL-1 β – IL-4 (G[4] = 12,75; $p = 0,013$): T/T-3R/2R (OR = 10,04; 95% ДИ 1,16-87,1) и C/C-3R/3R (OR = 2,36; 95% ДИ 1,06-5,24), а устойчивость к РА ассоциирована с комбинацией C/T-3R/3R (OR = 0,11; 95% ДИ 0,014-0,904).

У больных РА русской популяции комбинация генотипов IL-1 β – IL-4 оказалась значима только у женщин, больных РА: чувствительность к РА ассоциирована с сочетанием генотипов C/T-3R/2R (OR = 3,6; 95% ДИ 1,41-9,2).

Оценка межгеновых комбинаций, в основе которой лежат математические методы исследований, является только моделью взаимодействия различных генов, их генотипов и гаплотипов между собой. Но изучение таких отношений имеет, как отмечает ряд авторов [Brassart D., 2006; Ritchie M.D., 2005], большое будущее и поможет приблизить понимание механизмов многих патологических состояний и, прежде всего, сложно наследуемых мультифакторных заболеваний, в том числе РА.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ИММУНОФАРМАКОТЕРАПИИ НА КЛИНИЧЕСКУЮ КАРТИНУ И ДИНАМИКУ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

Сумина Д.С., Юдина С.М., Силина Л.В.

*Курский государственный медицинский университет,
г. Курск, Россия*

Введение. в последние годы отмечается рост заболеваемости псориазом, что, по-видимому, связано как

с генетическими дисфункциями, так и с факторами внешней среды. Так, псориаз встречается во всех странах мира, вне зависимости от расовой принадлежности. При этом частота его встречаемости в популяции по данным разных авторов составляет от 2 до 5%.

Цель и задачи: исследование показателей клеточно-го, гуморального звеньев иммунитета и цитокинового статуса больных псориазом, а также оценить клинико-иммунологическую эффективность экстракорпоральной иммунофармакотерапии (ЭИФТ) в комплексной терапии псориаза.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 86 пациентов с инфильтративной формой псориаза в прогрессирующую стадию патологического процесса. Контрольную группу составили 52 пациента, получавших традиционную терапию. Основную – 34 пациента, получавших традиционную терапию псориаза в сочетании с ЭИФТ. ЭИФТ назначали со второго дня поступления в стационар, после забора крови на лабораторные исследования. Процедуры ЭИФТ проводили ежедневно, 5-7 сеансов на курс лечения.

Результаты. В ходе исследований было установлено, что до лечения у всех больных отмечалось увеличение в периферической крови количества лимфоцитов CD4⁺ и CD16⁺ фенотипа, снижение CD8⁺ клеток. При исследовании уровня цитокинов в сыворотке крови выявлено значительное повышение IL-1 β , TNF α , IL-2 и IL-4, G-CSF, а также уровня IgA. Оценка динамики псориатических высыпаний в обеих группах проводилась при поступлении, на 10-е сутки и перед выпиской из стационара по данным индекса PASI.

Анализ динамики индекса PASI в контрольной группе показал, что клинически значимое его снижение на 75,8% произошло к 20-м суткам лечения у пациентов с легкой степенью тяжести псориаза, при этом динамика иммунологических показателей была выражена слабо. С учетом этого в основную группу были включены только больные со средней и тяжелой степенями тяжести псориаза. После курса ЭИФТ у большинства больных наблюдалась нормализация показателей CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺ лимфоцитов, снижение уровня IL-1 β , TNF α , IL-2, IL-4, G-CSF, уровня IgA. Анализ динамики индекса PASI на фоне ЭИФТ показал, что клинически значимое его снижение произошло уже к 10-му дню лечения у пациентов со средней степенью тяжести псориаза на 76,3%. У пациентов с тяжелой степенью тяжести отмечалось снижение индекса PASI к двадцатому дню лечения на 83%, по сравнению с его показателями до начала терапии. В сравнении, у пациентов контрольной группы, получавших только традиционную терапию, индекс PASI к 20-му дню снизился на 30,3% при средней и на 21,1% при тяжелой степени тяжести.

Заключение. Сочетание ЭИФТ с традиционной терапией псориаза позволяет более эффективно корректировать течение патологического процесса, дерматологического статуса и иммунологических показателей.

МЕТОДЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ АМИЛОИДОЗА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ТЕЧЕНИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Тишко А.Н.¹, Некрасова М.К.³, Лапин С.В.¹, Тотолян Арег А.², Илванова Е.П.⁴, Шемеровская Т.Г.⁵, Маслянский А.Л.³

¹ Научно-методический центр по молекулярной медицине на базе СПбГМУ, Санкт-Петербург им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

² НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Ленинградская областная клиническая больница, Санкт-Петербург, Россия

⁵ Санкт-Петербургский городской ревматологический центр, Санкт-Петербург, Россия

При длительном течении ревматоидного артрита может развиваться АА-амилоидоз, который характеризуется внеклеточным отложением нерастворимых амилоидных фибрилл. Помимо других органов и тканей амилоид откладывается в почках, и первым симптомом этого процесса в большинстве случаев является протеинурия и почечная недостаточность. Практически не изучено значение микроальбуминурии в диагностике асимптоматического амилоидоза при длительном течении ревматоидного артрита. В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение встречаемости микроальбуминурии и ее взаимосвязи с отложениями амилоида в подкожно-жировой клетчатке у пациентов с длительно текущим ревматоидным артритом.

Были обследованы 178 пациентов с диагнозом РА (145 женщин и 33 мужчины). Возраст варьировал от 18 до 80 лет, и в среднем составил 58,3 \pm 12,3 года. Диагноз ревматоидного артрита выставлялся на основании комплексного клинико-лабораторного обследования и критериев Американской ассоциации ревматологов. В группу исследования отбирались пациенты с длительностью течения ревматоидного артрита более 5 лет.

Для определения содержания альбумина в моче был использован иммунотурбидиметрический метод, для выявления отложений амилоида в тканях применялась биопсия подкожно-жировой клетчатки с окраской Конго красным и оценкой результатов в поляризованном свете микроскопа. Количество отложений амилоида оценивалось в крестах от 1 до 4.

Альбумин в моче обнаружен у 7,8% больных. В группе пациентов с микроальбуминурией было выполнено 8 биопсий подкожно-жировой клетчатки, 7 из них имели положительное окрашивание Конго красным и специфическое свечение в поляризованном свете микроскопа.

При сравнении клинических и лабораторных данных в группе пробиопсированных пациентов была выявлена взаимосвязь, которая показала, что чем больше количество отложений амилоида выявляется в подкожно-жировой клетчатке, тем более высокие значения имеет уровень креатинина крови. Взаимосвязи между длительностью течения ревматоидного артрита и количеством отложений амилоида выявлено не было. Также не было

выявлено зависимости между количеством отложений амилоида и содержанием альбумина в моче.

Таким образом, на фоне длительного течения ревматоидного артрита выявление микроальбуминурии и повышения уровня креатинина крови может свидетельствовать об асимптоматическом течении амилоидоза. Для ранней диагностики данного заболевания может использоваться биопсия подкожно-жировой клетчатки как наиболее простой и безопасный метод.

ГОРМОНАЛЬНЫЕ ЯДЕРНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ – НОВЫЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ МИШЕНИ ПРИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ?

Ширинский И.В., Ширинский В.С.

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск, Россия

Введение. В последние годы было показано, что суперсемейство ядерных гормональных рецепторов играет важную роль в регуляции гомеостатических, воспалительных, иммунных и метаболических процессов. К ядерным гормональным рецепторам относятся рецепторы, активируемые пероксисомальным пролифератором (PPAR), которые контролируют экспрессию ряда генов, участвующих в обмене липидов и иммунном ответе. Тесная взаимосвязь хронического воспаления и нарушенного липидного профиля при органонеспецифических аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит (РА), обосновывает возможность их терапии с помощью специфических агонистов различных изоформ PPAR – PPAR α (фибратов) и PPAR γ (тиазолидиндионов). Одним из основных провоспалительных цитокинов, участвующих в развитии РА, является IL-17. Влияние фибратов и тиазолидиндионов на синтез IL-17 не изучалось.

Цель: изучить влияние розиглитазона и фенофибрата на продукцию IL-17 мононуклеарами периферической крови (МНК ПК) больных РА.

Методы. В исследование были включены шесть больных с активным РА, получающие стандартные болезнью-модифицирующие препараты. В контрольную группу вошли пять здоровых доноров. МНК ПК культивировались в присутствии 1, 10 и 100 μ M розиглитазона или 1, 10 и 30 μ M фенофибрата в течение 72 часов. Для стимуляции использовались 10 μ M анти-CD3 или 50 нг/мл рекомбинантного IL-15. Концентрация IL-17 в супернатантах измерялась с помощью ИФА.

Результаты. У здоровых доноров розиглитазон в дозах 1, 10 и 100 μ M приводил к достоверному и дозозависимому повышению анти-CD3 индуцированного синтеза IL-17 на 68, 63 и 69% соответственно. Фенофибрат уменьшал IL-15-стимулированную продукцию IL-17 МНК ПК здоровых людей на 42,8% ($p < 0,05$). У больных РА розиглитазон не оказывал влияния на синтез IL-17. Фенофибрат в концентрации 10 μ M достоверно уменьшал анти-CD3 индуцированную продукцию IL-17 МНК ПК больных РА на 21,5% ($p < 0,05$). Напротив, в культурах МНК ПК больных РА выявлялось статистически значимое повышение IL-15-стимулированного синтеза IL-17 на 18% ($p < 0,01$),

16,5% ($p < 0,05$) и 25,9% ($p < 0,001$) при добавлении 1, 10 и 30 μ M фенофибрата соответственно. Этот эффект фенофибрата был дозозависимым.

Заключение. Розиглитазон не влияет на продукцию IL-17 МНК ПК больных РА. В зависимости от типа стимуляции, фенофибрат может повышать или уменьшать синтез IL-17. Результаты свидетельствуют о том, что действие агонистов PPAR α на продукцию IL-17 зависит от внутриклеточных сигнальных путей активации синтеза IL-17. Молекулярные механизмы выявленных эффектов фенофибрата требуют дальнейшего изучения.

КОМПЬЮТЕРНАЯ ДИАГНОСТИКА ИНДИВИДУАЛЬНОГО РИСКА РАЗВИТИЯ АУТОИММУННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Якушева М.Ю., Сарапульцев А.П., Сарапульцев П.А.

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

Введение. Сахарный диабет относится к разряду мультифакторных заболеваний с наследственной предрасположенностью, возникновение которых происходит в результате сочетания генетической предрасположенности индивидуума с комплексом биологических и средовых факторов, причем наследственности принадлежит ведущая роль в развитии СД. Однако до настоящего времени отсутствуют достоверные данные о значении предрасположенности к развитию сахарного диабета 1 типа, поэтому в большинстве случаев представляется мало эффективным осуществление генетического консультирования с ранней идентификацией «предиабета».

Цель и задачи: разработка компьютерной методики биометрической оценки индивидуального риска развития сахарного диабета 1 типа.

Материалы и методы. Методом дерматоглифического анализа обследовано 39 больных СД 1 типа и 39 практически здоровых человек, подобранных методом направленного подбора по признакам возраста, пола и национальности. Для обработки материала были использованы математические методы многофакторного анализа, основанные на теории распознавания образов.

Результаты. Выявленные в ходе исследования характерные особенности в дерматоглифике больных аутоиммунным диабетом и выработанные решающие правила позволили разработать диагностические правила для оценки индивидуального риска развития сахарного диабета 1 типа. Предложенная методика скрининг-тестирования основана на анализе дерматоглифической картины человека с помощью аппаратно-программного комплекса, состоящего из специально разработанного специалистами ЗАО «Папиллон» (г. Миасс, Челябинская область) дактилоскопического сканера, позволяющего проводить съем пальцевых и ладонных отпечатков с последующей передачей изображений в компьютер, где по специальной программе производится их расшифровка согласно Международной дерматоглифической классификации. При этом кодирование количественных

признаков осуществляется в автоматическом режиме, а качественных – оператором с помощью специальной системы шаблонов. Сами дерматоглифические изображения могут храниться в электронных базах данных и в дальнейшем использоваться для решения других диагностических задач.

Заключение. Разработанная методика компьютерной оценки индивидуальной предрасположенности к развитию аутоиммунного сахарного диабета позволит при проведении медицинских осмотров населения осуществлять отбор пациентов в группу повышенного риска развития этого вида сахарного диабета.