

# ИММУНОЛОГИЯ ИНФЕКЦИЙ

## АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ УСЛОВНО-ТОКСИЧНЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ВОЛОСАХ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ

Ахмеджанова З.И.

*Институт иммунологии АН РУз, г. Ташкент,  
Республика Узбекистан*

Анализ на содержание отдельных микроэлементов в органах и тканях — чувствительный диагностический тест, позволяющий обнаруживать и лечить различные заболевания. Анализ волос на микроэлементы является достаточно информативным методом, чем другие, а также во многом имеет и ряд значительных преимуществ: Волосы, в отличие от других биологических субстратов организма (крови, мочи, лимфы и т.д.) не требуют дополнительных мер их консервации до проведения исследования, а значит исследование их может проводиться не в срочном, а в плановом порядке, что позволяет проводить обследования пациентов без затрат на дополнительные меры хранения (реактивы, среды, холодильники и т.д.).

**Цель** нашего исследования: изучение некоторых условно-токсичных микроэлементов (As, Ba, Cd, Hg, Rb, Sb, Sc, Sr, U) у ВИЧ-инфицированных пациентов.

**Материалы и методы.** Нами обследованы 65 человек, из них 20 практически здоровых 45 ВИЧ-инфицированных, в возрасте от 21 до 55 лет. Все обследованные, ВИЧ-инфицированные, находились на учете в РЦ по борьбе со СПИДом с подтвержденным диагнозом, клинически и лабораторно методами и ИФА и иммуноблотинга. У всех пациентов были проведены обязательные лабораторные исследования (анализ крови, анализ мочи, глюкоза крови), биохимические исследования. Определение микроэлементного состава волос проводили нейтронно-активационным методом. Волосы для анализа состригали ножницами с 3-5 мест затылочной части головы, согласно рекомендациям Международного агентства по атомной энергетике (МАГАТЭ). Длина волос от корневой части до дистальной составляла 2-4 см. Подготовленные образцы подвергали нейтронно-активационному анализу. Определяли следующие элементы: As, Ba, Cd, Hg, Rb, Sb, Sc, Sr, La, U.

ВИЧ-инфицированные пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от показателей CD4 клеток (группа больных с CD4 больше 500, от 200-499, ниже 200). Анализ проведенных исследований показал, что Hg в 3 раза была снижена во всех трех группах, более выраженное снижение наблюдалось в группе больных с CD4 ниже 200, Значительное снижение Sb в 5 раз определялось во всех группах, As был снижен больше в группе больных с CD4 ниже 200, Cd был снижен в 5 раз во всех трех группах La, Sc были снижены во всех группах. Rb был выражено снижен во всех группах, наибольшее снижение в 20

раз было в группе с CD4 больше 500. Содержание Ba было снижено во всех трех группах, при индивидуальном анализе было выявлено повышение Ba у определенных женских лиц, которые употребляли определенные краски для окрашивания волос. Sr был повышен во всех группах, U были также снижен во всех группах.

Таким образом, проведенные исследования показали, что у ВИЧ-инфицированных наблюдаются снижение условно-токсичных микроэлементов микроэлементов, при чем снижение определяется во всех группах ВИЧ-инфицированных. Выявленные нарушения условно-токсичных и микроэлементов у ВИЧ-инфицированных определяет необходимость учета данных нарушений при лечении данных пациентов с момента постановки диагноза ВИЧ-инфекции.

## ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ С ВИРУСНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Багатка С.С., Светлицкая О.И., Иванчик Г.И.,  
Зафранская М.М.

*Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Беларусь*

Острые вирусные пневмонии — одна из наиболее актуальных и малоизученных проблем современной инфекционной патологии и пульмонологии. В настоящее время отмечается высокая распространенность и расширение спектра вирусных инфекций, увеличение количества больных с тяжелым течением пневмонии и показателя смертности среди лиц трудоспособного возраста, что обуславливает актуальность поиска возможного прогностического клиничко-иммунологического критерия исхода заболевания и назначения своевременной патогенетической терапии.

**Целью исследования** являлась оценка иммунного статуса и маркеров программированной клеточной гибели (апоптоза и некроза) у пациентов с тяжелой вирусной пневмонией для выявления прогностического критерия развития тяжелых осложнений заболевания.

**Методы.** За первый квартал 2011 года обследовано 24 пациента с тяжелыми формами полисегментарной двусторонней вирусной пневмонии с лабораторно подтвержденными диагнозами вируса парагриппа (n = 12) и высокопатогенного гриппа А H1N1 (n = 12). Исследование субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток осуществлялась методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител к поверхностным антигенам CD3, CD4, CD8, CD56, CD19 (Beckman Coulter, США). Оценка маркеров программированной клеточной гибели проводилась с использованием красителей аннексина V и пропидия йодида (Beckman Coulter, США).

**Результаты.** Для проведения статистической обработки данных стандартной иммунограммы, были сформированы группы пациентов в зависимости от исхода (выздоровление/летальный исход) и этиологии (типа вируса и ассоциации с бактериальной инфекцией) заболевания. У всех пациентов наблюдалась выраженная лимфопения ( $0,56 (0,43 \div 0,79) \times 10^9/\text{л}$ ), характерная для тяжелых вирусных инфекций. Исследование программированной клеточной гибели мононуклеаров периферической крови, отражающей интенсивность процессов деструкции на системном уровне, выявила относительно высокий уровень апоптоза ( $10,7 (6,3 \div 17,4) \%$ ) и вторичного некроза ( $11,6 (2,4 \div 19,7) \%$ ) клеток вне зависимости от исхода заболевания. Установлена тенденция к увеличению апоптотической гибели клеток у пациентов с диагнозом гриппа типа H1N1 в сравнении с пациентами с парагриппом ( $7,8 (1,3 \div 10,8) \%$  и  $19,1 (8,5 \div 31,0) \%$  соответственно,  $p = 0,03$ ) при неотягощенном бактериальной инфекцией течении заболевания.

В ходе сравнительного анализа субпопуляционного состава лимфоцитов, уровня сывороточных антител и формирования циркулирующих иммунных комплексов выявлены достоверные изменения в исследуемых группах только среди абсолютных и относительных показателей популяции естественных киллеров ( $CD56^+$ ) и специфических цитотоксических Т-лимфоцитов с фенотипом  $CD3^+CD8^+$ . Показано, что у пациентов с вирусной пневмонией типа H1N1 относительный показатель  $CD56^+$  клеток выше, по сравнению с пациентами, у которых возбудителем заболевания являлся вирус парагриппа ( $14,1 (8,3 \div 20,2) \%$  и  $9,8 (7,4 \div 11,9) \%$  соответственно,  $p = 0,041$ ). В группе пациентов с вирусной пневмонией, в дальнейшем ассоциированной с бактериальной инфекцией, отмечен более высокий процент  $CD8^+$  киллерных клеток по сравнению с группой пациентов с моно- (вирусной) инфекцией ( $37,7 (36,0 \div 43,0) \%$  и  $29,1 (26,1 \div 37,7) \%$  соответственно,  $p = 0,004$ ). Установлена обратная корреляция относительного показателя  $CD8^+$  клеток с маркерами клеточной гибели в группе пациентов с летальным исходом ( $R = -0,7$ ,  $p = 0,024$ ).

Таким образом, при вирусных пневмониях, в дальнейшем осложненных вторичной инфекцией, установлено более интенсивное развитие цитотоксических реакций по сравнению с активностью Т-хелперов, что создает благоприятные условия для присоединения бактериальной инфекции. При этом количество киллерных клеток коррелирует с маркерами клеточной гибели, что может являться маркером тканевой деструкции и фактором мониторинга течения заболевания.

### ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА, ИММУННОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ 1-7 ЛЕТ С ХРОНИЧЕСКИМИ КОЛИТАМИ

Беловолова Р.А., Бухтоярова М.В., Дзиваева М.Х., Минченко Н.В., Титов А.П.

*Ростовский государственный медицинский университет, МПУЛЗ, городская больница № 20, г. Ростов-на-Дону, Россия*

**Цель исследования:** выявить взаимосвязь состояния гуморального противовирусного иммунитета, иммунного статуса при хронических колитах у детей разного возраста.

**Материал и методы исследования.** Обследовано 62 ребенка с хроническим колитом в возрасте 1-7 лет. Диагноз установлен на основании результатов клинико-лабораторного, эндоскопического методов исследования. Изучение иммунного статуса включало определение субпопуляций лимфоцитов периферической крови с помощью моноклональных антител, сывороточных иммуноглобулинов – методом радиальной иммунодиффузии, уровня ЦИК – преципитацией в 4,16% растворе ПЭГа, определение метаболической активности фагоцитов – по НСТ-тесту. Уровень специфических противовирусных антител (Ат) в периферической крови определяли методом ИФА. Выделены возрастные группы: 1-2 года, 3-4 года, 5 лет и 6-7 лет.

**Результаты исследования.** Наличие противовирусных антител IgG класса свидетельствовало об инфицированности герпесвирусами, наличие Ат IgM или Ат IgG низкой авидности – об активной герпесвирусной инфекции. У 80% детей с хроническими колитами обнаруживали специфические противовирусные Ат IgG к ВЭБ; у 65% детей – Ат к ЦМВ, у 45% детей – одновременное присутствие Ат IgG к ВЭБ и ЦМВ. Возрастной анализ показал что у детей первых двух лет жизни с хроническими колитами в 77% случаев выявлялись противовирусные Ат к ЦМВ, причем у 31% определялись Ат IgM или IgG низкой авидности; в 46,1% случаев выявлялись Ат к ВПГ 1 и 2 типов, у 7,7% из них – Ат IgM или Ат IgG низкой авидности. Инфицированность детей ВЭБ в этой возрастной группе была низкой: у 7% детей выявлялись анамнестические Ат к ВЭБ. В возрасте 3-4 года сохранялась высокая инфицированность ЦМВ, в 55% случаев определялась серопозитивность к ЦМВ, у 30,8% из них – Ат IgM или Ат IgG низкой авидности. Резко возрастала инфицированность ВЭБ: у 52% регистрировался иммунологический ответ на ВЭБ, в 10,4% – по типу первичного. У 25% детей этой группы регистрировалась ассоциация ЦМВ + ВЭБ. Наибольшую вирусную агрессию испытывают дети в возрасте 5 лет. Ат к ВЭБ обнаруживались у 90% обследованных, из них у 30% – Ат IgM и/или Ат EA IgG. У 60% детей обнаруживались Ат к ЦМВ и у 59,6% – к ВПГ, из них у 30% – Ат IgM или IgG низкой авидности. У 50% детей этой группы регистрировалась ассоциация ЦМВ + ВЭБ. В возрасте 6-7 лет у 90% детей выявлялась инфицированность к ЦМВ, у 82% – к ВЭБ, у 64% – к ВПГ. Особенностью этого возраста являлось увеличение ассоциированности герпесвирусной инфекции: у 64,2% определялись Ат к ВПГ + ЦМВ, у 63,8% – к ЦМВ + ВЭБ, у 46,1% – к ВПГ + ЦМВ + ВЭБ. У детей этой группы расширялся спектр патологических процессов: чаще диагностировался хронический гастроэнтерит, пангастрит, экстрадуоденогастральная патология. Обнаружение Ат класса IgM и/или IgG низкой авидности у больных детей было сопряжено с выраженностью клинических и/или эндоскопических проявлений острого воспалительного процесса. Анализ параметров иммунного статуса выявил наличие дисфункции иммунной системы, что проявлялось дисбалансом субпопуляций лимфоцитов со снижением  $CD3^+$  лимфоцитов, увеличением  $CD20^+$  клеток. Изменения метаболической активности нейтрофилов проявлялись увеличением ее спонтанной и снижением индуцированной активности. Регистрировалась дисиммуноглобулинемия разной степени. Степень выраженности иммунологических сдвигов сочеталась с тяжестью воспалительного процесса.

Выявленные сочетания клинико-иммунологических признаков и состояния гуморального специфического противовирусного иммунитета отражают формирование воспалительного процесса с участием иммунологических механизмов и предполагают участие герпесвирусной инфекции в развитии воспалительного процесса, определяющих его тяжесть и органотропность, имеющих возрастную зависимость, что необходимо учитывать при диагностике и терапии этих состояний.

### **ВЛИЯНИЕ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ДЕТЕЙ**

**Бляхер М.С., Лопатина Т.К., Рамазанова З.К., Белоброва М.В.**

*ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия*

В последние годы интерес врачей к гомеопатическим препаратам, как корригирующим состояние иммунной системы, безусловно, возрос. Ряд препаратов – Энгистон, Афлубин, Оциллококцидум, Анаферон – предлагается многими специалистами не только для симптоматического лечения простуды, но и для лечения гриппа и гриппоподобных состояний, а также для профилактики этих заболеваний. Последнее требует рассмотреть вопрос, следует ли считать неизученный пока механизм действия гомеопатических препаратов сродни адаптогенному, способствующему «самовосстановлению» организма или можно ожидать, что они обладают иммуномодулирующими свойствами.

**Цель** настоящего исследования: сравнить влияния гомеопатических препаратов Оциллококцин, Афлубин и Анаферон на такой фактор противоиной защиты, как интерфероногенез и сопоставить его с другими изменениями в цитокиновой сети, а также с общей характеристикой иммунного статуса здоровых и часто болеющих респираторными инфекциями детей.

В исследование вошли дети – здоровые (38 чел.) или часто болеющие ОРЗ (ЧБД, 65 чел.) – до и после лечения или профилактики вышеуказанными препаратами.

**Методы исследования.** Иммунофенотипирование лимфоцитов (проточная цитометрия), исследование интерферонового статуса и определение цитокинов методом ИФА в культуральных супернатантах клеток крови детей.

**Результаты.** Основные различия между цитокиновым профилем у ЧБД и у здоровых детей того же возраста состоят в снижении индуцированной продукции  $IFN\gamma$  и  $TNF\alpha$ .

У здоровых детей не только не происходило заметного увеличения индуцированной продукции  $IFN\gamma$  после приема Оциллококцина или Анаферона, но в среднем на группу наблюдалось достоверное снижение этого показателя. У 23% и 31% детей (Анаферон и Оциллококцин соответственно) продукция  $IFN\gamma$  снижалась в пределах «нормального» диапазона, а у 46% и 38% – опускалась ниже границы нормы. Спонтанная продукция провоспалительных цитокинов снижалась как в группе «Анаферон», так и в группе «Оциллококцинум», в ряде случаев – значительно.

Вероятно, «облегчение симптомов простуды», упоминаемое в аннотации к препаратам, при лечении гриппа и других ОРВИ может быть связано именно со снижением уровня общей воспалительной реакции в организ-

ме, характеризуемого спонтанной продукцией провоспалительных цитокинов.

Аналогичное исследование было проведено у 65 ЧБД, проходивших в период сезонного подъема заболеваемости ОРВИ оздоровительное лечение в санатории. С профилактической целью 16 из них принимали Анаферон, 18 – Афлубин, а 22 проходили 4-х недельный оздоровительный курс без этих препаратов. На момент первого обследования все дети были здоровы, но за период наблюдения 23 человека перенесли очередное ОРЗ (в том числе, 5 – в группе «Анаферон», 12 – в группе «Афлубин»).

Снижение индуцированной продукции  $IFN\gamma$  (заметное, хотя и статистически не значимое) наблюдалось у ЧБД, принимавших Анаферон, и не происходило у ЧБД, проходивших стандартный оздоровительный курс. Если в группе «Анаферон», снижение индуцированной продукции  $IFN\gamma$  произошло у 63%, то снижение индуцированной продукции  $TNF\alpha$  было еще более типичным – оно происходило у 100% обследованных.

Спонтанная продукция  $TNF\alpha$  у ЧБД, оставшихся здоровыми в течение периода наблюдения, была низкой и при первом и при втором обследовании. У заболевших на фоне санаторного лечения спонтанная продукция  $TNF\alpha$  резко повышалась, а в группе «Анаферон» была ниже, что может свидетельствовать о менее выраженном воспалении при ОРЗ на фоне Анаферона.

Изменения численности субпопуляций лимфоцитов под влиянием гомеопатических препаратов не происходило ни у здоровых детей, ни у ЧБД.

Наблюдаемые явления снижения заболеваемости ОРВИ или снижения тяжести течения заболевания при применении Анаферона, Афлубина или Оциллококцина, вероятно обеспечивается не за счет стимуляции интерфероногенеза или других показателей состояния иммунной системы.

### **КОРРЕКЦИЯ ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ**

**Боева М.И., Конопля А.А., Сергеева С.Л., Гаврилюк В.П.**

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

**Введение.** В настоящее время существует единое мнение о развитии папилломавирусной инфекции (ПВИ) шейки матки и ее осложнений на фоне сниженного иммунитета. Осложненные формы инфекции вируса папилломы человека, то есть дисплазии различных степеней тяжести, по сравнению с неосложненными формами протекают с более выраженным угнетением неспецифических факторов защиты гуморального, а также клеточного звеньев иммунитета. Вышеизложенное является основанием для включения в комплексную терапию осложненных форм ПВИ шейки матки препаратов, стимулирующих иммунитет.

**Цель и задачи.** Установление иммунокорригирующей эффективности использования лонгидазы у пациенток с папилломавирусной инфекцией гениталий.

**Материалы и методы.** Под постоянным наблюдением находилось 48 больных папилломавирусной инфекцией. Группа контроля состояла из 15 здоровых доноров-добровольцев в том же возрасте. Клинический диагноз устанавливали на основании жалоб, анамнеза заболевания, данных объективного и лабораторно-

инструментального исследований. Всем пациенткам проводилось традиционное лечение, включавшее в себя генферон и витаминотерапию, при этом 19 больных помимо традиционного лечения, получали лонгидазу по 3000 МЕ внутримышечно на 3, 6, 9, 12 и 15 сутки.

**Основные результаты.** На момент обращения в клинику у больных ПВИ в крови повышено содержание CD8-, CD16-, CD95-клеток, в плазме крови концентрация IgA, IL-4, IL-8, IFN $\alpha$ , продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (малонового диальдегида и ацилгидроперекисей) и снижены уровень CD3-, CD25-клеток, концентрация IgM, IgG, C3, C4-компонентов системы комплемента, фагоцитарная и метаболическая активность нейтрофилов, активность каталазы. На местном уровне в вагинально-цервикальном смыве выявлено повышение концентрации как провоспалительных цитокинов, так и противовоспалительных компонентов системы комплемента и продуктов ПОЛ и неизменной активности каталазы.

На фоне проводимого традиционного лечения у больных ПВИ на системном уровне отмечалась нормализация уровня CD3-, CD16-, CD95-лимфоцитов, концентрации в плазме крови IgA, IL-4, фагоцитарной активности нейтрофилов и коррекция концентрации IgM, IgG, IL-8, IFN $\alpha$ . На локальном уровне у пациенток установлена нормализация уровня IL-1 $\beta$ , АГП и коррекция IL-8, IFN $\alpha$ , МДА, C4-компонента комплемента и повышение активности каталазы.

Применение лонгидазы позволило нормализовать дополнительно уровни CD4-, CD8-, CD25-клеток, НСТ-теста спонтанного, IgM, малонового диальдегида на системном уровне. Практически все показатели цитокинов и компонентов комплемента достигали уровня контрольной группы, исключение составил C3-компонент системы комплемента, который возрос в 1,5 раза по сравнению с показателями больных до лечения, кроме этого, возросла активность каталазы выше уровня здоровых доноров.

На местном (локальном) уровне у пациенток с ПВИ на фоне использования лонгидазы дополнительно нормализуется концентрация IL-8, IFN $\alpha$ , C4-компонента системы комплемента и продуктов ПОЛ.

**Заключение.** Таким образом, у больных папилломавирусной инфекцией шейки матки выявлены серьезные нарушения иммунного статуса, в частности это касалось содержания цитокинов, иммуноглобулинов и показателей

врожденного иммунитета. Традиционная терапия ПВИ не нормализует большинство изученных показателей, что требует включения в комплекс терапии способов иммунорекции, при этом использование лонгидазы позволяет более эффективно нормализовать и корригировать нарушенные на системном и местном уровнях показатели иммунометаболического статуса у пациенток с папилломавирусной инфекцией шейки матки.

### ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ В ТКАНИ ГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМ СИНДРОМОМ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Варюшина Е.А., Дроздова М.В., Тырнова Е.В., Симбирцев А.С.

ФГУП «Гос. НИИ Особо чистых препаратов» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

ФГУ Санкт-Петербургский НИИ Уха, носа, горла и речи Росмедтехнологий, Санкт-Петербург, Россия

Провоспалительные цитокины могут регулировать местный иммунный и воспалительный ответы в респираторном тракте. Продукция цитокинов была изучена у детей с лимфопролиферативным синдромом. Биопсии аденоидной ткани были взяты у 42 детей 3-8 лет при проведении операций аденотомии и аденотонзиллотомии. Продукцию цитокинов определяли в криостатных срезах методом непрямой иммуногистохимии. Нейтрофилы выявляли гистохимическим методом – окраской на миелопероксидазу. Клетки, продуцирующие цитокины, подсчитывали под микроскопом, результаты выражали в баллах – от 0 баллов (продукция не определяется) до 3 баллов (самая сильная интенсивность). Также подсчитывали процент больных, у которых выявлялся данный цитокин. У I группы детей (n = 16) была выявлена герпесвирусная инфекция (ВЭБ, ЦМВ), (паст-инфекция, PCR + DNA ВЭБ, ЦМВ), у II группы (n = 15) – стрептококковая инфекция (АСЛ-0 > 200 МЕ/мл), у III группы (n = 11) – эти маркеры не найдены, неясная этиология. Основные результаты приведены в таблице. Количество нейтрофилов, инфильтрирующих аденоидную ткань, не различалось между группами. Мы заключили, что у детей с хроническим лимфопролиферативным синдромом при герпесвирусной инфекции (ВЭБ, ЦМВ) продукция провоспалительных

**ТАБЛИЦА. ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ В АДЕНОИДНОЙ ТКАНИ У ДЕТЕЙ С ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМ СИНДРОМОМ (К ТЕЗИСАМ ВАРЮШИНОЙ Е.А. И ДР.)**

Цитокин		I герпесвирусная инфекция (ВЭБ, ЦМВ) n = 16	II стрептококковая инфекция n = 15	III неясная этиология n = 11
IL-1 $\alpha$	%	50	94	100
	Баллы	0,25 $\pm$ 0,23**	1,40 $\pm$ 0,40 <sup>#</sup>	1,00
IL-1 $\beta$	%	25	94	94
	Баллы	0,25 $\pm$ 0,23**	1,40 $\pm$ 0,35 <sup>#</sup>	0,90 $\pm$ 0,20
IL-6	%	50	100	100
	Баллы	0,50 $\pm$ 0,27**	1,53 $\pm$ 0,28 <sup>#</sup>	1,00
IL-8	%	75	100	100
	Баллы	0,93 $\pm$ 0,36*	1,73 $\pm$ 0,32 <sup>#</sup>	1,00

**Примечание.** p < 0,05 \* – I c II; + – I c III; # – II c III.

тельных цитокинов снижается при сравнении со стрептококковой инфекцией или при неясной этиологии.

### **ХИТОЗАН – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ АДЬЮВАНТ ДЛЯ ИНАКТИВИРОВАННЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ ВИРУСОВ ГРИППА, ПОЛИОМИЕЛИТА И БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА, ВВОДИМЫХ ПАРЕНТЕРАЛЬНО**

**Васильев Ю.М., Гендон Ю.З., Маркушин С.Г.,  
Ахматова Н.К., Аكوпова И.И., Коптяева И.Б.,  
Кривцов Г.Г.**

*НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН,  
Москва, Россия*

**Введение.** По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) вирусы гриппа птиц сохраняют высокий пандемический потенциал, сезонные эпидемии гриппа ежегодно приводят к высокой заболеваемости и большому количеству летальных исходов, а в последние годы в различных странах мира продолжают регистрироваться случаи полиомиелита, вызванные вирулентными штаммами. Кроме того, эпизоотии, вызываемые различными вирусами, в том числе вирусом гриппа птиц и болезни Ньюкасла, наносят значительный экономический ущерб.

Вакцинопрофилактика – один из основных способов борьбы с вирусными инфекциями людей и животных, однако имеющиеся препараты не лишены ряда ограничений. Так, иммуногенность вакцин против различных вирусов гриппа человека и птиц остается неоптимальной, в особенности против антигенно отличных штаммов. Иммуногенность инактивированной полиомиелитной вакцины также является невысокой, при том, что этот препарат является недешевым, хотя и не вызывает поствакцинального полиомиелита, отмечающегося при применении живых полиомиелитных вакцин. В силу этих причин может потребоваться проведение многократной иммунизации против гриппа и полиомиелита.

Необходимо отметить, что массовая вакцинация домашней птицы вакцинами против вируса гриппа птиц, для проведения которой необходимо наличие большого количества доступного и иммуногенного препарата, не только практически исключает распространение этих вирусов, но также снижает количество случаев инфекции человека вирусами гриппа птиц.

Адьюванты позволяют решить некоторые проблемы вакцинопрофилактики инфекционных заболеваний. Так, использование адьювантов как правило повышает иммуногенность вакцин, может позволить снижать кратность иммунизации, а также использовать сниженные дозы, что особенно важно при ограниченных мощностях производства вакцин. Однако применяемые в настоящее время адьюванты не являются оптимальными – они либо недостаточно иммуногенны, либо иммуногенны и реактогенны.

В последнее время было показано, что хитозан проявляет иммуногенную активность при мукозальном введении, однако представляет интерес и изучение парентерального введения хитозана. Хитозан – линейный полисахарид на основе производных глюкозамина, получаемый путем деацетилирования хитина, обладает не только иммуногенными свойствами, но также является неаллергенным, биodeградируемым, биосовместимым веществом, производные которого широко используются

в медицине, фармацевтической промышленности, и как пищевые добавки.

**Цель и задачи.** Изучение влияния добавления хитозана как адьюванта к инактивированным вакцинам против вирусов гриппа, полиомиелита и болезни Ньюкасла, вводимых парентерально, на иммуногенность и защитную эффективность, а также компоненты клеточного иммунитета.

**Материалы и методы.** В качестве адьюванта использовали различные препараты хитозана – растворы глютамата хитозана и суспензии микро/наночастиц сульфата хитозана. При внутримышечной иммунизации различных лабораторных животных (мыши, крысы) использовали соответствующие инактивированные вакцины и препараты вирусов. Оценку иммуногенности, защитной эффективности и параметров клеточного иммунитета проводили с учетом действующих рекомендаций, в том числе рекомендаций ВОЗ.

**Основные результаты.** Добавление хитозана в качестве адьюванта к инактивированному сезонным гриппозным вакцинам и инактивированным препаратам вирусов гриппа птиц серотипа H5, вводимым мышам внутримышечно, существенно повышает иммуногенность против как гомологичных, так и антигенно отличных штаммов уже после однократной вакцинации, а также существенно повышает защитную эффективность препаратов вируса гриппа птиц серотипа H5 против гомологичного и гетерологичного штамма и позволяет переходить на использование сниженных доз антигена. Аналогичные результаты наблюдаются для препаратов вирусов гриппа птиц, выращенных как с использованием культуры клеток, так и с использованием куриных эмбрионов.

Добавление хитозана к инактивированной трехвалентной полиомиелитной вакцине или инактивированным препаратам аттенуированных вирусов полиомиелита (штаммы Сэбина) существенно повышает иммуногенность уже после двукратной иммунизации мышей и однократной иммунизации крыс, а также позволяет переходить на использование сниженных доз антигена.

Добавление хитозана к инактивированным препаратам вируса болезни Ньюкасла, вводимым мышам внутримышечно, существенно повышает иммуногенность уже после однократной вакцинации.

Добавление хитозана к различным инактивированным вакцинам и препаратам вирусов оказывает комплексное влияние на компоненты клеточного иммунитета. Наблюдается стимуляция пролиферативной и цитотоксической активности мононуклеарных клеток селезенки мышей, увеличивается количество CD3, NK, CD3/NK, CD4/CD25/FoxP3, CD8, CD19,  $\gamma\delta$ T, I-AK (MHC II) и H-2Db (MHC I) клеток, а также IL-12, IFN $\gamma$  и TGF- $\beta$ .

**Заключение.** Хитозан является перспективным адьювантом для инактивированных вакцин против вирусов гриппа, полиомиелита и болезни Ньюкасла, вводимых парентерально, существенно повышает иммуногенность и защитную эффективность, позволяет переходить на однократную вакцинацию и использование сниженных доз антигена, а также индуцирует компоненты клеточного иммунитета.

## ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ АНТИГЕНЕМИИ *CANDIDA ALBICANS*

Велижинская Т.А., Агафонова Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия

Республиканская клиническая больница № 2, г. Казань, Россия

Все большую значимость в патогенезе клинических синдромов, ассоциированных с иммунологической недостаточностью (ИН) – инфекционного и atopического у детей приобретает персистенция оппортунистических патогенов, и в частности, грибов рода кандиды (ГРС). Важнейшим механизмом влияния ГРС является воздействие на показатели иммунологической реактивности антигенов грибов, из которых важнейшими являются компоненты клеточной стенки, и в частности маннанопротеиновый антиген (МА). Патогенетические и иммунологические аспекты влияния циркулирующего МА на механизмы формирования ИН у детей являются мало изученными.

Обследовались дети с инфекционным (хронические пиелонефриты, хронические заболевания верхних отделов желудочно-кишечного тракта, ассоциированные с бактериальными патогенами и грибами *C. albicans* N = 156) и atopическим синдромом (atopический дерматит, N = 78), осложненным формированием инвазивного кандидоза, что подтверждалось культуральными исследованиями и наличием повышенного уровня МА в сыворотке крови. Методами ПЦФ изучались популяции и субпопуляции лимфоцитов CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3D16/56<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD16/56<sup>+</sup>(NKT), CD4CD25<sup>hi</sup> (per), CD3CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD62L<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>, CD3<sup>-</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> моноцитов CD14<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> и нейтрофилов CD95<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>. В контроле обследована группа условно-здоровых детей (N = 30).

При исследовании фенотипических характеристик лимфоцитов выявлено достоверное снижение CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> как в относительных, так и в абсолютных значениях. Показано что МА является одним из факторов редукции зрелых Т-лимфоцитов за счет как субпопуляции CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, так и субпопуляции CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>. Уровень МА коррелировал с субпопуляциями лимфоцитов, имеющих супрессорную активность NKT, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>, CD3<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>. Выявлено повышение количества CD4CD25<sup>hi</sup> и взаимосвязь их содержания с уровнем МА. У больных достоверно нарастало содержание CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>, повышенное содержание которых коррелирует с пониженной выработкой IFN $\gamma$ . Корреляционный анализ выявил наличие взаимосвязей МА–CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> (r = -0,53; p < 0,05); МА–CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup> (r = -0,53; p < 0,05). Имело место снижение субпопуляции CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup> (p < 0,05) – высокодифференцированных эффекторов, что ассоциируется с угнетением Th1-иммунного ответа. Содержание CD62L<sup>+</sup>4<sup>+</sup> (популяция Т-хелперов, экспрессирующая рецепторы хоминга, по некоторым данным, популяция «наивных» лимфоцитов) было достоверно повышенным. Наиболее выраженные изменения отмечены для субпопуляции моноцитов CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, содержание которой повышалось более чем в 2 раза по сравнению с кон-

трольной группой. При корреляционном анализе выявлены обратные взаимосвязи между уровнем МА и количеством CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> клеток. Достоверно более низким было содержание CD14<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> (в 1,3; p < 0,05), что свидетельствовало о нарушении дифференцировки моноцитов. Показано, что антигенемия МА влияет на поверхностный фенотип N, усиливая экспрессию проапоптотического и HLA-DR рецепторов и уменьшая экспрессию рецепторов алгезии и цитолиза. Таким образом, влияние МА, через воздействие на фенотипические характеристики иммунокомпетентных клеток индуцирует супрессорную активность, подавляет иммунный ответ на патоген и как следствие вызывает прогрессирование иммунных расстройств.

## ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНАЯ СИСТЕМА КАК УНИВЕРСАЛЬНЫЙ БИОМАРКЕР ДЛЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Волчек И.В.<sup>1</sup>, Петров А.С.<sup>1</sup>, Острцова И.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> «ДискавериМед», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Медицинский центр «Олмед», Санкт-Петербург, Россия

Высокую актуальность представляет поиск новых универсальных биомаркеров для персонализированной терапии заболеваний человека. Тиол-дисульфидная (SH/SS) система выбрана в качестве мишени для мониторинга лекарственных воздействий как важнейшая биохимическая система, характеризующая состояние антиоксидантной защиты и окислительно-восстановительных процессов организма. В настоящее время уровень плазменных или сывороточных тиолов, включающих белковые и безбелковые тиолы (SH) и тиол-дисульфидное (SH/SS) соотношение (ТДС) крови рассматриваются как показатели иммунокомпетентности и состояния неспецифической резистентности организма.

Обследовано более 1000 больных хроническим гепатитом С (ХГС), генитальным герпесом, папилломавирусной инфекцией, хламидиозом, хроническим бронхитом, генитальным эндометриозом, немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), метастатическим раком почки и предстательной железы. Был разработан способ скрининга лекарственных препаратов (RU 2100700), в ходе исследования цельная кровь с антикоагулянтом (ЭДТА) инкубируется в термостате (37 °С) в присутствии препаратов в течение 1-2 часов, контрольные пробы инкубируются с физиологическим раствором. Определение SH- и SS-групп в гемолизате проводится методом спектрофотометрии. При обработке данных сравниваются показатели SH-групп и ТДС в контрольных и опытных (с добавлением препарата) образцах.

Установлено, что все лекарственных препараты, включая антибиотики, цитостатики, гормональные, противовирусные и иммуностимулирующие препараты, помимо воздействия на клетки-мишени, оказывают стимулирующее или угнетающее влияние на ТДС крови, на основании которого можно прогнозировать эффективность и безопасность терапии, а также индивидуализировать лечение. В контролируемых исследованиях показано 3-кратное повышение частоты вирусологического ответа при персонализированной монотерапии интерфероном (IFN) больных ХГС, при этом частота побочных эффектов снизилась почти в 6 раз по сравнению со стандартной те-

рапией IFN. Прогностическая значимость ТДС-теста для лечения больных ХГС составила 89,8%. В контролируемых исследованиях показано также 2-кратное повышение эффективности персонализированной терапии генитального эндометриоза гормональными препаратами по сравнению со стандартной и 2-кратное повышение частоты частичной ремиссии после персонализированной терапии цитостатиками НМРЛ по сравнению со стандартной. При персонализированной антибактериальной терапии обострений хронического бронхита неудовлетворительный клинический результат или рецидив наблюдались в 3 раза реже, неудовлетворительный бактериологический результат – в 4 раза реже, частота побочных эффектов – в 2 раза реже.

Таким образом, тиол-дисульфидная система может рассматриваться как универсальный биомаркер для персонализированной терапии инфекционных и онкологических заболеваний. Предложенный способ скрининга лекарственных препаратов с использованием ТДС-теста может использоваться для персонализации антибактериальной, гормональной, противовирусной, противоопухолевой и иммунотерапии ХГС, папилломавирусной инфекции, генитального герпеса, хламидиоза, хронического бронхита, генитального эндометриоза, немелкоклеточного рака легкого, рака почки и предстательной железы с целью повышения эффективности, преодоления резистентности к антибиотикам, цитостатикам и гормональным препаратам, поиска оптимальных препаратов, их доз и комбинаций, снижения частоты побочных эффектов.

#### **ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНА МОЛЕКУЛЫ CD14 (C159-T) И ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНАЯ АДГЕЗИЯ ПРИ ГРИППЕ А(H1N1)/2009**

**Гергесова Е.Е., Витковский Ю.А.**

*ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита, Россия*

Известно, что одной из ключевых ролей в клеточно-гуморальной системе защиты играют гетеротипические межклеточные взаимодействия, такие как лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия. Исследована молекулярная база этого взаимодействия, накоплены данные о роли ЛТА в патогенезе различных заболеваний. При этом не изучена возможная роль мутации молекулы дифференциации моноцитов CD14 (C159-T), компонента рецепторного комплекса CD14/TLR4/MD2, распознающего липополисахарид. В свою очередь, показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии позволяет оценить состояние не только системы иммунитета, но и гемостаза, напряженность которой конституционально выше у лиц с так называемыми «ненулевыми» группами крови АВ0, и существуют данные об ослаблении адгезивности тромбоцитов на лимфоцитах у здоровых лиц с «ненулевыми» группами крови вместе с усилением его при воспалении, что выявляется на фоне ослабления агрегационной способности кровяных пластинок.

**Целью** настоящей работы явилось выявление частоты встречаемости полиморфных вариантов гена молекулы CD14 (C159-T) и их влияния на функцию лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у здоровых лиц и больных гриппом А(H1N1)/2009 с разными группами крови АВ0.

**Материалы и методы.** Объектом исследования послужила кровь 100 больных гриппом А(H1N1)/2009

и 100 здоровых добровольцев, составивших группу контроля. Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом ПЦР с аллель-специфичными праймерами (НПФ «Литех», Москва). Показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА, %) и лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс (ЛТИ, отн. ед.) определялись по методике Ю.А. Витковского (1999). Группы крови АВ0 определяли при помощи реакции изогемагглютинации на планшете с использованием цоликлонов анти-А и анти-В (ООО «Гематолог»). Статистическая обработка результатов выполнена методами вариационной статистики для связанных и не связанных между собой наблюдений с использованием пакета программ Microsoft Office Excel 2007, STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США), с определением достоверности различий при достигнутом уровне значимости  $p < 0,05$ . При нормальном распределении признака применялся критерий Стьюдента ( $t$ -тест), при ненормальном распределении признака – критерий Манна–Уитни (U-тест). Для сравнения частот применялся критерий  $\chi^2$  (Пирсона).

**Результаты исследования.** В группе здоровых лиц обнаружено 62 носителя нормального 159СС генотипа ( $R = 0,62$ ), гетерозиготное носительство С159Т выявлено у 28 человек ( $R = 0,28$ ) и гомозиготный вариант 159ТТ – у 10 человек ( $R = 0,1$ ). Обнаружено, что мутантные варианты CD14 чаще встречались у женщин со II (А) группой крови по сравнению с I (0), а в I (0) и III (В) группах крови чаще, чем у мужчин. Среди больных гриппом А(H1N1)2009 генотип 159СС молекулы CD14 обнаружен у 54 человек ( $R = 0,54$ ), гетерозиготное носительство 159СТ выявлено у 30 человек ( $R = 0,30$ ) и гомозиготный вариант 159ТТ – у 15 человек ( $R = 0,15$ ). При этом распределение обнаруженных частот не отличается от такового в группе здоровых лиц ( $\chi^2$ -тест,  $p \geq 0,05$ ). В группе больных гриппом А(H1N1)2009 мы не выявили особенностей распределения полиморфных вариантов гена CD14 у лиц с разными группами крови АВ0. Функция лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии не имела особенностей у больных-носителей полиморфных вариантов гена CD14 (процент ЛТА в циркуляции у 159СС гомозигот, 159СТ гетерозигот и 159ТТ гомозигот соответственно  $15,3 \pm 8,7$ ;  $18,8 \pm 11,9$ ;  $12,0 \pm 5,5$ ; ЛТИ –  $3,4 \pm 1,7$ ;  $4,4 \pm 2,2$ ;  $3,6 \pm 1,6$ ; U-тест,  $p \geq 0,05$ ). Таким образом, частота встречаемости полиморфных вариантов гена CD14 (C159-T) не отличаются у здоровых лиц и больных гриппом А(H1N1)2009. При этом мутантные варианты чаще обнаруживаются у здоровых женщин, особенно с I (0) и III (В) группами крови, но они не оказывают влияния на функцию лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при воспалении.

#### **СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ**

**Гурина О.П., Блинов А.Е., Варламова О.Н., Деметьева Е.А., Тимохина В.И., Алексеева Л.А., Горкина О.К.**

*ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия*

Вирус папилломы человека (ВПЧ) является одним из основных этиологических факторов развития генитального и негенитального канцерогенеза. ВПЧ инфици-

рует пролиферирующие эпителиальные клетки базального слоя эпителия. Органами-мишенями для ВПЧ являются кожные покровы и слизистые оболочки аногенитальной области и респираторного тракта. Блокирующее воздействие на персистенцию вируса оказывает клеточный иммунитет, участие которого в этом процессе подтверждает высокое содержание CD4-, CD8-лимфоцитов в инфильтрате регрессирующих кондилом. Современный подход к лечению данной патологии включает проведение хирургического удаления папиллом на фоне приема иммуномодулирующих препаратов. Эффективность лечения существенно возрастает при использовании индивидуального подбора иммуномодуляторов.

**Цель работы:** оценка иммунного статуса у детей с ВПЧ-инфекцией различной локализации.

**Материалы и методы.** Обследовано две группы детей в возрасте от 1 года до 17 лет с клиническими проявлениями инфицирования ВПЧ до проведения оперативного лечения и назначения иммуномодулирующей терапии. 1 группа – 33 ребенка с папилломатозом гортани, 2 группа – 8 детей с кондиломатозом наружных половых органов. Проведено исследование иммунного статуса: IgA, IgM, IgG, IgE, клеточный иммунитет (CD3<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, фагоцитарная активность), циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), уровень сывороточного  $\alpha$ -,  $\gamma$ -интерферона. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью программы Microsoft Excel с использованием вложенного пакета статистической обработки данных.

У всех обследованных пациентов обнаружены признаки дисфункции гуморального звена иммунитета. При этом у 45,5% детей 1 группы отмечается дисиммуноглобулинемия (ДИГ). В 33,3% случаев ДИГ – гипои иммуноглобулинемия G (3 тип ДИГ), в 26,7% – сочетанное снижение уровней IgA и IgG (2 тип ДИГ), в 20% – изолированная гипои иммуноглобулинемия A (ДИГ 4 типа), 6,67% – гипои иммуноглобулинемия A и M (ДИГ 1 типа), 6,67% – гипои иммуноглобулинемия M (5 тип ДИГ), 6,67% – гипои иммуноглобулинемия M и G (ДИГ 7 типа). Таким образом, гипои иммуноглобулинемия G у детей 1 группы встречается с частотой 66,7%, что обуславливает частое рецидивирование вирусной инфекции (IgG являются антителами вторичного иммунного ответа), а также развитие вторичных бактериальных осложнений в очаге поражения. Во 2 группе пациентов снижение уровня иммуноглобулинов не наблюдалось, отмечалось повышение двух и более классов иммуноглобулинов у 50% больных, что может быть обусловлено сопутствующим инфицированием ИППП. Гипериммуноглобулинемия E, характерная для общей алергизации организма, в 1 группе встречалась в 33,3% случаев, во 2 группе – в 12,5%. ЦИК в сыворотке крови у детей 1 группы отмечались у 15,2% обследованных, у 25% детей 2 группы.

Патология клеточного звена иммунитета, способствующая персистенции и рецидивированию вирусной инфекции, представлена относительной Т-клеточной лимфоцитопенией (54,5% среди детей 1 группы и 62,5% – 2 группы) и В-клеточным лимфоцитозом (60,6% детей 1 группы и 37,5% детей 2 группы). Дефект фагоцитоза отмечался в 84,8% обследованных детей 1 группы и в 100% случаев во второй группе. При этом незавершенный фагоцитоз обнаружен у 67,9% детей 1 группы и у 100% детей 2 группы.

Уровень сывороточного  $\alpha$ -,  $\gamma$ -интерферона в обеих группах был повышен в 85,7% случаев. Во 2 группе боль-

ных  $\gamma$ -интерферон коррелировал с гипериммуноглобулинемией G ( $r = 0,4$ ). Наряду с прямым действием на вирусную репликацию интерфероны усиливают адаптивный иммунный ответ путем стимуляции повышенной экспрессии МНС классов 1 и 2 одновременно с механизмами процессирования антигена, кроме того, они способны активировать макрофаги, НК-клетки, усиливая их противовирусную активность.

На основании исследования иммунного статуса больным назначалась индивидуальная иммуностропная терапия, включающая диету с повышенным содержанием митогенов, иммуномодуляторы, в том числе индукторы интерферона, а также местное применение интерфероновых препаратов, до и после хирургического лечения (лазерная деструкция). Учитывая возможность рецидивирования инфекции у иммуносупрессивных лиц следует рекомендовать динамическое наблюдение в течение 1-2 лет с контролем иммунного статуса. Возможно, наиболее эффективным путем предотвращения возникновения заболевания является вакцинация.

### СОДЕРЖАНИЕ IL-8 И IFN $\alpha$ У БОЛЬНЫХ СИНДРОМОМ ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ И ИММУННОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ

Гурская О.Г., Малашенкова И.К., Зуйков И.А., Дидковский Н.А.

ФГУ «НИИ Физико-химической медицины» ФМБА России, Москва, Россия

Синдром хронической усталости и иммунной дисфункции (СХУ и ИД) проявляется немотивированной общей слабостью, а также многообразием гриппоподобных, неврологических, психоземotionalных и др. симптомов. Важная роль в патогенезе СХУ принадлежит хронической вирусной инфекции. Длительное персистирование вирусов, в первую очередь, герпес-группы, угнетает многие реакции иммунитета. Дисфункция иммунной системы при СХУ свидетельствует о значимой роли цитокинов (ЦК) в его патогенезе и клинической картине. Ранее нами было показано наличие дисбаланса провоспалительных ЦК – IL-1 $\beta$ , IL-4, IFN $\gamma$  и IFN $\alpha$  и др. при СХУ и ИД. IL-8 – хемокин, который продуцируется макрофагами, эпителиальными клетками, лимфоцитами и др. IL-8 – мощный медиатор как острого, так и хронического воспаления, усиливает хемотаксис фагоцитов в очаг воспаления, продукцию активных форм кислорода. Играет важную роль в местном иммунитете слизистых оболочек. Предполагается участие IL-8 в хронизации воспаления. Работ по исследованию уровня IL-8 при СХУ крайне мало.

**Цель исследования:** изучение уровня цитокинов IL-8 и IFN $\alpha$  в сыворотке крови и слюне больных с СХУ и ИД, ассоциированным с хронической герпесвирусной инфекцией (ГВИ).

**Материалы и методы.** Обследовали 21 б-го (от 18 до 50 лет, 6 муж., 15 жен.) с СХУ и ИД, ассоциированным с ГВИ. Группа контроля – 25 здоровых добровольцев. Диагностировали СХУ по критериям и Дополнениям к ним CDC-2003 г. Проводили тщательный дифференциальный диагноз, у б-х исключены заболевания, которые могут быть причиной СХУ-подобной симптоматики. Проводили иммунологическое обследование, подтвердившее ИД.



Детекция вирусной инфекции в орофарингеальной области; крови (вирус простого герпеса 1, 2 типа, ВПГ 1,2, вирус герпеса человека 6-го типа, ВГЧ 6 типа, цитомегаловирус, ЦМВ, Вирус Эпштейна–Барр, ВЭБ) – с помощью ПЦР. Также изучали уровень содержания цитокина IL-8 и IFN $\alpha$  в сыворотке крови и слюне методом ИФА.

**Результаты исследования.** В 66,7% случаев (у 14 чел.) выявлены ВЭБ и у 76,2% (16 из 21) больных – ВГЧ 6 типа. ЦМВ-инфекция – у 9,5% (у 2 из 21 чел.). Уровень IL-8 в сыворотке крови был повышен у больных СХУ по сравнению с группой контроля ( $35,19 \pm 4,61$  пг/мл и  $13,35 \pm 3,41$  соответственно,  $p < 0,05$ ). Уровень IL-8 в слюне у больных СХУ ИД более чем в 10 раз превышал его концентрацию в сыворотке крови ( $35,19 \pm 4,61$  и  $375,7 \pm 28,29$  пг/мл соответственно,  $p < 0,05$ ). В тоже время уровень антивирусного ЦК – IFN $\alpha$  был невысокий как в крови, так и в слюне ( $6,42 \pm 0,8$  и  $5,12 \pm 0,49$  пг/мл против  $8,16 \pm 1,1$  и  $3,12 \pm 0,42$  пг/мл соответственно), несмотря на репликацию герпес-вирусов. Таким образом, у большинства больных СХУ и ИД, ассоциированных с ГВИ выявлено повышение уровня медиатора воспаления IL-8 на фоне низкого уровня IFN $\alpha$ .

### ДИНАМИКА АНТИГЕННОГО ВИРУСНОГО СПЕКТРА И ТИТРА ПРОТИВОВИРУСНЫХ АНТИТЕЛ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Ермаков Г.А.

Амурская государственная медицинская академия,  
г. Благовещенск, Россия

Оценивалась концентрация антител класса IgG против антигенов ВПГ 1, 2, вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ), HBsAg вируса гепатита В, а также концентрация ВЭБ ядерного антигена-1 (EBNA-1), вирусного капсидного ВЭБ антигена (VCA) и раннего ВЭБ антигена (EA) у детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), с использованием иммуноферментного анализа.

Исследование выполнено на базе гематологического отделения Амурской ОДКБ. Контингент исследования включал 40 детей больных ОЛЛ и 20 условно-здоровых детей в возрасте от 6 до 14 лет. Соотношение полов в обеих группах составило 50% на 50%. В качестве биологических материалов исследовали плазму крови.

Нарастание титра антител у детей с ОЛЛ регистрировалось для HBsAg, ВПГ 1, 2, VCA, EA антигенов с достоверностью  $p$  (HBsAg)  $< 0,05$ ;  $p$  (HSV1)  $< 0,001$ ;  $p$  (VCA)  $< 0,05$ ; и  $p$  (HBsAg)  $< 0,001$  соответственно. Концентрация ВЭБ антигенов (EBNA-1) была достоверно выше у детей с ОЛЛ ( $p$  (EBNA-1)  $< 0,001$ ).

Таким образом, выявлена достоверная связь между повышением концентрации вирусных антигенов при ВЭБ инфекции и развитием ОЛЛ у детей в возрастном диапазоне от 6 до 14 лет в отличие от здоровых детей. Так же выявлено нарастание титра антител против антигенов ВПГ 1, 2, вируса гепатита В и вируса Эпштейна–Барр.

Для обозначения вирус кодируемых гомологов клеточных рецепторов к цитокинам предложен термин вироцепторы. Данные гомологичные белки найдены у поксвирусов, герпесвирусов и ретровирусов. Генетически, белки вироцепторов возможно кодируются захваченными вирусом из клеток-хозяев генами, которые в последующем подвергаются вирусной модификации. Вирус-закодированные факторы, вероятно, влияют на деятель-

ность цитокинов, по крайней мере, четырьмя различными способами: путем ингибирования синтеза и высвобождения цитокинов из инфицированных клеток; путем вмешательства в процесс взаимодействия клеточных цитокинов и их рецепторов; препятствуя передаче цитокнового сигнала; путем синтеза закодированных вирусом цитокинов – антагонистов противовирусных клеточных цитокинов.

Вирусные белки, гомологичные цитокинам, обозначаются как вирокины. Вопрос гомологии белков, в отличие от аналогии, возникает тогда, когда белки имеют общую функцию или общую структурную укладку, без существенного сходства в последовательности аминокислот. Даже если два или несколько белков не имеют одинаковых последовательностей аминокислот, но имеют общий тип укладки и выполняют одну или близко связанную функцию, считается, что они являются гомологами, потомками общего предка. Чтобы идентифицировать отдаленные гомологи многих белков вирусного происхождения в человеческом геноме (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov>), нами разработан объединенный подход к изучению сходства структуры и последовательности, преодолеть вышеупомянутые ограничения при идентификации гомологов и провести визуальное сравнение гомологов без построения трехмерной структуры.

**Цель исследования:** создание способа визуализации аминокислотных последовательностей в полипептидных цепях для облегчения последующего аннотирования.

**Материалы и методы.** В основу предлагаемого метода положена визуализация распределения электроплотности в белках. Полипептидные цепи белка состоят из аминокислот (АМК), а каждая аминокислота может характеризоваться так называемой изоэлектрической точкой (ИТ). Как известно, изоэлектрическая точка это точка нулевого заряда в контакте с раствором электролита характеризующееся равным числом положительных и отрицательных зарядов в адсорбционном слое, то есть такой рН, при котором заряд молекулы аминокислоты равен нулю. Полипептидная цепь состоит из аминокислот (АМК), а каждая аминокислота может характеризоваться изоэлектрической точкой (ИТ), то есть тем значением рН, при котором заряд молекулы аминокислоты равен нулю. Безусловно, каждая аминокислота в полипептиде не может существовать обособленно, но распределение электроплотности в трехмерных структурах полипептидов и белков зависят именно от изоэлектрических характеристик каждой АМК.

У большинства аминокислот ИТ колеблется в районе значений, близких к рН = 6. Хотя, например, аминокислоты аргинин и лизин – положительно заряженные и в составе полипептида обладают низкой электроплотностью, их изоэлектрические точки находятся в щелочном диапазоне (рН равны 10,76 и 9,74). Аспарагин и глутамин – отрицательно заряженные, и в составе полипептида обладают повышенной электроплотностью, их изоэлектрические точки – в кислотном диапазоне (рН равны 2,77 и 3,22 соответственно). Так как такие значения рН являются физиологической константой, в составе полипептидов есть участки с высокой и низкой электроплотностью, которые отражают специфику полипептида (определяя третичную структуру белка) и его функции (например, активный центр фермента).

Последовательность аминокислот принято записывать в формате FASTA, обозначая двадцатью заглавными латинскими буквами. Но при взгляде на такой большой набор букв не создается целостного впечатления, обеспе-

чивающего наглядность [4]. Поэтому было решено заменить буквенную кодировку другими характеристиками. Обозначения аминокислот полипептида мы условно располагаем на плоскости слева направо и сверху вниз. В нами созданной компьютерной программе каждому значению рН для изоэлектрической точки аминокислоты была присвоена своя градация серого цвета из набора в 256 оттенков. Пометив каждую аминокислоту своим цветом по значению рН для изоэлектрической точки аминокислоты, удалось визуализировать аминокислоты для каждой полипептидной цепи единым планом.

**Результаты и обсуждение.** Теперь многочисленную последовательность аминокислот заданной полипептидной цепи можно оценить как единый целостный объект и осмыслить его свойства по складывающемуся на плане узору. Уникальность получаемой пиктограммы позволит осуществить визуальную идентификацию полипептидной цепи. Большинство методов используемых для аннотирования полипептидов основаны на выявлении гомологии последовательностей. Сравнивая между собой полученные пиктограммы уже известной полипептидной цепи с пиктограммой еще нераспознанной белок-кодирующей последовательности, можно делать некоторые предположения о свойствах и функциях.

**Выводы.** Таким образом, для облегчения понимания, узнавания и ориентирования в свойствах и особенностях, разработан метод визуальной оценки аминокислотной последовательности полипептидной цепи, путем создания наглядных карт аминокислот в виде пиктограмм, в которых буквенные коды названий аминокислот заменены на цветные коды, соответствующие значениям рН для изоэлектрических точек аминокислот. Привлечение впоследствии машинного распознавания образов позволит более объективно идентифицировать известные и характеризовать пока неизученные последовательности.

В перспективе, на основе скомпонованных узнаваемых пиктограмм возможно создание некоего пиктографического комплекта для быстрой визуальной оценки не только аминокислотной последовательности, полипептидных цепей, но и набора белков.

## ИММУНОПАТОГЕНЕЗ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ТЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ

Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Скрипченко Н.В.

ФГУ НИИ детских инфекций ФМБА,  
Санкт-Петербург, Россия

**Цель** иммунологических исследований, проводимых в НИИ детских инфекций, состоит в выявлении иммунопатогенетических механизмов неблагоприятного (осложненного, затяжного, рецидивирующего или хронического) течения вирусных и бактериальных инфекций у детей. Очевидно, что в основе неблагоприятного (негладкого) течения инфекции лежит недостаточная эффективность иммунного ответа, который оказывается несостоятелен или в предотвращении диссеминации возбудителя, что ведет к формированию вторичных очагов воспаления, или в полной элиминации возбудителя из организма, что служит причиной его длительной персистенции с возникновением рецидивов или хроническим течением инфекции.

Определение уровня сывороточных цитокинов в острую фазу болезни наиболее информативно для прогноза дальнейшего течения и исхода инфекции. При

этом принимается во внимание существенное отклонение уровня медиатора в сторону дефицита или избытка по сравнению с показателем при гладком течении болезни.

Характерные взаимосвязи раннего ответа цитокинов с дальнейшим течением инфекции обнаружены при остром инфекционном мононуклеозе, вызванном вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ). Слабый ответ цитокинов TNF $\alpha$ , IL-8 и IFN $\gamma$  на первой неделе заболевания достоверно прогнозирует возникновение рецидива болезни в постинфекционном периоде. Дефицит IL-8 и IFN $\gamma$  (но не TNF $\alpha$ ), сохраняющийся в периоде ранней реконвалесценции (3-4-я неделя болезни), также предсказывает рецидивирующее течение ВЭБ-инфекции (Левина А.С., 2006). Отсюда следует, что некоторые параметры цитокинового статуса имеют прогностическую значимость не только в остром периоде болезни, но и на более поздних сроках. При этом профиль собственного иммунного ответа пациента существенно влияет на эффективность иммунотерапии. Установлено, что при острой ВЭБ-инфекции клинический эффект виферона гораздо более выражен у детей с «клеточными», чем с «гуморальными» вариантами иммунного ответа. Надежным прогностическим критерием резистентности к терапии вифероном может служить относительно низкий или даже «нормальный» уровень IFN $\gamma$  в первую неделю заболевания.

Острые вирусные гепатиты В и С (ВГВ и ВГС) у подростков при благоприятном исходе характеризуются выраженной продукцией *in vivo* провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-8, а также цитокина Th1 IFN $\gamma$ . Затяжное течение ВГВ или переход ВГС в хроническую форму имеют место у детей с ослабленным системным ответом провоспалительных цитокинов на первом месяце болезни. Недостаток синтеза IL-1 $\beta$ , IL-8 и IFN $\gamma$ , очевидно, нарушает ранний этап элиминации обоих вирусов. В отличие от этого модуляции синтеза TNF $\alpha$  и IL-4 незначительны в зависимости от этиологии гепатита. Затяжному течению ВГВ соответствует изначально низкая концентрация этих двух цитокинов, тогда как хроническому течению ВГС – наоборот, относительно высокая. Хорошо известно, что терапия хронического ВГ не всегда успешна, что связано с особенностями противовирусного иммунного ответа. Показано, что терапия хронического ВГ В и С интералем (рекомбинантный IFN2 $\alpha$ ) успешна лишь у тех подростков, которые в фазу умеренной активности процесса имеют выраженный ответ Th1-типа, чему соответствует повышенный уровень IFN $\gamma$ . Эффективность проводимого курса терапии также можно контролировать по изменению концентраций IFN $\gamma$  в ходе лечения (Шилова И.В., 2003).

Генерализованная форма иерсиниозной инфекции (псевдотуберкулеза или кишечного иерсиниоза) сопровождается усилением системной продукции цитокинов TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  и IL-4, а затяжное или рецидивирующее течение развивается в условиях дефицита IFN $\gamma$  в первую декаду заболевания (Васякина Л.И., 2002). Хронизации эритемной формы иксодового клещевого боррелиоза способствует недостаток системной продукции провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  и IL-8 в первую декаду болезни и слабая продукция IL-4 – на 2-3-ей неделе (Васильева Ю.П., 2003).

Неблагоприятное течение большинства изученных нами инфекций обусловлено слабым ответом Th1-типа в острой фазе болезни, о чем свидетельствует дефицит в циркуляции IFN $\gamma$ . Так, у больных эпидемическим па-

ротитом существенный дефицит IFN $\gamma$  в первые 3 дня болезни сопровождается развитием раннего орхита. У детей с диссеминированным энцефаломиелитом недостаточность синтеза *in vivo* IFN $\gamma$  на первом месяце заболевания ведет к подострому, волнообразному течению процесса с замедленным выздоровлением. При вирусном клещевом энцефалите слабый ответ IFN $\gamma$  в остром периоде болезни способствует вовлечению в процесс ЦНС с развитием менингеальной или очаговой формы инфекции.

Таким образом, адекватный ответ на инфекцию обеспечивается сложной цепью взаимодействий клеток-участников и множества растворимых медиаторов иммунитета, вырабатываемых ими в ходе иммуногенеза.

### ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АРБИДОЛА НА ФОНЕ ВАКЦИНАЦИИ ПНЕВМОКОККОВОЙ И ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНАМИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ И ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Жоголев С.Д., Жоголев К.Д., Удальцов О.Е., Огарков П.И.

*ВМА, Санкт-Петербург, Россия*

**Введение.** Проблема пневмоний и острых респираторных заболеваний в организованных коллективах чрезвычайно актуальна в связи с высоким уровнем заболеваемости. Нередко пневмонии осложняют течение переносимых «на ногах» ОРЗ. Респираторные вирусы, вызывают не только острые респираторные инфекции, но наряду с пневмококками и другими бактериями причастны к возникновению острых бронхитов и пневмоний. Часто возникают острые болезни органов дыхания смешанной вирусно-бактериальной этиологии. В этой связи одним из перспективных направлений профилактики острых заболеваний как верхних, так и нижних дыхательных путей является применение противовирусных препаратов. Одним из них является отечественный препарат арбидол, обладающий интерферониндуцирующим и иммуноотропным действием.

**Цель и задачи исследования:** определение эпидемиологической эффективности применения арбидола на фоне вакцинации гриппозной и пневмококковой вакцинами для снижения заболеваемости ОРЗ, острым бронхитом и внебольничной пневмонией в организованных коллективах в сравнении с эффективностью ремантадина с аскорбиновой кислотой.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось в трех группах лиц 18-20 лет вновь сформированного коллектива численностью по 80 чел. в каждой. Сразу после комплектования в декабре 2007 г. коллектив был вакцинирован грипполом и пневмо-23. Кроме того, одна группа лиц в течение 10 дней получала арбидол по 200 мг (2 капсулы) 1 раз в день. Другая группа лиц в течение 10 дней ежедневно принимала по 1 таблетке (0,05 г) ремантадина и по 6 драже (по 0,05 г) аскорбиновой кислоты. Третья группа лиц (группа сравнения) была также вакцинирована, но никаких дополнительных средств профилактики не получала. В последующие 5 месяцев проводился тщательный учет заболеваемости ОРЗ, острым бронхитом и пневмонией в каждой из трех групп. По этим данным определялась эпидемиологическая эффективность препаратов.

**Основные результаты.** Через 1, 3 и 5 месяцев после начала применения препаратов суммарная заболеваемость ОРЗ, острыми бронхитами и пневмонией среди прини-

мавших арбидол была соответственно в 2,7, 2,2 и 1,7 раза меньше, чем в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). Среди принимавших ремантадин с аскорбиновой кислотой заболеваемость была соответственно в 1,8, 1,5 ( $p < 0,05$ ) и в 1,1 ( $p > 0,05$ ) раза меньше, чем в группе сравнения. Таким образом, коэффициент эффективности арбидола через 1, 3 и 5 месяцев после применения составил соответственно 63,2%, 55% и 42,7%, а ремантадина с аскорбиновой кислотой — только 47,7%, 33,3% и 10,7%.

**Заключение.** Установлена значительная эпидемиологическая эффективность арбидола на фоне вакцинации грипполом и пневмо-23 в отношении острых заболеваний верхних и нижних дыхательных путей, особенно на протяжении первого месяца после применения препарата (63,2%), существенно превысившая эффективность ремантадина с аскорбиновой кислотой.

### ОСОБЕННОСТИ ИНФЕКЦИОННОГО И ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К КОКЛЮШУ

Зайцев Е.М., Краснопрошина Л.И., Мазурова И.К.

*НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, Россия  
Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия*

**Введение.** Для повышения эффективности иммунологического мониторинга коклюшной инфекции необходимы критерии, позволяющие дифференцировать инфекционный иммунитет от поствакцинального.

**Цель и задачи.** Исследовать особенности спектров антител к антигенам *Bordetella pertussis* у больных коклюшем и здоровых привитых против коклюша детей, а также подростков и взрослых.

**Материалы и методы.** Уровень IgG, IgA и IgM антител к комплексу антигенов коклюшного микроба (коклюшный токсин, филаментозный гемагглютинин, агглютиногены 1, 2 и 3, липополисахарид) оценивали в ИФА. Специфичность антител к белковым антигенам и липополисахариду *B. pertussis* оценивали также в иммуноэлектрофорезе. Исследованы сыворотки 208 больных коклюшем, 538 здоровых привитых АКДС — вакциной детей 3-5 лет, 92 подростков 15-17 лет и 650 взрослых в возрасте от 18 до 56 лет.

**Результаты.** Уровень антител ко всем антигенам коклюшного микроба у больных коклюшем был значительно выше, чем у здоровых лиц.

По данным ИФА и иммуноэлектрофореза, противокклюшные антитела в сыворотках здоровых привитых АКДС — вакциной детей взаимодействовали преимущественно с белковыми антигенами возбудителя и слабо реагировали с липополисахаридом. Антитела в сыворотках больных коклюшем были шире по спектру и взаимодействовали как с белковыми антигенами, так и с липополисахаридом.

Наиболее значимыми различия между двумя типами противокклюшного иммунитета были по распределению противокклюшных антител по изотипу. Высокий уровень противокклюшных IgM, IgA и IgG антител был выявлен у значительной части больных коклюшем. Тип распределения подклассов противокклюшных IgG антител имел характер IgG1 — IgG3 — IgG2 — IgG4 с высоким уровнем IgG3 антител.

При поствакцинальном иммунитете преобладающим титром противокклюшных антител были IgG антитела. Тип распределения подклассов IgG имел характер IgG1 —

IgG2 – IgG3 – IgG4 с низким уровнем или отсутствием IgG3 антител. У части популяции (11%), как отражение контакта с инфекцией и естественной иммунизации, определялся повышенный уровень противококлюшных IgA антител. Противококлюшные IgM антитела выявлялись только у незначительной части популяции (2,4%) в низких титрах.

**Заключение.** Выявленные различия между показателями гуморального иммунитета к коклюшу у больных коклюшем и здоровых лиц по уровням противококлюшных антител, по спектрам антител к антигенам *B. pertussis* по специфичности и изотипу являются основанием для установления критериев инфекционного и поствакцинального иммунитета.

### ВОЗРАСТНЫЕ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОСТРОГО ИНФЕКЦИОННОГО МОНОНУКЛЕОЗА ЭПШТЕЙНА–БАРР ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ И ТАКТИКА ТЕРАПИИ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Калинина Н.М., Баннова С.Л., Тимченко В.Н.

ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия  
Минздравсоцразвития, Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** Актуальность изучения острого инфекционного мононуклеоза Эпштейна-Барр вирусной этиологии (ОИМ ЭБВЭ) обусловлена ростом заболеваемости во всем мире, специфической тропностью вируса к иммунокомпетентным клеткам, вовлечением в патологический процесс различных органов и систем, и частым хроническим течением болезни.

**Цель и задачи:** определить особенности течения ОИМ ЭБВЭ у детей разного возраста на основании изучения динамики клинико-лабораторных и иммунологических показателей для совершенствования тактики терапии.

**Материалы и методы.** На базе инфекционного отделения № 1 Клиники ГОУ ВПО СПбГПМА проведено обследование 207 детей, больных ОИМ ЭБВЭ. I группу составили 110 детей в возрасте 1-7 лет, II – 97 чел. в возрасте 7-17 лет. В обеих возрастных группах в качестве иммуномодулирующей монотерапии были использованы виферон и деринат.

**Основные результаты.** У больных ОИМ ЭБВЭ преобладают среднетяжелые (92,3%) формы заболевания, а тяжелые – составляют 7,7%. У детей от 1 до 7 лет чаще острое начало заболевания (78,2%), а от 7 до 17 лет – подострое (43,5%). Изменения лабораторных показателей (лимфоцитоз, моноцитоз, атипичные мононуклеары, повышение активности АЛТ и АСТ) наиболее выражены у детей старшей возрастной группы. У большинства пациентов отмечалось увеличение клеток с киллерной активностью: Т-киллеров (CD8-клетки) (I группа у 81% детей, II гр. – у 92%) и НК-клеток (CD16-клетки) (81% и 86% соответственно), что свойственно вирусной инфекции. Несколько необычным для вирусной инфекции было увеличение числа В-клеток (CD20) у детей II группы (38% против 19% в I группе). При исследовании в периоде разгара болезни продукции цитокинов выявлено снижение индуцированной продукции: в I гр. – IL-4 – у 28%, IFN $\gamma$  – у 52% больных; во II гр. – у 26% и 48% детей соответственно, что говорит о смешанном Th1/Th2-типе реагирования с доминированием Th1-типа (коэффициент соотношения продукции IFN $\gamma$ /IL-4 у детей I группы

был равен 9,0, во II гр. – 6,7). Применение иммуномодулирующих препаратов (виферон, деринат) позволило в 1,5-2 раза сократить длительность основных симптомов болезни в обеих возрастных группах. В периоде реконвалесценции в I группе доминировал Th1-тип ответа: после виферона (в 67%) и дерината (в 70%); а во II группе иммунный ответ развивался по смешанному Th1/Th2-типу: после терапии вифероном (в 30%) и деринатом (в 50%). У детей, не получавших иммуномодулирующую терапию, доминировал Th2-тип иммунного ответа (I гр. – в 80% случаев, II гр. – в 100%), что свидетельствует о склонности к формированию хронического течения инфекционного процесса.

**Заключение.** Проведенный анализ использования иммуностропной терапии (вифероном и деринатом) в периоде разгара заболевания, показал целесообразность ее применения, приводя сокращению длительности основных клинических синдромов болезни, к уменьшению дисрегуляторных нарушений в иммунной системе, предупреждая формирование вторичного иммунодефицитного состояния, которое способствует хронизации инфекции и наслоению интеркуррентных заболеваний.

### ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ В РАННИХ АНТИГЕН-СТИМУЛИРОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ РЕАКЦИЯХ ПРИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Кожушный А.П., Кохановская Н.А., Третьяков О.Ю., Баженов А.И., Коноплева М.В., Суслов А.П.

ФГБУ НИИЭМ им.Н.Ф. Гамалеи МЗ и социального развития России, Москва, Россия

**Введение.** В последние годы в России наблюдается рост заболеваемости инфекционными заболеваниями (вирусные гепатиты, ВИЧ, туберкулез и др.). Полноценный контроль за течением инфекционного заболевания, мониторинг эффективности проводимой терапии, оценка напряженности специфического клеточного иммунитета, индуцированного вакцинами, невозможны без надежных и доступных для клинической лаборатории тестов, позволяющих оценить функциональное состояние иммунной системы человека. Практически неизученными остаются ранние антиген/митоген (АГ/МГ)-стимулированные реакции врожденного клеточного иммунитета на антигены вируса гепатита В (ВГВ) и ВИЧ, хотя именно такие реакции играют значительную роль в защите организма от этих вирусных инфекций. Недостаточно разработанной остается методология исследования этих реакций в культуральных тестах *in vitro* с учетом влияния спонтанной продукции цитокинов на АГ/МГ-стимулированные реакции и на функциональное состояние клеточного иммунитета в целом. Важны культуральные экспресс-тесты *in vitro*, которые позволяют оценивать ранние АГ/МГ-стимулированные реакции на вирусные АГ в норме и давать количественную характеристику их изменений при развитии вирусной инфекции или в ходе вакцинации с учетом влияния спонтанной продукции цитокинов.

**Цель.** Сопоставить продукцию цитокинов в ранних антиген-стимулированных клеточных реакциях *in vitro* при вирусной инфекции в сравнении с контрольной группой.

**Материалы и методы.** Группы пациентов: 1/контрольная группа (здоровые невакцинированные лица; НИИ

скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, 56 ГП, КДЦ ООО «НИАРМЕДИК ПЛЮС») – 48 чел.; 2/пациенты с хроническими заболеваниями печени (ХЗП) (ГКБ №52 Москвы) – 54 чел., 3/пациенты из Центра трансплантации печени (ЦТП) – 22 чел.; 4/ВИЧ-инфицированные (1-2 стадия заболевания, НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского) – 15 чел.

Для анализа продукции цитокинов использовали уплотненные микрокультуры (УМК) с количеством клеток  $2,5 \times 10^4$ , сконцентрированных в центре лунки 96-луночного планшета с помощью устройства «МигРоСкрин». Для оценки различий в продукции цитокинов между группой сравнения (ХЗП, ЦТП, ВИЧ) и контрольной группой с учетом спонтанной и АГ/МГ-индуцированной продукции цитокинов использовали коэффициент относительной стимуляции (КОС). Значение КОС напрямую зависит от соотношения АГ/МГ-стимулированной продукции цитокинов и спонтанной продукции. Чем выше уровень спонтанной продукции, тем ниже значение КОС и тем ниже доля АГ/МГ-стимулированной продукции

цитокинов, и наоборот; (Кожушный А.П. «Разработка экспресс-тестов для оценки ранних реакций клеточного иммунитета», диссертация на соискание степени кандидата биологических наук, 2010 г.).

В работе использовали: препарат очищенного нативного HBsAg субтипа ау («ИМБИО») – HBsAg ИБ в концентрации 5 мкг/мл, 1 мкг/мл, 0,1 мкг/мл; три вида рекомбинантных антигенов ВИЧ (ЗАО «Биосервис»): gp41, gp120 и p24(gag) – 1 мкг/мл., ФГА («Sigma») – 25 мкг/мл.

Продукцию цитокинов: TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ , IL-2, IL-1ra определяли методом ИФА; использовали тест-системы компании ЗАО «Вектор-Бест».

**Основные результаты.** Мы обнаружили, что в ранних культуральных реакциях у больных группы ХЗП происходит угнетению АГ/МГ-индуцированной продукции IL-6, IL-2, IL-1ra, что соответствовало снижению значения КОС практически при всех концентрациях HBsAg и митоген ФГА; продукция остальных цитокинов осталась на уровне продукции в контрольной группе (табл.).

**ТАБЛИЦА. СВОДНАЯ ТАБЛИЦА ДЛЯ КОС ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ HBsAg, HIVAg И ФГА (К ТЕЗИСАМ КОЖУШНОГО А.П. И ДР.)**

Цитокин	HBsAg/ МГ	Патология			ВИЧ АГ/МГ	Патология	
		ХЗП	ЦТП	ВИЧ		ЦТП	ВИЧ
TNF $\alpha$	5 мкг	↔	↔	↓	p41	↔	↔
	1 мкг	↔	↓	↓	p120	↑	↑
	100 нг	↓	↓	↓	p24gag	↑	↔
	ФГА	↔	↔	↓	ФГА	↑	↔
IL-6	5 мкг	↓	↔	↓↓	p41	↔	↓
	1 мкг	↓	↔	↓↓	p120	↑	↔
	100 нг	↓	↔	↔	p24gag	↑	↓
	ФГА	↓	↔	↓↓	ФГА	↔	↓
IL-8	5 мкг	↔	↔	↓	p41	↑	↔
	1 мкг	↔	↓	↓	p120	↑	↔
	100 нг	↔	↔	↓	p24gag	↑	↔
	ФГА	↔	↔	↓	ФГА	↑	↔
IL-1 $\beta$	5 мкг	↔	↔	↓	p41	↑	↔
	1 мкг	↑	↑	↓	p120	↑	↑
	100 нг	↔	↑	↓	p24gag	↑	↔
	ФГА	↔	↑	↓	ФГА	↑	↔
IFN $\gamma$	5 мкг	↔	↔	↓↓	p41	↔	↔
	1 мкг	↔	↔	↓↓	p120	↓	↔
	100 нг	↔	↔	↓↓	p24gag	↔	↔
	ФГА	↑	↑	↑	ФГА	↑↑	↑
IL-2	5 мкг	↓	↔	н.д.	p41	↔	↔
	1 мкг	↓	↓	н.д.	p120	↔	↓
	100 нг	↔	↓	н.д.	p24gag	↔	↓
	ФГА	↓	↑	н.д.	ФГА	↔	↓
IL-1ra	5 мкг	↓	↓↓	↓	p41	↔	↔
	1 мкг	↓	↓	↓	p120	↔	↔
	100 нг	↓	↓	↓	p24gag	↔	↔
	ФГА	↓	↓	↓	ФГА	↔	↔

**Примечание.** ↔ – отличий от контрольной группы по КОС практически нет;

↓ – снижение КОС относительно контрольной группы более чем на 20%;

↓↓ – снижение КОС относительно контрольной группы более чем в 10 раз;

↑ – увеличение КОС относительно контрольной группы более чем на 20%;

↑↑ – увеличение КОС относительно контрольной группы более чем в 10 раз.

У больных группы ЦТП наблюдали угнетение продукции TNF $\alpha$ , IL-2, IL-1ra практически при всех дозах HBsAg и увеличение продукции IL-1 $\beta$  (табл.). Неожиданным оказался факт повышенной реактивности на гетерологичные ВИЧ-антигены, непосредственно не связанные с инфекцией ВГВ. При стимуляции антигенами ВИЧ в группе ЦТП наблюдали увеличение АГ-стимулированной продукции TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  и соответственно увеличение значения КОС. При этом происходило угнетение продукции IFN $\gamma$  на антиген p120, а продукция остальных цитокинов не изменилась. Возможно, это связано с тем, что происходит усиление неспецифической реактивности на различные антигены наряду с включением механизмов негативной регуляции АГ/МГ-специфичного клеточного иммунитета.

У ВИЧ-инфицированных лиц при наличии сравнимой с контролем реакции на гомологичные ВИЧ-антигены, имеет место угнетение продукции IL-6 и IL-2 и соответственно снижение значений КОС. В то же время, при стимуляции гетерологичным HBsAg у ВИЧ-инфицированных лиц наблюдаем угнетение продукции всех цитокинов (табл.).

Следует также отметить тот факт, что во всех исследуемых группах (ХЗП, ЦТП, ВИЧ) при стимуляции HBsAg происходило угнетение продукции IL-1ra в сравнении с контрольной группой, тогда как при стимуляции ВИЧ-антигенами в тех же группах уровень продукции IL-1ra не изменился. Возможно, это связано с тем, что состояние общего баланса провоспалительных цитокинов и их естественных ингибиторов является критическим фактором в контроле воспалительных процессов при инфекции ВИЧ. ВИЧ-антигены активирует продукцию как цитокинов, так и выделение их природных ингибиторов, таких как рецепторный антагонист IL-1ra. При патологиях, вызванных хроническим воспалительным процессом, в группах ХЗП и ЦТП возможно возникновение дисбаланса и угнетения продукции IL-1ra на фоне повышения продукции IL-1 $\beta$  (табл.). Снижение уровня продукции IL-1ra и IL-1 $\beta$  у ВИЧ-инфицированных лиц может свидетельствовать об общем дисбалансе реакции иммунной системы на гетерологичные антигены.

**Заключение.** Исследования, проведенные у больных с заболеваниями печени вирусной природы, а также у ВИЧ-инфицированных лиц с помощью наших АГ/МГ-стимулированных культур клеток, позволило оценить не только функциональное состояние клеточного иммунитета в целом, определяемое по абсолютным значениям исследуемых показателей, но и количественно соотносить его разные составляющие – спонтанные, АГ/МГ-стимулированные реакции с реакцией, модифицированной инфекционным заболеванием.

## ИЗМЕНЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ С РЕЦИДИВИРОВАНИЕМ ФУРУНКУЛОВ НОСА

Ковалец Е.С.<sup>1</sup>, Ганковская О.А.<sup>2</sup>,  
Китайгородский А.П.<sup>3</sup>, Богомильский М.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГОУ ВПО РГМУ, Москва, Россия

<sup>2</sup> НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, Россия

<sup>3</sup> Морозовская ДГКБ, Москва, Россия

Фурункул носа является одной из наиболее часто встречающихся в оториноларингологической практике форм гнойно-воспалительного заболевания. Опасность заболевания заключается в возможном вовлечении в воспалительный процесс венозных сосудов лицевой обла-

сти, а затем сосудов твердой мозговой оболочки с риском развития тромбофлебита и сепсиса. Ведущим этиологическим фактором данного заболевания многие годы считается стафилококк, который, попадая в сальные железы и волосяные мешочки, вызывает развитие воспалительного процесса. Клинические наблюдения показали, что достигаемый под воздействием антимикробной терапии положительный эффект является нестабильным и после ее отмены часто наступает рецидив заболевания. При изучении хронического фурункулеза наряду с особенностями возбудителя, большое внимание уделяется роли иммунной системы. По данным литературы, многочисленные исследования иммунологического статуса проводились у пациентов, страдающих хроническим фурункулезом. Однако показатели иммунитета у детей, страдающих рецидивированием фурункулов носа, не изучены

Следовательно, целью работы явилось определение субпопуляционного состава лимфоцитов и содержания основных классов иммуноглобулинов в периферической крови у детей с клиническими проявлениями рецидивирования фурункулов носа.

**Материалы и методы.** Для выполнения поставленной цели были набраны две группы детей (7-15 лет) по 30 человек, проходивших обследование и лечение в отделении оториноларингологии Морозовской ДГКБ. Основную группу составили дети, страдающие рецидивирующим течением носа и находившиеся в период ремиссии. Группой сравнения служили пациенты с единичными фурункулами носа, которые были обследованы через 2-3 недели после клинического выздоровления. Исследования проведены в диагностической лаборатории Морозовской ДГКБ (зав. лабораторией – Новикова В.М.).

Субпопуляционный состав лимфоцитов в периферической крови определяли с помощью метода проточной цитометрии с использованием моноклональных антител фирмы Beckman Coulter (США) на проточном цитометре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США). Уровни иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в сыворотке периферической крови оценивали фотометрическим иммунотурбидиметрическим методом. Расчет концентрации иммуноглобулинов производился с помощью наборов фирмы DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co (Германия) на автоматизированном клиническом анализаторе Sapphire-400 (Япония).

**Результаты и их обсуждение.** По данным нашего исследования, у всех детей основной группы нарушения проявляются снижением относительного числа Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>) до 63,5 $\pm$ 1,8% (при 66,00-76,00 в группе здоровых доноров того же возраста), статистически значимым снижением процента субпопуляции Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>) до 27,6 $\pm$ 4,5% при нормативных значениях 33,00-41,00. Показатель CD19<sup>+</sup> составил 7,4 $\pm$ 2,1% при 12,00-22,00% у здоровых детей, что является статистически значимым. Также отмечалось небольшое снижение показателей основных классов иммуноглобулинов. У детей сравнительной группы статистически значимых отклонений показателей иммунологического статуса от возрастной нормы не было выявлено.

**Заключение.** Таким образом, установлено, что нарушение функции иммунной системы у таких детей затрагивает как клеточное звено (Т-хелперы), так и гуморальное (В-лимфоциты, синтез иммуноглобулинов). Учитывая полученные данные, рациональным представляется использование в лечении и профилактике рецидивов фурункулов носа у детей иммуноотропных препара-

тов, влияющих на восстановления популяции и функции Т-хелперов, В-лимфоцитов, нормализующих синтез иммуноглобулинов.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ DNA CMV, EBV ГЕРПЕСВИРУСОВ В ЗЕВЕ И ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ

Козлова С.Н., Савельева Е.В.

ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург, Россия

На долю часто болеющих детей приходится от 67 до 75% всех случаев ОРЗ, которые относятся к наиболее распространенным заболеваниям у детей, способствуя формированию хронической патологии (Романцов М.Г. и соавт., 2009). В настоящее время приобретают интерес исследования роли хронических герпесвирусных инфекций в формировании группы часто болеющих детей (Симованьян Э.Н. и соавт., 2007).

**Цель исследования:** оценить значимость герпесвирусных (CMV, EBV) инфекций в формировании группы часто болеющих детей.

### Задачи:

1. Уточнить роль манифестных форм герпесвирусных инфекций в семье в формировании группы часто болеющих детей
2. Изучить особенности клиники и сроки дебюта заболеваний, ассоциированных с EBV, CMV вирусных инфекций у детей
3. Оценить состояние адаптивного и факторов врожденного иммунитета при EBV и CMV инфекциях у детей и уровень вирусной нагрузки у часто болеющих детей

**Материалы и методы.** За период с 2008-2010 гг. проведено обследование методом ПЦР 75 детей в возрасте от 6 мес. до 60 мес. с качественной индикацией DNA CMV, EBV в соскобах со слизистой ротоглотки. Количественная оценка вирусной нагрузки DNA CMV, EBV в соскобах со слизистой ротоглотки (n = 13) выполнена тест-системами «АмплиСенс» (Москва). В сыворотке крови определяли IgM- и IgG-антитела к CMV, HSV, EBV, *Ch. pneumoniae* и *Myc. hominis*. Ранжирование групп проводилось в зависимости от индикации DNA CMV, EBV в соскобах со слизистой ротоглотки, выделены следующие группы: I группа – дети с индикацией EBV со слизистой ротоглотки (n = 19), II группа – дети с определением CMV (n = 24), III группа – дети без выделения CMV, EBV (n = 32). Проведено анкетирование 63 родителей детей, страдающих частыми респираторными заболеваниями, анкеты включали 21 вопрос. Иммунофенотипирование лимфоцитов с определением CD3<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, TNK(CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) выполнено на цитофлюориметре FACScan (Becton Dickison), с исследованием IgG, IgM, IgA, IgE, фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов у 27 детей. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «Statistica 6.0». Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты анкетирования родителей часто болеющих детей показали, что 25,5% матерей и 19% отцов страдали рецидивирующей герпетической инфекцией, острые респираторные инфекции 3 и более раз в год регистрировались у 30,6% матерей и 29,5% отцов. Медиана частоты респираторных заболеваний составила 8 (5-10) раз в год, заболевания сопровождались развитием синдро-

ма острой бронхиальной обструкции у 24% детей, пневмонией – у 24%, отитами – у 49% и синуситами – у 41%. В I группе часто болеющие дети составили 100%, во второй группе – 58% (p < 0,05) и третьей группе – 90%. Высокий индекс резистентности (IR) регистрировался в группах детей с выделением EBV и контрольной группе 0,81±0,05 и 0,85±0,07 соответственно, по сравнению с группой с CMV-инфекцией 0,61±0,09 (p < 0,05). Установлены более ранние сроки дебюта частых респираторных заболеваний у детей с CMV-инфекцией (в среднем 15±2,5 мес.) по сравнению с контрольной группой (24±2,6 мес.) и EBV-инфекцией (27±3,1 мес.), p < 0,05. Дети контрольной группы начинали часто болеть с момента посещения дошкольного учреждения в 53% случаев, дети с CMV-инфекцией – в 25% случаев (p < 0,05), с EBV-инфекцией – в 31%. У детей с CMV-инфекцией отношение шансов (OR) развития гипертензионного составило 2,3 против детей контрольной группы и OR = 6,3 по сравнению с группой с EBV-инфекцией. Уточнены особенности иммунологических сдвигов при EBV-инфекции в виде повышения уровня IgA в крови и снижения НСТстим. по сравнению с группой детей с индикацией CMV. При CMV-инфекции отмечено повышение уровня HLA-DR<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup> лимфоцитов и активности фагоцитоза моноцитов в отличие от контрольной группы с отсутствием индикации вирусов (p < 0,05). Медиана вирусной нагрузки DNA CMV со слизистой ротоглотки составила 2100 копий DNA/10<sup>5</sup> клеток (1140-2450), DNA EBV – 955 копий DNA/10<sup>5</sup> клеток (346-4230). Установлена взаимосвязь факторов врожденного иммунитета TNK лимфоцитов (r = 0,9967) и НСТ стим. (r = -0,9845) с уровнем вирусной нагрузки DNA EBV, идентифицированной из зева. Полученные данные положены в основу разработки новых подходов к иммунореабилитации часто болеющих детей.

## ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫЕ ВАКЦИНЫ:

### НОВЫЕ РАЗРАБОТКИ

Кондратьева Т.К.<sup>1</sup>, Рубакова Э.И.<sup>1</sup>, Корягина А.С.<sup>2</sup>, Лунин В.Г.<sup>2</sup>, Капрелянц А.С.<sup>3</sup>, Апт А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ЦНИИ Туберкулеза, Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт Эпидемиологии и Микробиологии

им. Гамалеи, Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт Биохимии им. Баха, Москва, Россия

Появление новых методов генетического манипулирования геномом микобактерий привели к возможности разработки новых генно-инженерных противотуберкулезных вакцин. Во-первых, большой интерес вызывает возможность получать аттенуированные штаммы самого возбудителя – *Mycobacterium tuberculosis*. Это открывает большие возможности применения гетерологической иммунизации (стратегия “prime-boost”). Во-вторых, требуются вакцины, состоящие из отдельных компонентов возбудителя, поскольку живые вакцины, даже высоко аттенуированные, нельзя вводить людям с иммунодефицитами, в частности ВИЧ-инфицированным детям. В-третьих, ощущается дефицит хороших адъювантов, без которых белковые вакцины почти не вызывают иммунный ответ.

Мы представляем данные об иммуногенных и протективных свойствах живой вакцины-кандидата на основе штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, аттенуированных за счет множественных мутаций «нок-аут» в генах, ко-

дирующих белки из семейства Rpf. Кроме того, мы представляем субъединичные вакцины-кандидаты, полученные за счет иммобилизации на полисахаридных сорбентах рекомбинантных fusion-белков, включающих антигены микобактерий и полисахарид-связывающие домены. В этих соединениях полисахариды выступают в роли адъюванта при иммунизации. Будут представлены результаты проведенных доклинических испытаний в модели туберкулеза у мышей и обсуждены дальнейшие планы исследований.

### СРАВНЕНИЕ ПРОДУКЦИИ IL-2 И ЭКСПРЕССИИ ЕГО РЕЦЕПТОРА НА Т-ЛИМФОЦИТАХ У БОЛЬНЫХ КОКЛЮШЕМ

Котелева С.И., Федорова И.М., Капустин И.В., Кекелия Е.Г.

ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия

Ранее нами было показано, что индуцированная продукция IFN $\gamma$  лимфоцитами детей, больных коклюшем, на 2-4 неделе заболевания резко снижена по сравнению со здоровыми детьми. Продукция IL-2 также снижена и, таким образом, иммунный ответ по Th1-типу на данном сроке заболевания у них подавлен.

**Целью** данного исследования было определение продукции IL-2 и экспрессии  $\alpha$ -цепи его рецептора на Т-клетках у детей, больных коклюшем.

Продукция IL-2 в культуре цельной крови пациентов стимулировалась ФМА с иономицином. Экспрессия CD25 на Т-клетках и Т-хелперах определялась с помощью проточной цитометрии с антителами CD3/CD4/CD25 (Beckman Coulter). Изменение экспрессии CD25 на лимфоцитах в процессе инкубации с ФГА и бласттрансформации лимфоцитов оценивалась через 24, 48 и 72 часа.

Результаты обследования 46 больных коклюшем 1-6 лет показали, что экспрессия CD25 на Т-клетках у данных детей не ниже, чем у контрольной группы детей с коклюшеподобным кашлем другой этиологии (Me = 3,2% и 2,3% соответственно). Не было выявлено и различия в количестве CD25<sup>+</sup> лимфоцитов среди Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>).

После 24-часовой ФГА-стимуляции клеток крови экспрессия этого маркера на Т-лимфоцитах пациентов повышалась. В среднем количество активированных Т-хелперов возрастало с 4,2% до 20%, не отличаясь достоверно от аналогичного показателя у контрольной группы (повышение с 3,8 до 13,1%).

В то же время, индуцированная продукция IL-2 у больных коклюшем была достоверно снижена по сравнению с контрольной группой (163 пг/мл и 1768 пг/мл, соответственно), еще более резко, чем продукция IFN $\gamma$  (1100 пг/мл и 1944 пг/мл, соответственно).

Наблюдаемые изменения, по-видимому, связаны с иммунопатогенезом коклюша и объясняют еще с одной стороны механизм возникновения вторичного иммунодефицита, свойственного данной инфекции.

### АНТИТЕЛА К БЕЛКАМ ТЕПЛООВОГО ШОКА 60 С. TRACHOMATIS ПРИ ОСТРОМ ХЛАМИДИЙНОМ КОНЬЮНКТИВИТЕ

Кричевская Г.И., Вахова Е.С., Кротов С.А., Кротова В.А.

ФГУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца»

Минздравсоцразвития России, Москва, Россия  
ЗАО «Вектор-Бест», Кольцово, Россия

**Введение.** Белкам теплового шока (Heat shock proteins, HSP), в частности HSP 60 *Chlamidia trachomatis* (CHSP 60), отводится важная роль в хронизации воспалительного процесса и развитии осложнений при урогенитальном хламидиозе (УХ). Для хронического УХ характерна остановка роста хламидий на стадии ретикулярных телец (неинфекционной формы), при этом изменяется экспрессия хламидийных антигенов: снижается синтез основного протективного антигена-главного белка клеточной стенки (МОМР) и значительно повышается синтез CHSP 60, что неблагоприятно влияет на течение заболевания. Клеточный и гуморальный иммунный ответ на CHSP 60 усиливается. Имеются единичные данные о роли CHSP 60 в иммунопатогенезе рубцевания при трахоме. Гуморальный ответ на CHSP 60 при начальных стадиях хламидийной инфекции исследован недостаточно.

**Цель.** Изучить гуморальный ответ на HSP 60 и протективные антигены *C. trachomatis* при остром хламидийном воспалении на примере активного хламидийного конъюнктивита (ХК).

**Материалы и методы.** Обследовано 17 пациентов с острым ХК в возрасте от 18 до 35 лет. Диагноз ХК был подтвержден выявлением в цитоплазме эпителиальных клеток конъюнктивы типичных хламидийных включений – телец Провачека.

В сыворотке крови определяли IgG-антитела к CHSP 60; IgG-, IgA, IgM-антитела к протективному видоспецифическому главному антигену наружной стенки *C. trachomatis* (МОМР); а также IL-4, IL-10 и IL-1 $\beta$  (твердофазный ИФА). Использовали диагностические тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест», Кольцово.

**Результаты.** По данным цитологического исследования соскобов обсемененность конъюнктивы варьировала от единичных хламидийных включений в препарате до наличия нескольких включений в одном поле зрения.

Специфический гуморальный ответ у пациентов с острым ХК характеризовался высокой продукцией антител как к протективному антигену *C. trachomatis*, так и к CHSP 60. IgG-МОМР-антитела выявлены у 100% обследованных в титрах 1:20-1:80 (ср. геом. титров 1:64), IgA-МОМР – антитела – у 47% в титрах 1:5 до 1:20 (ср. геом.титров 1:8), IgM-МОМР-антитела – у 38% в низких титрах.

IgG-CHSP 60-антитела обнаружены у 14 из 17 (82,4%) пациентов (ср.ΔОП-1.46). Антитела к CHSP 60 не выявлены только у 3 больных с наиболее выраженной продуктивной инфекцией (обилие т. Провачека в эпителии конъюнктивы).

В сыворотке крови 75% больных с активным ХК обнаружен IL-4 в концентрации 43-910 пкг/мл, отмечена обратная корреляция между уровнями IgG-антител к CHSP 60 и концентрацией IL-4 (r-0,710). IL-1 $\beta$  обнаружен у 16% обследованных. Ни у одного пациента не выявили IL-6 и IL-10.



**Заключение.** В конъюнктиве глаза пациентов с острым ХК наряду с ретикулярными тельцами выявляется большое количество инфекционных форм хламидий — элементарных телец. Специфический гуморальный ответ характеризуется активной продукцией антител как к МОМР, так и к СНСП 60, что свидетельствует об экспрессии этого антигена в начальной острой стадии инфекции. Цитокиновый статус пациентов с ХК несколько отличался от описанного при хроническом УХ: IL-4 выявлен у 75% пациентов, а IL-10 не обнаружен ни в одном случае, хотя при хроническом УХ СНСП 60 стимулировал продукцию как IL-4, так и IL-10. Эффективная антибиотикотерапия ХК привела к купированию воспалительных симптомов, элиминации возбудителя из конъюнктивы и снижению титров антител к СНСП 60.

### ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ СОСТОЯНИЯ У ДЕТЕЙ С ОСЛОЖНЕНИЯМИ НА ВАКЦИНАЦИЮ БЦЖ

Краснопрошина Л.И., Севостьянова Т.А.<sup>1</sup>,  
Аксенова В.А.<sup>1</sup>, Киселевич О.К.<sup>1</sup>, Бишева И.В.,  
Сходова С.А.

*НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН,  
Москва, Россия*

<sup>1</sup> *НИИ фтизиопульмонологии ММА им. И.М. Сеченова,  
Москва, Россия*

**Введение.** Основным методом защиты новорожденных от туберкулезного менингита, генерализованных форм туберкулеза является вакцинация БЦЖ, препаратом из живых аттенуированных бактерий. Полностью избежать поствакцинальных осложнений — развития лимфаденитов, холодных абсцессов не удается.

**Цели и задачи.** Учитывая имеющиеся в литературе данные о влиянии иммунодефицитов на развитие осложнений при введении живой полиомиелитной вакцины (Л.И. Краснопрошин и соавт., 2006), целью данного исследования являлось изучение взаимосвязи между наличием иммунодефицита и развитием лимфаденитов при вакцинации новорожденных детей БЦЖ вакциной.

**Методы.** Определение субпопуляций лимфоцитов методом иммунофлюоресценции, уровня фагоцитарной активности лейкоцитов, уровня иммуноглобулинов сыворотки методом иммунодиффузии по Манчини, оценка тяжести клинического процесса.

**Результаты.** Работа проводилась на базе городского консультативно-диагностического центра для детей при туберкулезной клинической больницы № 7, где в 2002-2010 гг. были обследованы и пролечены 202 ребенка в возрасте от 1,5 месяцев до 3-х лет с осложнением вакцинного процесса в виде холодных абсцессов и лимфаденитов. В 2010 году у 15 детей данной группы были исследованы показатели иммунного статуса и соотнесены с тяжестью течения. Установлено, что уровень Т-лимфоцитов (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>) был снижен у трех детей (20%) и повышен у трех детей (20%). Содержание Т-хелперов (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) у 14 из 15 детей был в пределах возрастной нормы. Уровень Т-супрессоров (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) в пределах нормы определялся у 11 детей, у 4-х (26%) был снижен. Выявлено значительное снижение относительного уровня (до 3%–4%) лимфоцитов натуральных киллеров (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) у трех детей. Содержание В-лимфоцитов (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>) было достаточно высоким у всех обследованных 15 детей. Вместе с тем продукция иммуноглобулинов была наруше-

на. В первую очередь это касалось уровня IgA-глобулина сыворотки. Из 15 детей с наличием туберкулезного лимфаденита у 10 (66%) уровень IgA в сыворотке не определялся, у 2-х — он был понижен. И только у 3-х — он был в границах возрастной нормы. Одновременно у 4-х детей с отсутствием IgA уровень IgG был существенно ниже возрастной нормы. Содержание IgM у этих детей не было понижено. У одного ребенка с нормальным содержанием иммуноглобулинов, но с наличием лимфаденита, выявлено снижение лимфоцитов натуральных киллеров CD16.

Данные результаты согласуются с полученными нами ранее данными о механизме иммунодефицита у детей с вакциноассоциированным паралитическим полиомиелитом.

**Заключение.** Причиной развития осложнений при введении БЦЖ может быть дефицит, в первую очередь, IgA иммуноглобулина, а также его сочетание с дефицитом IgG или снижение CD16.

### ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ЖЕНЩИН С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ И УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИЯМИ

Круглова Д.Ю., Савченко А.А., Цхай В.Б.

*НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,  
г. Красноярск, Россия*

*ГОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»,  
г. Красноярск, Россия*

В настоящее время этиологическая и патогенетическая роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в развитии рака шейки матки (РШМ) доказана. В связи с общностью путей передачи папилломавирусной инфекции (ПВИ) и возбудителей других урогенитальных инфекций (УГИ) возможно нередкое их сочетание. Доказано, что УГИ оптимизируют условия для персистенции ВПЧ. Смешанная инфекция труднее поддается лечению, так как в организме развиваются более выраженные и глубокие изменения, что с большей вероятностью приводит к развитию РШМ.

**Целью исследования** явилось изучение особенностей состояния иммунной системы у женщин с моноинфекцией ВПЧ и при сочетании ПВИ и УГИ.

**Материалы и методы.** Обследовано 28 женщин с моноинфекцией ВПЧ и 37 женщин с папилломавирусной и урогенитальной инфекцией в возрасте 25-40 лет. В качестве контроля обследовано 78 здоровых женщин аналогичного возрастного диапазона. У всех обследованных с помощью иммуноферментных методов и ПЦР-анализа исследовали наличие сопутствующих инфекций, передаваемых половым путем. Методом непрямой иммунофлюоресценции, используя соответствующие FITC-меченые моноклональные антитела фирмы ТОО «Сорбент» (г. Москва) определяли CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup> клетки. Концентрацию иммуноглобулинов класса А, М, G в сыворотке крови определяли методом иммунодиффузии в геле. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови изучали методом селективной преципитации. Исследования спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) нейтрофилов крови осуществляли с помощью анализатора «CL3606М» (г. Красноярск, Россия).

**Основные результаты.** При исследовании состояния клеточного звена иммунной системы установлено, что у больных с моноинфекцией ВПЧ относительно контрольных показателей снижено процентное содержание CD4<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup> лимфоцитов. В то же время у женщин с сочетанной ПВИ и УГИ кроме пониженного процентного количества CD4<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup> клеток относительно контрольных уровней также обнаружено значительное понижение относительного и абсолютного количества лимфоцитов и CD8<sup>+</sup> клеток, абсолютного содержания CD3<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> лимфоцитов как в сравнении с контрольными значениями, так и выявленными у женщин с ВПЧ. Только в сравнении с контрольным диапазоном у больных данной группы в периферической крови статистически достоверно снижено процентное количество CD3<sup>+</sup> лимфоцитов и абсолютное содержание CD16<sup>+</sup> клеток. Изменение показателей гуморального звена иммунной системы установлены только у больных с сочетанной инфекцией. Обнаружено, что у женщин данной группы повышена концентрация IgM в сыворотке крови, уровень относительного синтеза IgM и содержание ЦИК. Однако при исследовании хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов обнаружены минимальные различия в зависимости от типа изучаемой инфекции. Как при моноинфекции ВПЧ, так и при сочетанной ПВИ и УГИ установлено повышение максимума интенсивности и площади под кривой спонтанной ХЛ. Со стороны зимозан-индуцированной ХЛ обнаружено понижение времени выхода на максимум и увеличение максимума интенсивности. Единственным показателем ХЛ активности нейтрофильных гранулоцитов, различающийся от типа инфекционного процесса, является площадь под кривой зимозан-индуцированной хемилюминесценции: при моноинфекции ВПЧ повышена в 7,0 раз по сравнению с контролем, при сочетанной ПВИ и УГИ увеличена в 2,8 раз по сравнению с контролем, но в 2,5 раза ниже по сравнению с величиной, выявленной при моноинфекции ВПЧ.

**Заключение.** Таким образом, при сочетанной ПВИ и УГИ обнаружены более выраженные нарушения иммунного статуса по сравнению с моноинфекцией ВПЧ. Состояние иммунного статуса при сочетанной ПВИ и УГИ характеризуется снижением содержания лимфоцитов в периферической крови, прежде все за счет Т-лимфоцитов и NK-клеток. При этом, сниженное количество Т-клеток связано с обеими фракциями: CD4<sup>+</sup> клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов. Только при сочетанной инфекции наблюдается повышение IgM и ЦИК. В то же время функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов практически не различается при сочетанной инфекции ПВИ и УГИ и моноинфекции ВПЧ, что определяется ролью фагоцитарных клеток в иммунопатогенезе данных инфекционных процессов.

## ВЛИЯНИЕ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК, НАГРУЖЕННЫХ ВИЧ-СПЕЦИФИЧЕСКИМ АНТИГЕНОМ, НА АКТИВНОСТЬ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ В КУЛЬТУРЕ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

Курилин В.В., Лопатникова Ю.А., Сенников С.В., Карпенко Л.И.<sup>1</sup>, Нечаева Е.А.<sup>1</sup>, Ильичев А.А.<sup>1</sup>, Козлов В.А.

НИИ клинической иммунологии СО РАМН,  
г. Новосибирск, Россия

<sup>1</sup>ФГУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор»  
Роспотребнадзора, п. Кольцово, Россия

**Введение.** Один из перспективных подходов к созданию нового поколения надежных и безопасных вакцин против ВИЧ связан с созданием искусственных полиэпитопных вакцин на основе специально отобранных В- и Т-клеточных эпитопов. Данный подход был использован для создания искусственной полиэпитопной конструкции – белок ТВ1, созданный на базе ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Одним из подходов для стимуляции клеток-эффекторов противовирусной защиты (цитотоксических Т-лимфоцитов) является использование клеточных вакцин на основе аутологичных дендритных клеток, нагруженных специфическим антигеном.

**Целью** данной работы является оценить влияние дендритных клеток, нагруженных специфическим антигеном (ТВ1), на активацию цитотоксических Т-лимфоцитов в культуре моноклеарных клеток условно здоровых доноров с применением IL-12 и IL-18.

**Материалы и методы.** В работе использована периферическая кровь условно здоровых доноров и белок ТВ1. Из периферической крови выделяли моноклеарные клетки (МНК) стандартным методом на градиенте фиккол-урографина ( $p = 1,077$ ). После этого из МНК выделяли клетки с повышенной адгезивной способностью посредством инкубации на пластике. К прилипшей фракции МНК добавлялись 50 нг/мл rhGM-CSF, 100 нг/мл rhIL-4 на срок 48 ч для получения незрелых дендритных клеток (ДК). В качестве антигена использовали белок ТВ1 в количестве 130 нг/мл, который добавляли к незрелым ДК и инкубировали 18–20 ч. Контролем были ДК, которым не добавляли антиген (ДК0). Для дальнейшего созревания к незрелым ДК добавляли rhTNF $\alpha$  (25 нг/мл). Через 24 ч МНК сокультивировали с ДК, ДК0 в соотношении 10:1. Для сравнения активации МНК при сокультивировании с ДК, в отдельные лунки с МНК и ДК добавляли 10 нг/мл rhIL-12 и 100 нг/мл rhIL-18. Далее полученные группы культур клеток разделили на две подгруппы (спонтанная и ТВ1-стимулированная), к одной из них через 48 часов добавляли белок ТВ1 в количестве 130 нг/мл. Через 48 часов оценивали количество перфорин-содержащих цитотоксических клеток. Через 60 часов с момента добавления белка ТВ1 в культуру МНК оценивали внутриклеточную продукцию IL-4 и IFN $\gamma$  цитотоксическими клетками. Исследуемые параметры оценивали на проточном цитофлюориметре FACS Aria (BD, США). Статистическую обработку результатов производили с применением непараметрического критерия Манна–Уитни, различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Основные результаты.** При исследовании влияния ДК, нагруженных белком ТВ1 на количества цитотоксических клеток Т-лимфоцитов в культуре МНК, не было обнаружено статистически значимых изменений. При дополни-

тельном добавлении ТВ1 в культуру МНК с ДК, нагруженных антигеном, происходило уменьшение количества цитотоксических Т-лимфоцитов, содержащих IL-4. Добавление IL-12 и IL-18 к ДК, нагруженных антигеном, приводило к дальнейшему снижению количества цитотоксических Т-лимфоцитов, содержащих IL-4. Количество IFN $\gamma$ -содержащих цитотоксических Т-лимфоцитов достоверно не менялось, как при инкубации с ДК, нагруженными белком ТВ1, так и в присутствии IL-12 и IL-18. Установлено, что использование ДК, нагруженных белком ТВ1, достоверно увеличивает количество CD8-позитивных клеток, содержащих перфорин, в культуре МНК, в отличие от ДК без нагрузки белком ТВ1, что свидетельствует о способности ДК, нагруженных полиэпителиальной конструкцией (ТВ1) стимулировать цитотоксическую активность CD8-позитивных клеток.

**Заключение.** Были получены результаты, свидетельствующие об эффективности презентации ТВ1 с помощью ДК и стимуляции Th1-опосредованного иммунного ответа. Сочетание зрелых ДК с IL-12 и IL-18 позволило усилить влияние ДК, нагруженных специфическим антигеном, на индукцию ВИЧ-специфического иммунного ответа в культуре МНК.

#### ПОЛНАЯ ЭЛИМИНАЦИЯ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА ПОСЛЕ СИСТЕМНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК У БОЛЬНОГО ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Лазебник Л.Б.<sup>1</sup>, Ручкина И.Н.<sup>1</sup>, Парфенов А.И.<sup>1</sup>, Князев О.В.<sup>1</sup>, Сагынбаева В.Э.<sup>1</sup>, Щербаков П.Л.<sup>1</sup>, Михайлова З.Ф.<sup>1</sup>, Коноплянников А.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Центральным научно-исследовательским институтом гастроэнтерологии департамент здравоохранения, Москва, Россия

<sup>2</sup> Медицинский радиологический научный центр МЗ и СР РФ, г. Обнинск, Россия

В экспериментальных работах *in vivo* и *in vitro* продемонстрировано, что МСК экспрессируют различные варианты Toll-рецепторов, которые стимулируются вирусными и бактериальными антигенами, тем самым активируют клеточный иммунный ответ. Следовательно, МСК принимают участие в противоинойфекционной защите организма.

Больной К., 41 года, поступил в отделение патологии кишечника ЦНИИ гастроэнтерологии с жалобами на жидкий стул до 5-6 раз в сутки с примесью крови и слизи, в дневное и ночное время, субфебрильную температуру в вечернее время, боли в нижних отделах живота, слабость. Индекс Рахмилевича составил 9 баллов, уровень СРБ 24 мг/л, лейкоцитоз до 14 тысяч с гиперрегенераторным сдвигом нейтрофилов влево. По данным колоноскопии и результатам биопсии слизистой оболочки кишки установлен диагноз язвенного колита, левостороннее поражение, индекс Мейо – 8 баллов. Начата терапия сульфасалазином 4 г/сут, преднизолон в микроклизмах 60 мг/сут. В течение 7 дней положительного эффекта достигнуто не было – сохранилась диарея с примесью крови, лихорадка. В связи с отсутствием эффекта назначен преднизолон 1 мг/кг, метрогил 1000 мг/сут в/в капельно. Наступило улучшение: температура нормализовалась, частота стула уменьшилась до 2-3 раз, стул оформленный, без патологических примесей, индекс Рахмилевича снизился до 7 баллов, индекс Мейо сохранялся на прежнем уровне

– 8 баллов. Однако при снижении дозы преднизолона до 6 таб (30 мг/сут) происходил рецидив заболевания. Таким образом, констатирована гормонозависимая форма язвенного колита. Больному было проведено обследование на наличие вирусной инфекции.

**Результаты.** Были выявлены следующие изменения – в сыворотке крови больного четырехкратное увеличение титров антител класса IgG к ЦМВ, повышение уровня антител класса IgM до 3-х норм, в биоптате слизистой оболочке кишки выявлено наличие ДНК цитомегаловируса с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Величина вирусной нагрузки в лейкоцитах периферической крови больного составила 1:1000 (ДНК ЦМВ). ДНК вируса простого герпеса обнаружено не было. Наличие ЦМВ нами было расценено как причина гормонозависимости и гормонорезистентности ЯК у больного. Противовирусная терапия не проводилась.

С целью усиления противовоспалительной терапии и преодоления гормонозависимости больному дважды была осуществлена трансплантация МСК с интервалом 4 недели. На фоне комплексной терапии ЯК с использованием культуры клеток удалось достигнуть клинико-эндоскопической ремиссии заболевания (индекс Рахмилевича – 0 баллов, индекс Мейо – 1 балл, СРБ – 3,45 мг/л) и полностью отменить ГКС в течение 3-х недель. При контрольном обследовании больного через 2 месяца от выявления ЦМВ в сыворотке крови больного антител класса IgG и IgM к ЦМВ не обнаружены, ДНК ЦМВ методом ПЦР в крови и тканях кишки не определялся.

**Вывод.** Введение культуры МСК способствовало элиминации ЦМВ без проведения противовирусной терапии и преодолению гормонозависимости/гормонорезистентности у больного язвенным колитом.

#### ПРИМЕНЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ В СОЗДАНИИ СИНТЕТИЧЕСКИХ ВАКЦИН

Лебедев В.В.

ФГУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Предлагаются подходы к разработке новой, оригинальной базисной технологии получения синтетических вакцин, включающих в качестве адьювантов регуляторные пептиды. Технология предусматривает использование защитных эпитопов иммобилизованных на носителе совместно с множеством молекул PRR агонистов (патоген распознающие рецепторы). Одновременно технология предусматривает исключение эпитопов, которые не распознаются иммунной системой и относятся к категории «иммунно-ускользающих» патогенов. Для данной технологии применяется биологически совместимый носитель на основе полисахаридов, на котором путем химического взаимодействия иммобилизируют множество эпитопов и лигандов PRR агонистов. Таким образом достигается возможность мимикрирования частиц в качестве патогена, который приобретает способность к распознаванию фрагментов молекул патоген-ассоциированных участков и формированию на него клеточного и гуморального иммунного ответа. Введение в состав вакцины синтетических регуляторных пептидов позволит увеличить силу иммунного ответа к низкомолекулярным эпитопам (антигенам), что является принципиально важным для повышения протективных и лечебных свойств синтетических вакцин. Подобная комбинированная техно-

логия позволит создать новое поколение полностью синтетических вакцин, способных программировать и вызывать иммунный ответ на различные патогены. На основе базисной технологии станет принципиально возможным конструировать профилактические и лечебные вакцины против практически любых инфекционных патогенов и антигенов клеток опухоли.

### КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

Левина А.С., Железникова Г.Ф., Бабаченко И.В., Ушакова Г.М., Копылова А.В.

ФГУ «НИИ ДИ ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

Необходимость совершенствования терапии хронических герпесвирусных инфекций (ГВИ) связана с увеличением числа пациентов с клиническими проявлениями иммунодефицита, в том числе детей.

**Целью работы** было отработать схемы терапии хронических ГВИ у детей и оценить их эффективность.

Представлены результаты лечения по поводу хронической ГВИ 54 детей от 7 до 17 лет, в комплексной терапии которых помимо ацикловира и препаратов рекомбинантного интерферона использовался отечественный индуктор интерферона Амиксин. Наряду с анализом клинических симптомов и общепринятых лабораторных исследований изучали некоторые показатели иммунного ответа. Фенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител ("BD Biosciences", производство США). Пролиферативную активность иммунокомпетентных клеток оценивали в реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) в культурах цельной крови. В качестве митогена использовали фитогемагглютинин (ФГА). Также определяли концентрации иммуноглобулинов А, М, G, E, общего пула ЦИК.

У 21 ребенка отмечалась рецидивирующая герпетическая инфекция в виде афтозного стоматита ( $n = 8$ ), герпетического везикулярного дерматита на лице ( $n = 9$ ) или офтальмогерпеса ( $n = 4$ ); у 2 — рецидивы опоясывающего герпеса. 13 детей консультированы по поводу частых длительных респираторных заболеваний; у 7 отмечались периодические эпизоды лихорадки неясного генеза; 10 — обследованы в связи с лимфоаденопатией, 1 — в связи с рецидивами сиалоаденита. При вирусологическом исследовании методом ИФА с определением специфических антител IgM и IgG, а также прямыми методами (ПЦР, иммуноцитохимия) установлена моноинфекция у 57% (вирус простого герпеса (ВПГ) — 30%, вирус ветряной оспы (ВВО) — 4%, вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) — 18%, цитомегаловирус (ЦМВ) — 5%), у 43% — смешанная ГВИ. В иммунном статусе наблюдался выраженный дефицит  $CD3^+$  ( $1,1 \pm 0,12$  при норме  $2,3 \pm 0,36 \times 10^9/л$ ,  $p < 0,001$ ),  $CD4^+$  ( $0,69 \pm 0,09$  при норме  $1,7 \pm 0,21$ ,  $p < 0,001$ ),  $CD8^+$  ( $0,45 \pm 0,06$  при норме  $0,85 \pm 0,14$ ,  $p < 0,01$ ),  $CD16^+$  ( $0,34 \pm 0,04$  при норме  $0,55 \pm 0,08$ ,  $p < 0,05$ ) и  $CD20^+$  клеток ( $0,37 \pm 0,03$  при норме  $1,04 \pm 0,14$ ,  $p < 0,001$ ), повышенная концентрация ЦИК в крови ( $144 \pm 10$  отн. ед. против  $115 \pm 10$  у здоровых детей,  $p < 0,05$ ), и резко сниженная РБТЛ на ФГА ( $59,3 \pm 3,9$  при норме  $75 \pm 2$ ,  $p < 0,001$ ).

Дети с рецидивирующей ГВИ получали комплексную терапию, включающую в себя Ацикловир (из расчета 1 г

в сутки при ВПГ или ВЭБ инфекции или 2 г в сутки в течение 10 дней при опоясывающем герпесе) и интерферон-содержащий препарат (виферон-2, кипферон, реаферон) в течение 20 дней, затем курс амиксина в разовой дозе — у детей с 7 лет до 12 лет 0,06 мг и старше 12 лет 0,125 мг 1 раз в 48 часов № 10.

В ходе клинико-лабораторного мониторинга детей с герпетической инфекцией ( $n = 21$ ) и опоясывающим герпесом ( $n = 2$ ) в течение 12 мес. после терапии было установлено отсутствие рецидивов болезни у 18 детей (78%), у 2 пациентов отмечался повторно лабиальный герпес через 2 и через 4 мес. после курса терапии и у 1 рецидив офтальмогерпеса через 6 мес. Среди детей с хронической активной ВЭБ и ЦМВ инфекцией ( $n = 36$ ) после лечения у 23 пациентов (64%) отмечали выздоровление с клинико-лабораторной ремиссией в течение 1 года, у 9 (25%) — клиническое улучшение с сохранением вирусовыделения из биологических сред (слюна, моча) и у 4 (11%) — сохранение клинических проявлений заболевания и вирусовыделения. В иммунном статусе отмечалось нормализация числа  $CD3^+$  ( $1,58 \pm 0,13 \times 10^9/л$ ),  $CD16^+$  ( $0,5 \pm 0,03 \times 10^9/л$ ),  $CD20^+$  лимфоцитов ( $0,58 \pm 0,04 \times 10^9/л$ ), достоверное нарастание числа  $CD4^+$  (до  $1,0 \pm 0,08 \times 10^9/л$ ) и активированных клеток  $CD25^+$  (до  $0,61 \pm 0,06 \times 10^9/л$  по сравнению с  $0,4 \pm 0,05 \times 10^9/л$  до лечения,  $p < 0,05$ ). Также отмечалась нормализация реактивности Т-лимфоцитов в РБТЛ на ФГА (до  $72,4 \pm 2,3\%$ ) и концентрации ЦИК в крови ( $116 \pm 12$  отн. ед.).

Таким образом, комбинированная схема применения противовирусных средств с различным механизмом действия обладает эффективным противорецидивным действием у детей с хронической герпесвирусной инфекцией.

### ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ЭФФЕКТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ: МАРКЕРЫ, МЕХАНИЗМЫ И ИНФОРМАТИВНОСТЬ ОЦЕНКИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Лядова И.В., Шмитова Н.С., Никитина И.Ю., Васильева И.А., Кондратюк Н.А.

Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза РАМН, Москва, Россия

**Введение.** Т-лимфоциты CD4 играют ключевую роль в протекции при инфекционных заболеваниях. Функционально зрелые лимфоциты CD4 образуются из наивных клеток в результате многоступенчатого процесса дифференцировки. При острых инфекциях процесс дифференцировки Т-лимфоцитов охарактеризован достаточно подробно. Для таких инфекций характерно быстрое развитие Т-клеточного ответа в начале инфекции и гибель большинства эффекторных лимфоцитов после клиренса патогена. Особенности дифференцировки и функционирования Т-лимфоцитов CD4 при хронических инфекциях, особенно, бактериальных, остаются мало изученными. Неизвестно, как поддерживается пул эффекторных лимфоцитов при длительной инфекции, имеется ли взаимосвязь между прогрессированием инфекции и степенью дифференцировки Т-лимфоцитов, какова роль Ag и костимуляционных сигналов в поздних этапах дифференцировки эффекторных клеток.

**Цель работы:** исследование особенностей и механизмов дифференцировки Т-лимфоцитов CD4 при туберкулезной инфекции.

**Материалы и методы.** Исследование степени дифференцировки эффекторных лимфоцитов у больных туберкулезом (ТБ) легких проводили, определяя экспрессию на клетках периферической крови маркеров CD4, CD45RO, CD62L, CD27, CD57, CD38 и др. методом проточной цитометрии. Исследование времени жизни эффекторных лимфоцитов проводили на модели экспериментальной туберкулезной инфекции у мышей с использованием адоптивного переноса очищенной популяции эффекторных клеток (клеток CD4+CD62L-), меченых CFDA-SE. Роль Ag в поздних этапах Т-клеточной дифференцировки исследовали, сравнивая дифференцировку эффекторных лимфоцитов, специфичных к Ag микобактерий ESAT-6 и к постороннему Ag (овальбумину), после их переноса мышам, инфицированным *M. tuberculosis*. Клетки, специфичные к ESAT-6 и к овальбумину, получали от мышей B6.TgN(ESAT6) и OT-II, трансгенных по Т-клеточным рецепторам соответствующей специфичности (сотрудничество с докт. Д. Вудлэнд и Г. Винслоу, институт Трюдо, США).

**Основные результаты.** У больных ТБ и здоровых доноров в популяции лимфоцитов CD4 крови можно выделить несколько субпопуляций Т-клеток-эффекторов, представляющих собой последовательные стадии дифференцировки: ранние, зрелые, «стареющие» и терминально-дифференцированные (ТД) эффекторы. Процент зрелых, стареющих и ТД субпопуляций у больных ТБ увеличен ( $p < 0,02$  по сравнению со здоровыми донорами). Выявлена ассоциация между высоким содержанием в крови дифференцированных эффекторов и тяжелым течением инфекционного процесса, сопровождающимся выраженными деструктивными изменениями легочной ткани. Показано, что на поздних этапах дифференцировки, Т-лимфоциты CD4 теряют способность к Ag-индуцированной секреции интерферона-гамма и к развитию других типов ответа на стимуляцию Ag. Таким образом, высокая степень дифференцировки эффекторных лимфоцитов, наблюдаемая при тяжелом инфекционном процессе, может являться одним из механизмов прогрессирования инфекции.

Исследования роли Ag в дифференцировке эффекторных лимфоцитов CD4, проведенные на модели экс-

периментальной туберкулезной инфекции у мышей, показали, что дифференцировка ранних эффекторных клеток в зрелые эффекторы может проходить в отсутствие Ag, под действием цитокинов. Напротив, ТД зависит от присутствия Ag. Развитие туберкулезной инфекции сопровождается накоплением зрелых и ТД клеток, содержание которых увеличивается, начиная со 2 недели после инфекции, и сохраняется на высоком уровне в течение нескольких месяцев. При этом время жизни зрелых эффекторных клеток не превышает 2-4 недель, то есть поддержание пула эффекторных лимфоцитов происходит за счет их постоянного обновления.

**Заключение.** Эффекторные лимфоциты представляют собой гетерогенную популяцию клеток, находящихся на разных стадиях дифференцировки. Высокая степень дифференцировки эффекторных лимфоцитов CD4 сопровождается потерей функциональной активности и является признаком тяжелого инфекционного процесса. Определение степени дифференцировки эффекторных лимфоцитов CD4 может служить ценным показателем для оценки состояния Т-клеточного иммунитета при хронических бактериальных инфекциях.

Работа поддержана грантами РФФИ № 10-04-01128 и NIH # AI078899.

#### ЗНАЧЕНИЕ АНТИЭНДОТОКСИНОВЫХ БЕЛКОВ В СИСТЕМЕ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ

Мавзютова Г.А., Мавзютов А.Р., Кузовкина О.З., Мухамадиева Л.Р., Акбашева А.О.

ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа, Россия

**Введение.** Внебольничная пневмония (ВП) остается одной из актуальных проблем современной медицины в связи с высокой и стабильно растущей заболеваемостью, не имеющей тенденции к снижению летальностью, частым развитием тяжелых и затяжных форм. Одной из ведущих причин осложненного и затяжного течения ВП является изменение иммунологической реактивности организма. Вместе с тем не определена роль си-

**ТАБЛИЦА. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ВП С РАЗЛИЧНЫМ ИСХОДНЫМ УРОВНЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДСВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА (LBP) (К ТЕЗИСАМ МАВЗЮТОВОЙ Г.А. И ДР.)**

Показатели	Больные ВП с отклонениями содержания LBP в крови (n = 48), (M±m)				ПЗЛ контроль (n = 20)
	I подгруппа (n = 19)		II подгруппа (n = 29)		
	1-е сутки	10-е сутки	1-е сутки	10-е сутки	
IL-4, пг/мл	42,84±7,92	51,7±13,74*	17,87±5,7**	4,93±1,1***	30,60±6,60
IL-6, пг/мл	7,284±3,84	2,9±1,3	49,38±37,42**	53,78±28***	5,50±2,30
TNFα, пг/мл	2,068±0,77*	1,045±0,45	3,136±1,6	5,72±2,9**	1,50±0,35
ЦИК, у.е.	89,4±15,43**	58,09±6,03*	97,4±15,43**	67,4±15,43*	31,8±3,3
ФИ	21,35±5,2*	40,35±3,2*	21,3±0,03*	30,8±0,03*#	50,8±1,85
CD3 <sup>+</sup> , %	48,47±2,43*	73,16±2,43#	48,7±2,65*	61,47±3,09*	71,23±1,18
CD4 <sup>+</sup> , %	31,56±1,3*	45,56±1,3#	31,29±1,78*	41,29±1,82*	45,52±0,61
CD19 <sup>+</sup> , %	9,75±0,26*	10,98±2,13	10,8±0,13*	11,55±0,36	12,55±0,36

**Примечание.** Статистическая значимость различий с группой контроля: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ , # – различия между подгруппами –  $p < 0,05$

стемной эндотоксинемии и антиэндотоксиновой защиты в патогенезе тяжелого и осложненного течения заболевания, не изучено влияние составляющих ее факторов на течение и исходы внебольничной пневмонии.

С целью определения влияния бактериальной липополисахаридобусловленной системной эндотоксинемии и антиэндотоксиновых белков на клинико-иммунологические характеристики заболевания проведено обследование 60 госпитализированных больных ВП различной степени тяжести в возрасте от 18 до 65 лет с неотягощенным иммунологическим анамнезом.

**Материалы и методы исследования.** Определение содержания в крови эндотоксина — липополисахарида (LAL-тест), антиэндотоксиновых белков LBP, anti-cole-LPS IgG (ИФА, «HyCult biotechnology»), иммунофенотипирование лимфоцитов (проточная цитофлуорометрия, Erics XL, «Coulter»), содержание сывороточных цитокинов (ИФА, «Протеиновый контур»), общеклинические и статистические методы исследования.

**Результаты.** Выявлены при отсутствии значимого уровня липополисахарида в крови на 5-6 день заболевания активация липополисахаридсвязывающего белка (LBP) у 29 больных (48,3%), и антител к соге региону ЛПС у 26 (43,3%) пациентов с грамотрицательной, смешанной и неустановленной этиологией пневмонии. Эти категории больных характеризовались преимущественно средней тяжести, тяжелой и осложненной формами заболевания (79,3%). Иммунологический мониторинг показал у больных с высоким содержанием LBP более выраженное снижение значений Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>), Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>), В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>) ( $p < 0,01$ ), значительный рост уровня сывороточных цитокинов IL-6, TNF $\alpha$ , на фоне снижения IL-4 ( $p < 0,05$ ); в сравнении с пациентами, у которых содержание антиэндотоксиновых белков в крови было низким. Корреляционный анализ подтвердил наличие тесной взаимосвязи ( $r$ - от 0,48 до 0,91) между основными показателями иммунитета и LBP, антиэндотоксиновыми белками и цитокинами различной направленности в течение воспалительного процесса.

**Вывод:** антиэндотоксиновые белки являются этиологическими маркерами пневмонии, дополнительным показателем степени тяжести заболевания; обладают наряду с протективным действием иммуномодифицирующим влиянием, реализуемым цитокинами.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., в рамках реализации мероприятия № 1.2.1. Государственный контракт П385 от 30.07.2009.

## ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ РАЗВИТИЯ ИММУНИТЕТА ПРИ ВАКЦИНАЦИИ

Медуницын Н.В.

ГИСК им. Л.А. Тарасевича, Москва, Россия

Календарь прививок с усредненными дозами вакцин и жесткими схемами их введения уравнивают условия иммунизации граждан и рассчитаны на среднего по иммунологической активности человека. Среди вакцинированных всегда имеются группа лиц, не отвечающих на вакцину или слабо реагирующих на нее. Эта группа требует особого внимания, во многих случаях она является источ-

ником формирования бактерионосительства (вирусоносительства) и поддержания инфекционной заболеваемости. Вторую группу составляют лица с очень высокой иммунологической реакцией на конкретную вакцину, такие лица не нуждаются в повторном введении той же вакцины. Все это свидетельствует о необходимости разработки принципов коррекции развития иммунитета при вакцинации с целью достижения более эффективного и рационального индивидуального и коллективного иммунитета.

В идеале иммунологическая коррекция вакцинации может обеспечить формирование достаточного иммунитета у каждого прививаемого человека. Ее можно проводить с помощью подбора вида вакцин (живые, убитые, расщепленные, субъединичные), выбора доз и схем введения вакцин, а также с помощью применения различных средств усиления иммунного ответа (адьюванты, цитокины, средства доставки антигена, носители антигенов, комплексные структуры, содержащие антигены вакцин и различные костимуляторы иммунного ответа, и пр).

Благодаря внедрению методов иммунологической коррекции лица, не отвечающие на вакцины, и слабо реагирующие лица, будут защищены от инфекций, а другая часть населения будет избавлена от гипериммунизации, которая имеет свои отрицательные стороны. В первую очередь принципы персонализации вакцинации следует распространить на группы лиц повышенного риска, у которых в очень большом проценте случаев формируется очень слабый поствакцинальный иммунитет.

Индивидуализация вакцинации может повысить эффективность проводимых мероприятий по вакцинопрофилактике населения и решить многие вопросы медицинской этики, связанные с вакцинацией. Все изменения порядка вакцинации в связи с ее персонализацией должны быть обоснованы и утверждены в установленном порядке.

## ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ ПРИ КЛЕЩЕВОМ ЭНЦЕФАЛИТЕ У ЛЮДЕЙ

Мезенцева М.В.<sup>1,2</sup>, Морозова О.В.<sup>1</sup>, Антошина И.Ф.<sup>2</sup>, Подчерняева Р.Я.<sup>1</sup>, Шаповал И.М.<sup>2</sup>, Злобин В.И.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравооразвития России, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи

Минздравооразвития России, Москва, Россия

<sup>3</sup> Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск, Россия

**Цель работы** состояла в оценке цитокинового профиля больных клещевым энцефалитом (КЭ) в динамике.

**Методы.** Обследовано 5 больных КЭ при поступлении в стационар, через 7 и 14 дней развития болезни. Анализ экспрессии генов 15 цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, TNF $\alpha$ , IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFN $\gamma$ , IFN $\lambda$ 1, IFN $\lambda$ 2, IFN $\lambda$ 3) проводили методами обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР).

**Результаты.** У обследованных больных была отмечена активация транскрипции IFN $\alpha$ , IL-12 и IL-18, участвующих в синтезе IFN $\gamma$ , но подавление экспрессии гена самого IFN $\gamma$ . Обнаружена активная транскрипция IL-6, IL-1 $\beta$  и подавление экспрессии генов IL-4, IFN $\lambda$ 1. При этом у больных в равной степени определялись или не определялись мРНК IFN $\beta$ , IFN $\lambda$ 2, IFN $\lambda$ 3, IL-2, IL-10, TNF $\alpha$ .

Т.е. в первые 14 дней наблюдения у больных КЭ можно предполагать дисбаланс функций Th1 и Трег-лимфоцитов, подавление функциональной активности Th2, а также активацию функций Th17, В-лимфоцитов, макрофагов и моноцитов. Активация на ранней стадии инфекции экспрессии гена IL-6, способствующего регуляции созревания антител-продуцирующих клеток из В-лимфоцитов, продукции иммуноглобулинов и дифференцировке Т-клеток в Th17, происходила при полном ингибировании экспрессии гена IL-4, играющего ключевую роль в развитии гуморального иммунитета и являющегося антагонистом иммунного ответа по Th1-пути.

Исследование экспрессии генов интерферонов (IFN) I, II и III типов у тех же больных КЭ показало, что в период развития заболевания (14 дней) при активной экспрессии генов IFN $\alpha$ , IFN $\beta$  и IFN $\gamma$  экспрессировался ген IFN $\lambda$ 3, но не IFN $\lambda$ 1 и IFN $\lambda$ 2. В то же время, при подавлении транскрипции только IFN $\gamma$ , но не IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , угнеталась транскрипция IFN $\lambda$ 1, IFN $\lambda$ 2 и IFN $\lambda$ 3. А при подавлении экспрессии генов IFN $\alpha$  и/или IFN $\beta$  при активной транскрипции IFN $\gamma$  активировалась экспрессия генов IFN $\lambda$ 1 и IFN $\lambda$ 2, но не IFN $\lambda$ 3. Полученные данные показали закономерности циклического синтеза интерферонов разных типов, приводящие к развитию антивирусного ответа.

**Заключение.** Проведенные исследования показали, что в первый период развития КЭ, у больных происходило подавление синтеза на транскрипционном уровне цитокинов, участвующих в антивирусном ответе, с последующей активацией механизмов его развития. При этом было отмечено, что при угнетении транскрипции цитокинов, обуславливающих противовирусный иммунитет (IFN $\gamma$ , IL-2), экспрессировались гены интерферонов I типа (IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ ). А при подавлении экспрессии генов интерферонов I типа (IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ ) активировалась транскрипция IFN $\gamma$ , IL-2 и интерферонов III типа (IFN $\lambda$ 1, IFN $\lambda$ 2 и IFN $\lambda$ 3).

#### ТОКСИЧЕСКИЕ И СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИН ИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ШТАММОВ *BORDETELLA PERTUSSIS*

Мерцалова Н.У., Шинкарев А.С., Бажанова И.Г., Озерецковская М.Н., Зайцев Е.М.

Учреждение Российской Академии медицинских наук  
НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН,  
Москва, Россия

**Введение.** В настоящее время, несмотря на широкоохватную иммунизацию населения, заболеваемость коклюшем остается на высоком уровне. Доминирующими среди выделяемых от больных штаммов *B. pertussis* являются штаммы с измененной генотипической характеристикой основных протективных антигенов. В этой связи актуальными являются исследования, направленные на изучение возможности использования современных циркулирующих штаммов для приготовления профилактических препаратов против коклюша.

**Целью работы** явилось изучение токсических и сенсibilизирующих свойств вакцин, приготовленных из свежeweделенных штаммов *B. pertussis*.

**Материалы и методы.** Штаммы, выделенные от больных в Москве в 2001-2009 гг.

Питательные среды: среда Борде–Жангу с кровью, казеиново-угольный агар.

Животные: мыши гибриды F1 (C57xB16).

Препараты сравнения: отраслевые стандартные образцы (ОСО-3 и ОСО-5). Приготовление коклюшных вакцин: штаммы *B. pertussis* выращивали на плотных питательных средах в течение 48 часов, смывали раствором натрия хлорида и обезвреживали формалином.

Токсические и сенсibilизирующие свойства вакцин проверяли в соответствии с «Инструкцией по отбору, проверке и хранению производственных штаммов коклюшных бактерий. М. 1986 г.» и МУК 4.1/4.2.588-96.

**Результаты.** Вакцинные препараты были приготовлены из 12 свежeweделенных штаммов *B. pertussis*. Токсическую активность вакцин оценивали в тесте изменения массы тела мышей, в тесте отека лапки мыши и определении хронической токсичности. Сенсibilизирующие свойства вакцин определяли по гистаминсенсibilизирующей активности (ГСД<sub>50</sub>). В тесте изменения массы тела мышей опытной группе внутрибрюшинно вводили иммунизующую дозу вакцины, рекомендованную для введения человеку (10 МОЕ в объеме 0,5 мл). Через 72 ч и через 7 суток определяли абсолютный и относительный прирост массы тела мышей. 9 вакцин удовлетворяли требованиям безопасности, 3 препарата оказались токсичными, т.к. относительный прирост массы тела животных был меньше 60% (9,5 – 23,8 – 47,6%).

Для определения токсичности в тесте отека лапки мыши опытной группе животных в одну лапку вводили 1 МОЕ препарата, в другую – раствор натрия хлорида в объеме 0,05 мл. Контрольной группе мышей в одну лапку вводили ОСО-3 (отраслевой стандартный образец токсичности), в другую – раствор натрия хлорида в объеме 0,05 мл. Через 5-6 часов лапки ампутировали по голленостопному суставу и взвешивали. Рассчитывали относительный показатель (ОП) отека. 9 вакцин оказались слабotoксичными, т.к. ОП не превышал 30% и 3 препарата – среднетоксичными, ОП которых составлял от 30 до 60%.

Для определения хронической токсичности было сформировано две группы мышей – опытная и контрольная. В опытной группе мышей иммунизировали внутрибрюшинно в течение 10 дней. За курс иммунизации была введена доза вакцины, эквивалентная человеческой. Во время курса прививок и в течение последующих 7 сут регистрировали массу тела мышей. Кривая изменения массы тела животных в опытной группе была сходна с таковой в контрольной группе. После окончания наблюдения по 5 особей из каждой группы были препарированы и их органы (легкие, печень, почки, селезенка) подвергнуты осмотру и взвешиванию. Макроскопические изменения органов отсутствовали. Весовой индекс препарированных органов сравнивали с контролем. 6 из 8 вакцин вызывали достоверное снижение весового индекса печени, 4 из 8 – почек, 3 из 8 – селезенки. Весовой индекс легких был равен контрольному.

При изучении гистаминсенсibilизирующей активности препаратов установлено, что две вакцины обладали слабыми сенсibilизирующими свойствами (индекс ГСД<sub>50</sub> был меньше 0,5), одна вакцина – среднесенсibilизирующими свойствами (индекс – 0,79) и 9 вакцин – высокосенсibilизирующими свойствами (индекс от 1,1 до 7,6).

**Заключение.** В итоге исследований был определен один вакцинный препарат, отвечающий всем изученным критериям безопасности, что обуславливает перспективность дальнейших исследований в этом направлении.

## НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛАТЕНТНЫХ ФОРМ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В И С

Москалев А.В., Астапенко П.В., Рудой А.С.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Войсковая часть 69296, г. Севастополь, Украина  
432 главный военный клинический госпиталь, г. Минск, Республика Беларусь

**Введение.** Важнейшей особенностью вирусных гепатитов В и С является их преимущественно скрытое течение. В настоящее время в мире насчитывается около 350 млн. «носителей» вируса гепатита В (ВГВ) и около 200 млн. «носителей» вируса гепатита С (ВГС). Именно этот контингент является основным источником инфекций. Этому способствует и чрезвычайно высокая изменчивость обоих вирусов. Так выявлены новые данные по мутациям в S-гене ВГВ, которые сопровождаются конформационными изменениями «а»-детерминанты и, как следствие, изменением серологических свойств HBsAg. Такие вирусы получили название «ускользающих» HBsAg-мутантов, что приводит к возникновению диагностических ошибок при тестировании образцов крови на наличие HBsAg. Проблему усугубляет и то, что в различных регионах мира циркулируют свои разновидности ВГВ. Аналитическая чувствительность коммерческих тест-систем, представленных на мировом рынке, варьирует от 0,018 до 0,10 нг/мл при выявлении HBsAg. Однако, некоторые коммерческие тест-системы, представленные на рынке, не выявляют HBsAg-мутанты ВГВ даже в концентрациях от 0,25 до 5 нг/мл.

Высокая гетерогенность характерна и для генома ВГС, преимущественно в участках РНК кодирующих оболочечные белки вируса. Мультивариантность ВГС приводит к образованию новых антигенных вариантов, что обеспечивает «ускользание» вируса из-под иммунологического надзора.

Перечисленные выше особенности иммунопатогенеза ВГВ и ВГС делают актуальным поиск дополнительных методов, позволяющих повысить выявление маркеров неспецифического иммунного воспаления.

**Материалы и методы.** При первичном (скрининговом) лабораторном обследовании на наличие специфических серологических маркеров ВГВ (HBsAg) и ВГС (Anti-HCV-IgG) обследовано 102 мужчин с латентным течением ВГ, средний возраст – 20,1±2,9 года. У 48 человек был выявлен HBsAg, у 54 – Anti-HCV-IgG. Контрольная группа включала 26 практически здоровых лиц мужского пола в возрасте 21,2±1,8 года. В качестве теста неспецифического иммунного воспаления изучались уровни неоптерина, которые определяли с помощью наборов ИФА фирмы «IBL» (Германия). Профили цитокинов: TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6 и IL-8 изучали с помощью тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) в ИФА.

**Результаты и обсуждение.** При скрининговом лабораторном обследовании в большинстве случаев были определены низкие концентрации HBsAg (от 0,05 до 0,15 нг/мл). У пациентов с латентной формой течения ВГС, выявленной при скрининговом обследовании были невысокие уровни IgG к структурным и неструктурным белкам вируса (значение оптической плотности от 0,2 до 1,1). Среднее значение индекса IFN $\gamma$ /IL-4 у пациентов этих групп было 0,5±0,1 и 1,7±0,3, а в контрольной группе – 5,5±0,4. Средние концентрации цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  и особенно IL-4 в сыворотке крови пациентов с латентными формами ВГВ и ВГС

имели тенденцию к увеличению, но достоверно не отличались по сравнению с аналогичными показателями лиц контрольной группы. Средние концентрации неоптерина у пациентов с латентными формами ВГВ и ВГС с высокой достоверностью превышали его средний уровень у лиц контрольной группы ( $p < 0,01$ ).

Как видим, существует высокий риск получения ложноотрицательных результатов при чувствительности тест-систем ниже 0,2 нг/мл

Проведенное исследование показало, что дефицит IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-6, IL-8, при избытке IL-4 играет ключевую роль в регуляции интенсивности воспаления и эффективности иммунной защиты и свидетельствует о недостаточности противовирусной активности клеточного звена иммунитета.

**Выводы.** 1. Учитывая, что уровни неоптерина отражают совместное действие различных цитокинов на моноциты/макрофаги и что показатели лиц с условно-положительными результатами с высокой достоверностью превышали уровни контрольной группы, неоптерин может быть рекомендован как интегральный показатель в диагностике латентных форм ВГВ и ВГС. 2. Для повышения детекции HBsAg-мутантов необходимо ежегодно тестировать используемые тест-системы с образцами по отношению, к которым получены ложноотрицательные или условно-положительные результаты.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ДЕТЕЙ С ДИСФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ БИЛИАРНОГО ТРАКТА И ПРИ ИХ АССОЦИИИ С ЛЯМБЛИОЗОМ

Муравьева Н.Г., Савченко А.А., Манчук В.Т.

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

Изучение патогенеза заболеваний билиарного тракта у детей сохраняет свою актуальность, что обусловлено высокой распространенностью и неуклонным ростом. В формировании дисфункциональных расстройств билиарного тракта (ДРБТ) имеет значение нарушение механизмов нейрогуморальной регуляции. Часто ДРБТ сопутствует паразитарная инфекция – лямблиоз. Лямблии, попадая в организм, значительно изменяют состояние иммунной системы.

**Целью исследования** явилось изучение особенностей состояния клеточного и гуморального иммунитета у детей с ДРБТ и при их ассоциации с лямблиозом.

**Материалы и методы.** В детском гастроэнтерологическом отделении НИИ МПС СО РАМН проведено комплексное клиничко-инструментальное обследование 75 детей с ДРБТ. Диагноз был выставлен в соответствии с диагностическими критериями, указанными в Римском консенсусе II. Сопутствующий диагноз – лямблиоз, поставлен на основании результатов дуоденального зондирования, копрологического исследования. В обследование были включены дети в возрасте от 7 до 15 лет. Лимфоциты выделяли из гепаринизированной венозной крови на градиенте плотности фиколл-верографина. Методом непрямой иммунофлуоресценции, используя соответствующие FITC-меченые моноклональные антитела фирмы ТОО «Сорбент» (Москва), определяли содержание CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup> клеток. Дополнительно производили подсчет дифференцировочного индекса (CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) и индекса активации Т-лимфоцитов (HLA-DR<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup>). Концентрацию им-



муноглобулинов класса А, М, G в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови изучали методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле. Состояние гуморального иммунитета характеризовали также уровнем относительного синтеза IgA (IgA/CD19<sup>+</sup>), IgM (IgM/CD19<sup>+</sup>), IgG (IgG/CD19<sup>+</sup>).

**Основные результаты.** При исследовании состояния иммунного статуса у детей в возрасте 7-11 лет установлено, что только при ДРБТ отмечается повышение процентного содержания лимфоцитов и увеличение величины дифференцировочного индекса относительно контрольного диапазона. Только у больных ДРБТ на фоне лямблиоза относительно контрольных значений снижена величина индекса активации Т-лимфоцитов. В обеих группах больных повышено относительное количество CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup> клеток, а также процентный и абсолютный уровень CD19<sup>+</sup> клеток. При сопоставлении показателей состояния клеточного иммунитета между группами больных (у детей с ДРБТ в ассоциации с лямблиозом относительно аналогичных параметров обследованных с ДРБТ без лямблиоза) обнаружено снижение числа лейкоцитов в периферической крови, относительного количества лимфоцитов и абсолютного уровня общих лимфоцитов, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup> клеток.

При исследовании показателей гуморального звена иммунной системы в обеих группах больных относительно контрольных параметров установлено повышение концентрации IgA, снижение уровня IgM и IgG, понижение уровня относительного синтеза IgM. У обследованных с ДРБТ также снижен уровень относительного синтеза IgG. Во второй группе больных снижено содержание ЦИК. При сопоставлении показателей гуморального звена иммунитета между группами больных статистически достоверных различий не обнаружено.

**Заключение.** Таким образом, для детей с заболеваниями желчевыводящих путей функционального характера и при их ассоциации с лямблиозом характерно развитие дисбаланса иммунной системы, которое характеризуется разнонаправленным изменением величин показателей клеточного и гуморального звеньев иммунной системы. Причем характер и степень изменений зависит от наличия или отсутствия ассоциации основного заболевания с лямблиозом и возраста больных детей. Наиболее характерными иммунными проявлениями ДРБТ является увеличение количества В-лимфоцитов в крови и снижение концентрации IgM и IgG. У детей при ассоциации ДРБТ с лямблиозом состояние иммунного статуса характеризуется менее выраженными изменениями, чем у больных только с ДРБТ. Особенностью иммунного статуса у детей 7-11 лет с ДРБТ в ассоциации с лямблиозом является снижение содержания активированных Т-лимфоцитов в крови, тогда как у детей 12-15 лет повышается содержание НК-клеток.

#### СТЕПЕНЬ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Т-ЛИМФОЦИТОВ CD4 У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Никитина И.Ю., Шмитова Н.С., Кондратюк Н.А., Васильева И.А., Лядова И.В.

Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза РАМН, Москва, Россия

**Введение.** Развитие микобактериальной инфекции сопровождается активацией Т-клеточного иммунного отве-

та, в частности, Т-лимфоцитов CD4. При взаимодействии с антигенами микобактерий наивные Т-лимфоциты CD4 дифференцируются в эффекторные клетки. Считается, что процесс дифференцировки зависит от силы антигенной стимуляции: чем выше антигенная нагрузка, тем глубже дифференцирована каждая клетка. В связи с этим было предположено, что, определяя степень дифференцировки эффекторных Т-лимфоцитов CD4 можно оценить активность туберкулезной инфекции.

**Целью** настоящей работы явилось исследование степени дифференцировки эффекторных лимфоцитов CD4 у больных туберкулезом легких.

**Материалы и методы исследования.** Исследовано 60 пациентов ЦНИИТ РАМН с диагнозом туберкулеза легких. Средний возраст больных составил 33 года. Определение степени дифференцировки Т-лимфоцитов у больных туберкулезом проводили методом проточной цитометрии. Образцы цельной крови обрабатывали антителами, специфичными к антигенам CD4, CD45RO, CD62L, CD27, и др., эритроциты лизировали раствором FACS Lysing solution (BD Bioscience), клетки отмывали, фиксировали и анализировали на двухлазерном проточном цитофлуориметре FACSCalibur. Анализ результатов проводили с использованием программного обеспечения Flow Jo (Tree Star).

**Результаты и обсуждение.** Степень дифференцировки эффекторных лимфоцитов CD4 определяли по уровню экспрессии на них дифференцировочных маркеров CD45RO, CD27, CD57 и др. В зависимости от уровня экспрессии маркера CD27, выделяли «ранние» (CD45RO<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>CD27<sup>+</sup>) и «поздние» (CD45RO<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>CD27<sup>-</sup>) эффекторные лимфоциты. Среди «поздних» эффекторных клеток CD27<sup>-</sup> различали три субпопуляции: «зрелые», «стареющие» и терминально-дифференцированные эффекторы, отличающиеся по экспрессии маркеров CD28 и CD57.

Исследование процента «ранних» эффекторов, «поздних» эффекторов и их субпопуляций среди всех лимфоцитов CD4 крови показало, что содержание «поздних» эффекторных лимфоцитов у больных туберкулезом легких было повышено ( $p < 0,05$  по сравнению со здоровыми донорами). При этом у больных была отмечена высокая вариабельность процентного содержания «поздних» эффекторных лимфоцитов и их субпопуляций («зрелых», «стареющих» и терминально-дифференцированных эффекторов). Так, процент «поздних» лимфоцитов CD27<sup>-</sup> в группе больных колебался от 5 до 64%, у здоровых доноров – не превышал 12%.

Сопоставление результатов определения степени дифференцировки лимфоцитов CD4 с особенностями клинического течения туберкулеза показало, что увеличение содержания в крови больных эффекторных лимфоцитов CD27<sup>-</sup> наблюдается при активном процессе, сопровождающимся выраженными деструктивными изменениями в легочной ткани и признаками тяжелой интоксикации.

Анализ отвечаемости больных на противотуберкулезную терапию показал, что в группе больных с исходно нормальным содержанием «поздних» эффекторных клеток быстрая положительная рентгенологическая динамика (в течение 2 месяцев) наблюдалась чаще, чем в группе больных с исходно высоким содержанием эффекторов CD27<sup>-</sup> (80% и 50%, соответственно). В группе больных с исходно высоким содержанием эффекторов CD27<sup>-</sup> быстрая положительная рентгенологическая динамика со-

проводилась снижением процентного содержания лимфоцитов CD27 вплоть до его нормализации.

**Заключение.** Степень дифференцировки эффекторных лимфоцитов CD4 является ценным показателем, позволяющим оценивать течение туберкулезной инфекции и проводить мониторинг эффективности противотуберкулезной терапии.

Работа поддержана грантами РФФИ № 10-04-01128 и НИИ # А1078899.

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ CD14, IL-4, TNF $\alpha$ И FCGR2A У БОЛЬНЫХ ГРИППОМ А Н1N1 В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ

Петров А.А., Витковский Ю.А., Чарторижская Н.Н., Страмбовская Н.Н.

ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита, Россия

Несмотря на проводимые в Забайкалье противоэпидемические мероприятия, мощную противовирусную и антибактериальную терапию, вспышка гриппа А Н1N1 в 2009 году протекала с высоким уровнем заболеваемости, смертности и большим процентом развития легочных осложнений. Звенья патогенеза данных состояний остаются неуточненными. В реализации иммунного ответа, при ряде инфекционных заболеваний, существенную роль играет генетический полиморфизм медиаторов воспаления. CD14, IL-4, TNF $\alpha$  и FCGR2A являются облигатными участниками воспалительного процесса, однако изучение вклада полиморфизма генов этих белков в патогенез гриппа А Н1N1 не проводилось.

**Целью** нашей работы явилось исследование частоты генетических полиморфизмов CD14 C-159T, IL-4 C-589T, TNF $\alpha$  G-308A, FCGR2A His166Arg у больных гриппом А Н1N1 и оценка их влияния на клиническое течение заболевания. Под наблюдением находились 70 пациентов с лабораторно подтвержденным гриппом А Н1N1 (27 мужчин и 43 женщины) в возрасте от 2 до 61 года. Средний возраст составил  $33 \pm 13$  лет. Грипп средней степени тяжести с выявлен у 19 пациентов. Тяжелое течение болезни наблюдалось у 46 пациентов. В 25 случаях заболевание привело к летальному исходу. Группу сравнения составили 95 резидентов (средний возраст  $30 \pm 13$  лет), не болевших гриппом и ОРВИ во время эпидемии. Выявление генетического полиморфизма проводили методом полимеразной цепной реакции наборами реактивов ООО «Литех» (Москва). Статистическая обработка проводилась с использованием критерия  $\chi^2$ . Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

Установлено, что распределение аллельных вариантов полиморфизма CD14 C-159T у больных гриппом А Н1N1 и в группе здоровых подчинялось закону Харди–Вайнберга. Выявлено, что 78% пациентов с генотипом CC имели тяжелое течение гриппа, тогда как только у 34% заболевших с генотипом TT болезнь носила тяжелый характер, при этом частота встречаемости аллели CC в группе пациентов с летальным исходом была значительно выше, чем в группе сравнения и составила 92% и 50% соответственно. Распространенность генетических вариантов полиморфизма IL-4 C-589T у пациентов с гриппом и в группе контроля оказалась одинаковой и существенно не отличалась от соотношения Харди–Вайнберга. Достоверной взаимосвязи аллелей этой мутации с тяжестью заболевания не отмечено. Мы не обнаружили связи генотипов полиморфизма TNF $\alpha$  G-308A с тяжестью гриппа.

Однако у больных аллель GG была распространена чаще, чем у не болевших. Частоты генотипов GG и GA составили 90% и 10% у лиц с гриппом, в то время как в группе контроля эти показатели составили 65% и 35%, соответственно. Мутантной гомозиготной аллели AA полиморфизма TNF $\alpha$  G-308A у пациентов с гриппом и у лиц контрольной группы не обнаружено. Изучение полиморфизма FCGR2A His166Arg показало, что в группе контроля частоты аллелей существенно не отличались от распространенности признака в группе больных и подчинялись закону Харди–Вайнберга. Вместе с тем, у 7 пациентов с осложненным течением гриппа выявлен гаплотип [CD14 (159CC); FCGR2A (166Arg/Arg)]. В 3 случаях заболевание протекало в тяжелой молниеносной форме и закончилось летальным исходом.

Таким образом, при гриппе А Н1N1 частота аллельных вариантов полиморфизмов IL-4 C-589T и FCGR2A His166Arg одинакова у больных и в группе контроля. CC генотип полиморфизма CD14 C-159T связан с тяжелым течением болезни и летальными исходами. GG генотип полиморфизма TNF $\alpha$  G-308A у пациентов с гриппом встречается чаще, чем в контроле. Гаплотип [CD14 (159CC); FCGR2A (166Arg/Arg)] встречается только у пациентов с осложненным течением заболевания и в трех случаях, привел к молниеносному течению заболевания и смерти пациентов.

## СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА ПРИ ПЕРВИЧНОМ И РЕЦИДИВИРУЮЩЕМ РОЖИСТОМ ВОСПАЛЕНИИ

Петров А.В.<sup>1</sup>, Чернышев О.Б.<sup>2</sup>, Трофимов А.В.<sup>1</sup>, Ищенко А.М.<sup>1</sup>, Бубнова Н.А.<sup>2</sup>, Серебряная Н.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> СПб ГУЗ «Городская больница Св. Великомученика Георгия, Санкт-Петербург, Россия

Рожистое воспаление (РВ) характеризуется острым началом заболевания с выраженными проявлениями общих симптомов интоксикации, обычно опережающих возникновение типичных локальных повреждений. У части больных РВ протекает тяжело, вплоть до развития септических форм и синдрома системного воспалительного ответа (ССВО). В инициации ССВО в настоящее время определяющую роль отводят сверхвысокой активации системы комплемента. Состояние системы комплемента при РВ подробно не изучено, а некоторые ранние исследования выявили, что общая гемолитическая активность комплемента при данной патологии снижена. Современные методы молекулярной диагностики позволяют изучать различные компоненты комплемента, обладающие как активаторными, так и ингибиторными свойствами, содержание которых может быть показателем для определения функционального состояния иммунной системы и воспалительного процесса в целом.

**Цель** данной работы: изучить содержание различных компонентов комплемента у лиц с различными формами первичного и рецидивирующего РВ. С октября по декабрь 2010 проведен сбор образцов плазмы от 38 пациентов с различными клиническими формами РВ, из них 26 имели первичное, а 12 – рецидивирующее течение заболевания. Эритематозная форма РВ выявлена у 10 больных с первичным и 4 с рецидивирующим течением, эритематозно-геморрагическая – у 8 и 7 больных соответственно с первичным и рецидивирующим течением;

а буллезно-геморрагическая – у 7 и 2 больных, соответственно. Кровь для исследования брали в день госпитализации (день 1) и накануне выписки (дни 7-10). Определение концентрации компонентов комплемента: С1-ингибитора (С1-INH) (мкг/мл), С4 (мг/мл), С3 (мг/мл), С5 (мкг/мл), анафилоксинов С3а (нг/мл) и С5а (нг/мл), а также гидролизованной формы компонента С3, инициирующей запуск каскада по альтернативному пути – С3[Н<sub>2</sub>О] (мг/мл и % от С3) – проводилось методом твердофазного ИФА (тест системы ООО «Цитокин»).

Выявили, что в целом в группе больных РВ существенно повышена концентрация анафилоксинов С3а и С5а, С1-INH, а также С3[Н<sub>2</sub>О] по сравнению со значениями, характерными как для здоровых лиц, так и для лиц с другими воспалительными заболеваниями. При этом выявлены корреляции между сывороточными концентрациями С4 и С3 ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,01$ ) и анафилоксинов С3а и С5а ( $r = 0,55$ ;  $p < 0,01$ ). Существенные отличия выявлены при различных формах РВ: так у первичных больных с эритематозной формой заболевания концентрация анафилоксина С3а была достоверно выше, чем при более тяжелой буллезно-геморрагической форме ( $p = 0,02$ ), что подтверждает наличие у данного фрагмента регуляторных противовоспалительных характеристик, отличающих его от явно провоспалительного фрагмента С5а. В группе больных с рецидивирующим течением РВ у лиц с эритематозной формой заболевания % С3[Н<sub>2</sub>О] был достоверно ниже, чем в объединенной группе больных с эритематозно-геморрагической и буллезно-геморрагической формами болезни ( $p = 0,04$ ), что свидетельствует о меньшей спонтанной активации комплемента по альтернативному пути у лиц с более легкими формами заболевания. После проведенного лечения отметили достоверное снижение % С3[Н<sub>2</sub>О] в группах первичных больных с буллезно-геморрагической ( $p = 0,02$ ) формой и в группе больных с рецидивирующим течением, имеющих эритематозно-геморрагическую и буллезно-геморрагическую формы РВ ( $p = 0,02$ ) что подтверждает имеющиеся представления о снижении процесса активации комплемента по мере стихания воспалительного процесса.

Проведенное исследование показало, что система комплемента существенно активирована при РВ, о чем свидетельствуют не только повышение концентрации фрагментов С3а (~в 3-5 раз), С5а (~в 1,5 раза), С1-INH (~в 1,5 раза) и % С3[Н<sub>2</sub>О] (~в 100 раз) по сравнению с показателями здоровых лиц, но и то, что среди обследованных лиц у 2 больных развились такие осложнения, как сепсис и ССВО, в патогенезе которых задействована гиперактивация комплемента. Полученные нами данные позволяют считать, что фармакологическая коррекция системы комплемента может улучшить результаты лечения больных тяжелыми формами РВ. Для разработки четких показаний к такой терапии и критериев ее безопасности необходимо дальнейшее исследование процессов воспаления, иммунных реакций и детальное определение изменений в системе комплемента, развивающихся при различных формах РВ на всех этапах заболевания.

## ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗНЫМ СПОНДИЛИТОМ ПРИ СПЕЦИФИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ В ОРГАНАХ ДЫХАНИЯ

Потапенко Е.И., Васильева Г.Ю., Якунова О.А., Тулякова Т.В., Короленок О.Л.

ФГУ «СПбНИИ Фтизиопульмонологии»  
Минздравооразвития России, Санкт-Петербург,  
Россия

Определяли особенности состояния специфического гуморального иммунитета у больных туберкулезным спондилитом при специфическом процессе в органах дыхания.

**Материалы и методы.** Клинико-иммунологическое обследование было выполнено у 186 больных, среди них 66,3% мужчин и 33,7% женщин среднего возраста  $42,8 \pm 0,8$  года с длительностью заболевания от 6 месяцев до 3 лет. Все больные были разделены на 3 группы: 1 группа – больные с туберкулезным спондилитом и активным туберкулезом органов дыхания (96 больных), 2 группа – больные с туберкулезным спондилитом и неактивным туберкулезом органов дыхания (59 человек), 3 группа – больные с гематогенным остеомиелитом (31 больной).

Иммунный статус больных оценивали по уровню специфического гуморального ответа по содержанию противотуберкулезных антител (ПТАТ) в сыворотке крови с помощью комплекса серологических реакций: иммуноферментного анализа ИФА туб. IgG НИИЭМ им. Пастера (ИФА туб. IgG), ИФА туб. IgG, А, М производство ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск (ИФА туб. IgG, А, М), а также реакции пассивного гемолиза (РПГ), реакции потребления комплемента (РПК). С целью улучшения возможности диагностики туберкулезного спондилита были впервые проведены испытания иммуноферментного набора anda-tb ELISA (производство «Anda Biological» France) (tb-IgG, tb-IgA, tb-IgM) для количественного определения антимикобактериальных антител IgG, IgA, IgM классов в периферической крови больных вышеуказанных групп.

**Результаты.** Установили, что для большинства больных с туберкулезным процессом в позвоночнике характерна значительная частота обнаружения ПТАТ, степень выраженности которой зависела от сочетания с поражением органов дыхания и активности специфического процесса в легких. Так, чаще всего ПТАТ в диагностических титрах выявлялись у больных 1 группы: РПК в 79,0% случаев, РПГ в 70,0% случаев, ИФА туб. IgG в 75,5% случаев, в сумме по 4 серологическим реакциям (РПК+РПГ+ИФА туб. IgG+ИФА туб. IgG, А, М) в 91,0% случаев. У больных 2 группы чувствительность по сумме 4 серологических реакций составляла 77,0% случаев.

У больных туберкулезным спондилитом отмечено высокое присутствие tb-IgG – от 80,0% до 90,0% случаев, что указывает на достаточное иммунное реагирование по гуморальному типу в ответ на усиленную длительную по времени антигенную стимуляцию. У больных 1 и 2 групп отмечалось наличие антител первой волны класса tb-IgM от 40,0% до 57,0% случаев, что может быть интерпретировано как выявление признаков наличия начала инфицирования и течения туберкулезного процесса. У 25% больных 1 группы были выявлены признаки присутствия воспалительного процесса по присутствию антител класса tb-IgA, что очень важно для диагностики, так как выработка IgA антител в норме происходит по-

сле первой волны IgM и на выработку антител IgA не так сильно влияет анергия, которая может снизить выработку антител IgG и гиперчувствительную реактивность организма. У больных туберкулезным спондилитом в сумме по 3 классам антител (tb-IgG+tb-IgA+tb-IgM) в 90,0%-92,0% случаев были выявлены ПТАТ в диагностических титрах, в группе больных с гематогенным остеомиелитом от 5,2% до 15,7% случаев.

**Выводы.** Полученные результаты позволяют заключить, что для больных туберкулезным спондилитом характерна заметная напряженность специфического гуморального иммунитета, затрагивающая все классы антител и зависящая от сочетания с поражением органов дыхания и активности специфического процесса в легких.

Тесты anda-tb ELISA показали высокую диагностическую значимость у больных туберкулезным спондилитом и могут быть рекомендованы как надежные и эффективные методы диагностики туберкулеза.

### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАД(Ф)-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ И АДЕНОИДНОЙ ТКАНИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ АДЕНОИДИТОМ**

Рожкова О.А., Коленчукова О.А., Савченко А.А., Лузан Н.А.

*НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск, Россия*

Одним из перспективных направлений, позволяющих охарактеризовать патогенез нарушения реактивности иммунитета при инфекционном процессе, является изучение метаболизма клеток иммунной системы. На сегодняшний день, установлено, что функциональные проявления лимфоцитов, например, такие как дифференцировка, пролиферация, синтез рецепторов и цитокинов, осуществляются только при соответствующем изменении их метаболизма.

Таким образом, целью работы является характеристика метаболизма лимфоцитов, выделенных из венозной крови и лимфоидной ткани у больных хроническим аденоидитом.

Обследовано 55 детей в возрасте от 3 до 5 лет поступивших в ЛОР-отделение с обострением хронического аденоидита (ХА). В качестве контроля использовались лабораторные данные 53 условно здоровых детей этого же возраста, у которых не были диагностированы ЛОР-заболевания.

Из аденоидной ткани, после проведения аденотомии выделяли лимфоциты. Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови и лимфоидной ткани проводили биоломинесцентным методом. Для всех полученных данных определяли медиану (Me) и 25 и 75 перцентилей (С25 и С75). Проверку гипотезы о статистической достоверности исследуемых параметров проводили с помощью критерия Манна-Уитни и критерия парных выборок Вилкоксона. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft, Inc.).

При сравнительном анализе метаболической активности лимфоцитов выделенных из крови и аденоидной ткани у больных ХА было обнаружено снижение Г6ФДГ, ГЗФДГ и ЛДГ и повышение активности НАДИЦДГ в лимфоцитах выделенных из ткани глоточных миндалин.

Особенностью метаболизма лимфоцитов выделенных из ткани глоточных миндалин по сравнению с лимфоцитами венозной крови является снижение активности ГЗФДГ. Этот фермент, характеризует уровень переноса продуктов липидного катаболизма на реакции анаэробного окисления глюкозы. Следовательно, в лимфоцитах ткани снижена субстратная стимуляция гликолиза. Также в лимфоцитах выделенных из аденоидной ткани имеет место снижение активности аэробной реакции ЛДГ, которая определяет недостаточную способность лимфоцитов метаболизировать эндогенный лактат и, в целом, в связи с ингибированием гликолиза – к пониженному уровню наработки пирувата, при снижении уровня Г6ФДГ – ключевого фермента пентозофосфатного цикла, нарабатывающего интермедиаты для реакций макромолекулярного синтеза. При этом, повышена активность цикла Кребса о чем свидетельствует повышение НАДИЦДГ – лимитирующего фермента цикла.

Таким образом, в лимфоцитах крови у больных ХА выявляется выраженное изменение метаболических реакций определяющих недостаточность энергетических и пластических процессов. При этом в лимфоцитах аденоидной ткани наблюдается снижение анаэробного окисления глюкозы при повышении пластических процессов.

Исследование выполнено при поддержке федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы, № НК-481П.

### **ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ В 2008-2010 ГГ.**

Розенберг В.Я.<sup>1</sup>, Логинова Н.Ю.<sup>2</sup>, Латышева И.Б.<sup>2</sup>, Куклина Н.В.<sup>1</sup>, Шпинаева М.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД, г. Чита, Россия

<sup>2</sup> Краевая инфекционная больница, г. Чита, Россия

Проблема сочетанной патологии «хронический вирусный гепатит + ВИЧ» является одной из самых серьезных при ведении больных ВИЧ-инфекцией. По данным Федерального научно-методического центра СПИД, в популяции российских больных ВИЧ-инфекцией частота HCV-серопозитивности составляет 60-70%.

Благодаря приоритетному национальному проекту «Здоровье», с 2007 года стало возможным широкое применение современных схем лечения хронических вирусных гепатитов, в том числе у больных ВИЧ-инфекцией.

**Целью исследования** стал анализ эффективности применения современных схем терапии хронических вирусных гепатитов (далее – ПВТ) у пациентов с ВИЧ-инфекцией в Забайкальском крае, закончивших курс лечения в 2008-2010 гг.

Всего получало ПВТ 53 пациента, из них закончили терапию и взяты для анализа 28 случаев (10 женщин и 18 мужчин). Средний возраст больных составил 29 лет, 2 пациента проходили лечение в районах края, остальные – в краевом центре. Подготовка больных включала в себя стандартные лабораторно-инструментальные исследования для уточнения диагноза гепатита, непрямую эластометрию с применением прибора Fibroscan, осмотр специалистов (эндокринолог, психиатр, нарколог, терапевт). Стадия ВИЧ-инфекции, показания к АРВ-терапии

устанавливалась специалистами центра СПИД по стандартным критериям с определением CD4<sup>+</sup>, RNA HIV, на основе рекомендаций ФНМЦ ПБ СПИД. Приверженность наблюдению контролировалась с участием психотерапевта.

Контроль эффективности ПВТ по вирусологическому критерию осуществлялся по стандарту на 4, 12, 24, 48 неделе, побочные эффекты ПВТ и АРВТ отслеживались еженедельно при явке пациента для инъекции PEG-IFN $\alpha$ . Все больные, кроме одной, в схеме ПВТ получали комбинацию PEG-IFN $\alpha$ 2a (Pegasys) и рибавирин (рибавин, ребетол, веро-рибавирин) в дозировке 800-1200 мг/сут, с началом лечения и отслеживанием ранних побочных эффектов на госпитальной базе ГУЗ «Краевая инфекционная больница» с дальнейшим переводом на амбулаторное наблюдение инфекциониста КИЗ поликлиники (МУЗ).

Побочные эффекты разной степени выраженности отмечались у 20 из 28 больных (71%). Анемия регистрировалась у 5 больных (18%). Лейкопения, нейтропения наблюдалась у 16 пациентов – 57% (в том числе в комбинации с анемией – у 4, с тромбоцитопенией – у 9 пациентов), из них 10 получали ВААРТ. Коррекция схемы ВААРТ проводилась у 5 больных, дозы пегинтерферона – у 3 больных.

Всего из 28 больных терапию прервали 12 человек (43%), в том числе 5 (18%) – из-за неприверженности, 3 (11%) – из-за неэффективности ПВТ, 3 (11%) – в связи с развитием тяжелых побочных эффектов, 1 – умерла от осложнения пандемического гриппа H1N1 («свиного» штамма).

Неэффективность ПВТ была отмечена у больных ХВГС с генотипами 1 (1 человек), 3 (2 человека, в т.ч. 1 с циррозом).

У всех больных, получивших полный курс лечения (от 24 до 48 недель) без прерываний (16 человек – 57%), достигнут УВО на 48 неделе с начала лечения. У 13 человек получены анализы с неопределяемым уровнем RNA HCV через 24 недели после окончания лечения (3 – ожидают 24 недели). Таким образом, современный стандарт терапии хронического гепатита С на фоне ВИЧ-инфекции с использованием PEG-IFN $\alpha$ 2a (Pegasys) и рибавирина позволяет добиться прекрасного лечебного эффекта при условии хорошей приверженности наблюдению и лечению.

#### **ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И УРОВНИ СИНТЕЗА $\gamma$ -ИНТЕРФЕРОНА И ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ- $\alpha$ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В**

**Родина Д.В., Савченко А.А., Цуканов В.В., Борисов А.Г.**

*НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск, Россия*

**Целью исследования** явилось изучение иммунного статуса и способности мононуклеаров крови к синтезу цитокинов у больных острым вирусным гепатитом В (ОВГВ) в зависимости от степени вирусной нагрузки.

**Материалы и методы.** Обследовано 76 пациентов инфекционных больниц г. Красноярск с диагнозом «острый вирусный гепатит В, среднетяжелое течение» (31 женщина и 45 мужчин). Диагноз ОВГВ устанавливался

при помощи стандартных клинико-биохимических методов и верифицировался обнаружением с помощью иммуноферментных методов специфических маркеров ОВГВ. В качестве контроля обследовано 106 здоровых людей (49 женщин и 57 мужчин). Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинской Декларации (2001 г.). Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD56, CD20, CD25, HLA-DR, CD95. Концентрацию иммуноглобулинов А, М и G в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови изучали методом селективной преципитации. Спонтанная и индуцированная продукция интерферона- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) и фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) оценивалась иммуноферментным методом с использованием тест-систем производства Вектор-Бест (г. Новосибирск) после *in vitro* инкубации цельной крови с индуктором синтеза цитокинов фитогемагглютинином (ФГА) и рекомбинантным HBsAg (вакцина HBVax II производства Merk Sharp Doun, США) в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 24 часов.

**Основные результаты.** У больных ОВГВ с высокой степенью вирусной нагрузки выявляется относительное повышение содержания лимфоцитов относительно показателей больных со средней степенью вирусной нагрузки. Только у больных со средней и высокой степенью вирусной нагрузки в периферической крови снижается относительное содержание CD56<sup>+</sup> лимфоцитов как относительно контрольного диапазона, так и уровня, выявленного при низкой степени вирусной нагрузки. Характерной особенностью у больных со средней степенью вирусной нагрузки является повышение процентного содержания HLA-DR<sup>+</sup> клеток и снижение относительного количества CD95<sup>+</sup> лимфоцитов. Только у больных с высокой степенью вирусной нагрузки повышается процентное содержание CD95<sup>+</sup> лимфоцитов, причем относительно уровней, выявляемых у всех обследованных групп. У больных с низкой и средней степенью вирусной нагрузки повышается уровень относительного синтеза IgA. При низкой и средней степени вирусной нагрузки также выявляется повышение уровня спонтанного синтеза IFN $\gamma$  относительно контрольного диапазона. При низкой и средней степени вирусной нагрузки уровень ФГА-индуцированного синтеза IFN $\gamma$  повышается в 2,7 и 2,6 раза, соответственно. У больных с высокой степенью вирусной нагрузки воздействие ФГА на мононуклеарные клетки не приводит к изменению уровня синтеза данного цитокина. У больных ОВГВ с низкой и средней степенью вирусной нагрузки уровень синтеза цитокина при воздействии HBsAg повышается в 1,4 и 1,3 раза, соответственно. При высокой степени вирусной нагрузки выявляется снижение уровня синтеза IFN $\gamma$  на 14,6% при воздействии HBsAg. Наиболее высокий уровень спонтанной продукции TNF $\alpha$  отмечается у больных ОВГВ с низкой степенью вирусной нагрузкой. С повышением степени вирусной нагрузки уровень спонтанного синтеза данного цитокина статистически достоверно снижается.

**Заключение.** Таким образом, при исследовании состояния иммунного статуса в зависимости от степени вирусной нагрузки установлено, что наименее выраженные изменения величин показателей иммунной системы выявляются при низкой степени вирусной нагрузки. При

средней степени вирусной нагрузки выявляется снижение реактивности противовирусного иммунитета за счет понижения содержания НК-клеток, но при повышении функциональной активности В-лимфоцитов. При высокой степени вирусной нагрузки в периферической крови больных ОВГВ выявляется максимальное содержание В-лимфоцитов. У больных ОВГВ выявляется исходная повышенная активность мононуклеарных клеток к синтезу цитокинов, но при снижении активности мононуклеаров при дополнительной функциональной индукции. При этом выявляется снижение уровня спонтанного синтеза TNF $\alpha$  с увеличением степени вирусной нагрузки.

### ЛОКАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ IL-6 У ПОДРОСТКОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Сафронов А.Е., Маркелова Е.В.

*Приморская детская краевая клиническая туберкулезная больница, г. Владивосток, Россия  
ГОУ ВПО «Владивостокский государственный медицинский университет Росздрава», г. Владивосток, Россия*

В последние годы отмечается ухудшение эпидемиологических показателей заболеваемости туберкулезом в Приморском крае среди детей и подростков. Помимо роста заболеваемости, отмечается прогрессирование форм болезни с обширным поражением легочной ткани, распадом и бактериовыделением. Как известно, одна из биологических стратегий МБТ, позволяющих избегать гибели, состоит в способности бактерий индуцировать секрецию макрофагами IL-6, который подавляет в Т-клетках синтез цитокинов, активирующих макрофаги и экспрессию в них индуцибельной NO-синтазы. Активированные макрофаги кроме защитного эффекта могут оказывать выраженное разрушительное действие на ткани организма.

**Цель исследования:** определить уровень IL-6 в БАЛЖ у подростков с туберкулезом органов дыхания в зависимости от формы и распространенности процесса в динамике на фоне терапии.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 29 впервые выявленных больных (12 мальчиков, 17 девочек) с вторичными формами туберкулеза в возрасте от 12 до 17 лет. Диагноз туберкулеза легких установили на основании клинической картины заболевания, рентгенологического исследования легких, данных микроскопического и бактериологического исследований мокроты. Были сформированы две группы обследованных лиц: первую группу составили 20 пациентов, выделяющих *M. tuberculosis*, во вторую группу вошли 9 больных с ограниченными процессами (занимающими не более двух сегментов) и не выделяющих *M. tuberculosis*.

**Материалом исследования** служила БАЛЖ. Уровень цитокинов определяли методом твердофазного ИФА с применением наборов «R&D diagnostics Inc» (США). Статистическая обработка материала осуществлена с использованием непараметрических методов и выражали: медианой (Me), доверительным интервалом (нижний и верхний квартиль). Статистическая достоверность различий между группами определено по методу Манна-Уитни и Вилкоксона.

**Результаты и их обсуждение.** В результате исследования установлено, что при поступлении в стационар локальное содержание IL-6 у пациентов 1 группы составило

1,25 пг/мл (0,06-6,23 пг/мл), у пациентов 2 группы – 1,99 пг/мл (0,25-4,29 пг/мл). Не выявлено статистической разницы между ними. После двух месяцев стандартной терапии зафиксировано статистически значимое ( $p_w < 0,01$ ) снижение IL-6 в обеих группах (0,36 пг/мл (0,14-1,82)) и 0,48 пг/мл (0,25-0,74)). Учитывая данные литературы (исследования других авторов) при распространенных процессах отмечаются высокие показатели IL-6 по сравнению с ограниченными процессами. Это обусловлено тем, что IL-6 играет роль в формировании гранул, инфильтратов и каверн в местах поражения туберкулезом, а так же позволяет прогнозировать возможное развитие фиброзных изменений. В наших исследованиях зафиксировано повышение показателя IL-6 до лечения у больных обеих групп. Через два месяца противотуберкулезной терапии установлено достоверное снижение локального уровня IL-6 в БАЛЖ пациентов обеих групп.

### ИММУНИЗАЦИЯ РЕКОМБИНАНТНЫМ АДЕНОВИРУСОМ, НЕСУЩИМ ГЕН ЭКТОДОМЕНА M2 БЕЛКА, ОБЕСПЕЧИВАЕТ ПЕРЕКРЕСТНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРОТИВ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ

Седова Е.С., Шмаров М.М., Щербинин Д.Н., Лысенко А.А., Тутыхина И.Л., Логунов Д.Ю., Смирнов Ю.А., Народицкий Б.С., Гинцбург А.Л.

*ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»  
Минздравсоцразвития России, Москва, Россия*

**Введение.** Грипп – высоко контагиозное вирусное заболевание людей, птиц и млекопитающих. Современные вакцины против вируса гриппа вызывают образование, главным образом, штамм-специфических антител к поверхностным гликопротеинам вируса гриппа: гемагглютинину и нейраминидазе. Однако, вирусы гриппа А способны постоянно модифицировать свою структуру в результате генетических изменений, затрагивающих в основном именно поверхностные гликопротеины. Подобная генетическая вариабельность способствует изменению антигенной структуры настолько существенно, что специфический иммунитет, установившийся на полученную вакцину, может быть не эффективен.

Поэтому актуальным на сегодняшний момент является получение противогриппозных вакцин на основе консервативных антигенов вируса гриппа. Наиболее перспективным в качестве антигена представляется эктодомен поверхностного белка M2, так как он не только является высококонсервативным белком, но и индуцирует образование и клеточного, и гуморального ответа к вирусу гриппа. Новым подходом к созданию современных вакцин являются генетические вакцины, в том числе вакцины на основе вирусных векторов. Аденовирус человека пятого серотипа – один из самых хорошо изученных вирусных векторов, показавший во многих исследованиях свою эффективность и безопасность при иммунизации от различных патогенов, в том числе вирусов гриппа.

**Цель и задачи.** Целью нашей работы являлось получение рекомбинантного аденовируса человека (Ad5), несущего ген эктодомена белка M2 (M2e) вируса гриппа и изучение его протективных свойств при иммунизации лабораторных животных.

**Материалы и методы.** Рекомбинантные аденовирусы человека пятого серотипа, несущие ген M2e вируса

гриппа птиц, были получены, как описано в «Stratagene» (Ad Easy Adenoviral Vector Sistem). При их получении была использована консенсусная между различными вирусами гриппа птиц последовательность M2e белка. Для повышения иммуногенности антигена в состав аденовирусных векторов был введен ген лиганда для Толл-подобного рецептора 5 – флагеллина, так чтобы Ад5 экспрессировали фьюжн-белок, состоящий из M2e и флагеллина. Нами были созданы два рекомбинантных Ад5: несущий ген M2e, способный образовывать тетрамер (Ad5-M2tetр-F1), так же как на поверхности вируса гриппа, и лишенный такой способности путем введения мутаций (Ad5-M2-F1). Лабораторные мыши линии Balb/c, самки, весом 7-9 г, были двукратно иммунизированы полученными Ад5 тремя способами (внутримышечно, интраназально и подкожно) и через три недели после иммунизации животных были заражены летальными дозами вирусов гриппа птиц различных субтипов (H5N2 и H2N3) для оценки формирования перекрестного протективного иммунного ответа.

**Результаты.** Было показано, что лучшими протективными свойствами обладал вирусный вектор Ad5-M2-F1, так как его интраназальное введение обеспечивало протекцию 100% (при заражении вирусом гриппа птиц H5N2) и 80% (при заражении вирусом гриппа птиц H3N2) иммунизированных животных на фоне 100% гибели контрольной, не иммунизированной группы. При этом интраназальная иммунизация Ad5-M2tetр-F1 защитила только 80% (при заражении вирусом гриппа птиц H5N2) и 50% (при заражении вирусом гриппа птиц H3N2) мышей. Так же оказалась, что наиболее эффективной является именно интраназальная иммунизация. При внутримышечном и подкожном способах введения Ad5-M2-F1 выживаемость иммунизированных мышей после заражения как вирусом гриппа H5N2, так и вирусом H2N3 составила не более 20%. Внутримышечное введение рекомбинантного аденовируса Ad5-M2tetр-F1 защитило только 10% животных, а при подкожном введении наблюдалась гибель иммунизированных мышей на уровне контрольной, не иммунизированной группы.

**Заключение.** В нашей работе было показано, что рекомбинантный аденовирус человека пятого серотипа, несущий гены эктодомена M2 и молекулярного адьюванта флагеллина эффективно обеспечивает защиту иммунизированных животных от вирусов гриппа различных субтипов. При этом наиболее эффективным способом введения такого рекомбинантного аденовируса является интраназальная иммунизация.

### **Treg-ЛИМФОЦИТЫ И НК-КЛЕТКИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С**

Селькова М.С.<sup>1</sup>, Эсауленко Е.В.<sup>1</sup>, Михайлова В.А.<sup>2</sup>, Селютин А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ гриппа ФБА, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** Изучение клеточных факторов иммунитета дает представление о развитии инфекционного процесса при вирусном гепатите С на различных его стадиях. Исследование регуляторных Т-лимфоцитов с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup> позволяет оценивать регуля-

торные параметры иммунной системы и степень развития фибротических изменений печени.

**Цели и задачи работы:** оценить особенности содержания Т-регуляторных лимфоцитов и NK-клеток у пациентов с различными формами хронического гепатита С. Оценить количественные изменения Т-регуляторных лимфоцитов (с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup>) у пациентов с хроническим вирусным гепатитом на различных стадиях заболевания. Охарактеризовать особенности общего содержания NK-клеток, в том числе популяции клеток, экспрессирующие маркеры цитотоксической активности (CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>; CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, CD107a<sup>+</sup>).

**Материалы и методы.** в группу исследования были включены пациенты с диагнозом хронический гепатит С в количестве 81 человек. По полу группа исследуемых распределилась следующим образом. Мужчины – 54 человека (66,7%), женщины – 27 (33,3%). Возраст пациентов составил 20-62 года (Me 34 (30/42)). Диагноз подтверждался клиническими и лабораторными данными. Исследование натуральных киллеров и Т-регуляторных клеток проводили методом проточной цитометрии. Активацию NK-клеток оценивали по экспрессии CD107a у клеток с фенотипом CD16CD56. К регуляторным клеткам относили клеточную популяцию с фенотипом и оценивали ее процентное отношение к Т-хелперам (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>). Степень выраженности фиброза оценивали с помощью неинвазивной методики «Фибротест».

**Результаты.** При клиническом анализе фибротические изменения распределились следующим образом: F<sub>0</sub> – у 17 пациентов, F<sub>1</sub> – у 21 пациента, F<sub>2</sub> – у 12 пациентов, F<sub>3</sub> – у 11 пациентов, F<sub>4</sub> – у 7 пациентов. Среднее содержание цитотоксических клеток составило: NK-клеток – 12,4% (при норме 4,2-25,3%), NKT-клеток – 3,5% (при норме 1,3-10,2%), активных NK-клеток – 0,2% (при норме 0,5-2%). У 88,6% процентов пациентов с хроническим гепатитом С уровень активных NK-клеток был снижен, при том, что уровень NK-клеток с фенотипом CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> был снижен лишь у 2,9% пациентов. Среднее содержание Т-регуляторных клеток составило 5,7% (при норме 2,4-6,9%). Достоверная корреляционная зависимость отмечалась между степенью выраженности фиброза печени и уровнем Т-регуляторных клеток с фенотипом CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup> (S<sub>r</sub> = 0,27). Чем выше был уровень фиброза, тем выше был уровень Т-регуляторных клеток у этих пациентов.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о возможном влиянии Т-регуляторных лимфоцитов на развитие фибротических процессов в печени при хроническом вирусном гепатите С. Снижение цитотоксической активности NK-клеток может быть связано с нарушением элиминации вируса из печеночной ткани.

### **ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ РАЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ**

Скляр Л.Ф., Маркелова Е.В., Путилова Е.А., Кругляк С.П.<sup>1</sup>, Горелова И.С., Ли Ю.А., Саргсян Н.А.<sup>1</sup>  
ГОУ ВПО ВГМУ Минздравсоцразвития РФ,  
г. Владивосток, Россия

<sup>1</sup> ГУЗ «ККЦ СПИД», г. Владивосток, Россия

Согласно современным представлениям, выраженность и характер инфекционного процесса при вирусных

гепатитах в значительной степени обусловлены особенностями иммунного ответа. Целью работы явилось изучение информативности параметров гуморального и клеточного иммунитета у больных с различными нозологическими формами хронических вирусных гепатитов. Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 41 пациента (21 женщина и 20 мужчин). Из них — 17 человек с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС), 13 больных с хроническим вирусным гепатитом В (ХВГВ) и 11 пациентов со смешанным гепатитом В и С (ХВГ В+С). Противовирусную и другого рода терапию обследованные пациенты не получали. В качестве контроля обследовали 14 практически здоровых лиц. Иммунофенотипирование лимфоцитов осуществляли с помощью метода непрямой иммуофлюоресценции (цитометрErics-XL, Германия) с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD56, CD19. Содержание иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови проводили на автоматическом анализаторе белков «Turbox» (Финляндия). Концентрацию ЦИК в сыворотке крови определяли методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле (в модификации Ю.А. Гренивич). Результаты исследований рассчитывали, используя оценку среднего значения, его ошибки, коэффициент корреляции (r), критерий Спирмена (R) и Крускала—Уоллиса (kKW), достоверность статистических показателей (p) при помощи программы Statistica 7.0 (StatSoft Inc., 2004). При анализе иммунного статуса пациентов с ХВГС, ХВГВ и ХВГ В+С обнаружены отклонения показателей от контрольных значений при отсутствии статистически достоверных различий между этими группами больных, за исключением относительного уровня CD4<sup>+</sup> при смешанной этиологии гепатита, который был отличен от показателей при ХВГС (p < 0,05) и ХВГВ (p < 0,05), а также относительного уровня CD8<sup>+</sup> у пациентов с ХВГВ и ХВГ В+С (p < 0,05), что предопределило снижение иммунорегуляторного индекса у пациентов с ХВГС и ХВГ В+С (p < 0,05). Во всех трех исследуемых группах больных отмечено значимое повышение уровня ЦИК, главным образом, за счет увеличения содержания средне- и низкомолекулярных иммунных комплексов (p < 0,05-0,01). Достоверные отличия по уровню содержания средне- и низкомолекулярных иммунных комплексов наблюдались в группах между пациентами со смешанным вариантом ХВГ и ХВГ с моноинфекциями (p < 0,01), в то время как между группами с ХВГС и ХВГВ достоверных отличий по исследуемым показателям не установлено (p > 0,05). При ХВГ уровни IgA и IgM статистически значимо повышались (на 85 и 79% соответственно) во всех группах, независимо от этиологического фактора, по сравнению со здоровыми, но статистически не отличались между собой (p > 0,05). Наблюдалось также достоверное повышение содержания IgG (до 156%), причем тем больше, чем выше активность процесса (R = 12,91, p < 0,001). Уровень IgG при смешанной этиологии ХВГ достоверно отличался от показателей при ХВГС (p < 0,05) и ХВГВ (p < 0,01).

## КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МОДЕЛИ ИММУНОПАТОГЕНЕЗА ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ НА ОСНОВЕ УЧЕТА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ, ПАТТЕРНОВ ПУЛЬМОТРОПНЫХ АУТОАНТИТЕЛ, ФАГОЦИТОЗА

Скурыдин С.В.<sup>1</sup>, Широхова Н.М.<sup>2,4</sup>,  
Карабиненко А.А.<sup>2,4</sup>, Сторожаков Г.И.<sup>2</sup>,  
Симонова А.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Медицинский исследовательский центр «Иммункулус», Москва, Россия

<sup>2</sup> Кафедра госпитальной терапии № 2 РГМУ, Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт иммунологии, Москва, Россия

<sup>4</sup> ГКБ № 12, Москва, Россия

Трудности диагностики стертых интерстициальных форм внебольничной пневмонии (ВП) обуславливают высокий риск летальности и проблему выбора рациональной терапии. на клинической модели ВП *ex vivo* была показана высокая специфичность и чувствительность метода оценки относительного уровня пульмотропных аутоантител (ПААТ) в качестве перспективного диагностического критерия деструктивной пневмонии, особенно стертых рентген-негативных форм (Skurdyin S.V. et al., 2010). Логическим продолжением проведенных исследований стал вопрос о разработке теоретической модели иммунопатогенеза ВП.

Целью работы являлась разработка модели иммунопатогенеза внебольничной пневмонии на основе последовательного учета данных по миграции лейкоцитов, сывороточных паттернов натуральных аутоантител, фагоцитоза и оценки клинической значимости разработанной модели.

Исследовали образцы клеток и сывороток крови пациентов пожилого и старческого возраста с диагнозом ВП, находившихся на лечении в ГКБ № 12 г. Москвы. Исследование являлось проспективным, открытым и рандомизированным. Изучение миграционной активности суммарных лейкоцитов проводили по модифицированному общепринятому методу РТМЛ (Симонова А.В. с соавт., 2006; Сулов А.П. с соавт., 1989). Сывороточные уровни ПААТ к АГ легких LuM 01-230, LuS 06-300 и LuS 06-80, проводили с помощью ИФА, используя стандартные наборы ЭЛИ-Пульмо-Тест (Полетаев А.Б., 2008) («Иммункулус», Москва, www.immunodiagnostica.ru). Полученные результаты выражались в условных единицах. Перекисная активность лейкоцитарных фагосом и функционального резерва нейтрофилов проводили с использованием спонтанного НСТ-теста, согласно общепринятым протоколам (Медицинские лабораторные технологии, 2002, Пигаревский В.Е., 1982). За норму НСТ-теста принимали значения в пределах 10-15% (Медицинские лабораторные технологии, 2002) Морфологические изменения в легких анализировали с помощью рентгенографии и УЗИ. Полученные данные были проанализированы с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0 (критерий Вилкоксона). До проведения терапии все пациенты были разделены на 3 клинические группы: легкой степени тяжести (n = 5), средней степени тяжести (n = 36) и с тяжелым течением пневмонии (n = 12). Летальные случаи составили 6 человек, остальные пациенты были выписаны с выздоровлением.

В динамике проводимой терапии показатели ИПМ повышались по абсолютным значениям на 5,5% для пульсовой сыворотки и на 4,2% для аутосыворотки (p < 0,005).



В группе пациентов средней тяжести были обнаружены достоверные различия в динамике терапии, причем для обеих сывороток ( $p < 0,005$ ). Та же закономерность наблюдалась в группе пациентов с тяжелым течением ВП ( $p < 0,001$ ). При оценке РТМЛ в ответ на добавление ФГА и КоН А было выявлено, что ИПМ повышался по абсолютным значениям на 7,4% для ФГА и на 6,5% для КоН А в динамике проводимой терапии ( $p < 0,002$ ). Миграционный ответ в присутствии АГ *Staphylococcus aureus*, VHS I, VHS II не изменялся ни в одной клинической группе.

Ранее было показано снижение уровней ПААТ в динамике проводимой терапии [1]. При дальнейшем анализе было выявлено снижение уровней всех ПААТ в группе пациентов с легким течением ( $p < 0,05$ ). В группе с тяжелым течением ВП было выявлено достоверное снижение лишь ПААТ к LuS-06-80 ( $p < 0,03$ ). При этом наблюдалось достоверное снижение уровня суммарных IgA ( $p < 0,02$ ), сохранение на прежнем уровне IgM, тенденция к снижению уровня IgG ( $p < 0,27$ ) и достоверное снижение IgE ( $p < 0,003$ ).

Выраженность фагоцитоза отражала некоторые общие тенденции, схожие с динамикой снижения ПААТ. При оценке фагоцитарного резерва, по данным спонтанного НСТ-теста, было обнаружено достоверное его снижение в группе пациентов ВП легкого и средне-тяжелого течения пневмонии ( $p < 0,05$ ).

Обнаружена прямая сильная взаимосвязь уровней ПААТ как с показателями миграции лейкоцитов на ауто-сыворотку, так и фагоцитоза (табл.), что отражает их совместный вклад в единый процесс иммунопатогенеза пневмонии. Выявленные закономерности могут быть важными для дальнейшей оптимизации схем лечения ВП, включая ее стертые интерстициальные формы.

#### Выводы.

Иммунопатогенез ВП у лиц пожилого и старческого возраста характеризуется:

1. Усилением реакции торможения миграции лейкоцитов;
2. Снижением уровня пульмотропных ААТ, снижением АТ классов IgA, IgG, IgE;
4. Значительным снижением фагоцитарной активности лейкоцитов с тенденцией к восстановлению нормальных значений в процессе лечения;
5. Высокой коррелятивной связью ПААТ как с показателями миграции, так и фагоцитоза.

Клинико-иммунологические данные свидетельствуют в пользу предложенной модели иммунопатогенеза ВП и ставят вопрос о целесообразности применения специфических иммуномодуляторов, воздействующих на каждое из трех звеньев.

### КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОЦЕНКИ ФАКТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА

Снимщикова И.А., Новикова Е.П., Шманева И.А., Снимщикова А.Д., Пахомова А.С.

ГОУ ВПО Орловский государственный университет, г. Орел, Россия

За последнее десятилетие большую клиническую и социально-экономическую значимость приобрела проблема вагинального кандидоза, а также смешанных бактериально-грибковых инфекций влагалища и вульвы, которые регистрируются у 45-75% женщин репродуктивного возраста. Известно, что важную роль в хронизации кандидозной инфекции генитального тракта играет нарушение местной антиинфекционной защиты влагалища и системного иммунитета. Вместе с тем закономерности дисрегуляции компонентов врожденного иммунитета при монокаандидозном и кандидо-бактериальном поражении генитального тракта изучены недостаточно, а механизмы формирования локального иммунодефицита при данной патологии на фоне хронических воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ) нуждаются в уточнении. В связи с этим целью исследования явилось изучение продукции антимикробного пептида (АМП) кателицидина LL-37/hCAP18 и экспрессии TLR2 мононуклеарными фагоцитами периферической крови и вагинального смыва как факторов врожденного иммунитета при кандидозном вульвовагините (КВВ) на фоне хронических ВЗОМТ. Нами было обследовано 167 пациенток (средний возраст  $34,9 \pm 0,7$  лет) с различными формами КВВ на фоне хронического сальпингоофорита (ХС). Мононуклеарные клетки периферической крови (МНК) выделяли с использованием метода дифференциального центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографин. Вагинальные смывы (ВС) получали путем активной аспирации предварительно введенного физиологического раствора, а затем центрифугировали в течение 10 мин. при 1500 об./мин. Определение уровня LL-37/hCAP18 и экспрессии TLR2 проводили с использованием тест-систем Hbt (Нидерланды). Изучение уровня LL37/hCAP18 в ВС и сыворотке крови больных генитальным кандидозом на фоне хронического сальпингоофорита показало значительное снижение его концентрации, выраженность которого сочеталась с неблагоприятным течением патологического процесса. При этом у больных с хроническим сальпингоофоритом при отсутствии клинико-лабораторных признаков вульвовагинита уровень изучаемого АМП в биологических жидкостях был выше (в 1,5-2 раза). Значитель-

ТАБЛИЦА. КОРРЕЛИРУЮЩИЕ ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЕЙ ПУЛЬМОТРОПНЫХ ААТ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ МИГРАЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ И ФАГОЦИТОЗА (К ТЕЗИСАМ СКУРЫДИНА С.В. И ДР.)

Иммунологические реагенты	Сывороточные уровни пульмотропных ААТ		
	К антигену БМ LuM 01-230	К антигену ЦБ LuS 06-300	К антигену ЦБ LuS 06-80
ФГА	0,447464	0,429275	0,430346
КоН А	0,421156	0,400818	0,407811
Ауто-сыворотка	0,977179	0,993705	0,986022
НСТ-тест	0,953441	0,972003	0,956703

ный интерес в этой связи представляют полученные нами данные о более выраженном снижении продукции LL37/hCAP18 при монокандиозном вульвовагините, чем при микст-форме инфекции на фоне ХС, что, вероятно, может быть обусловлено различными сигнальными путями активации продукции АМП под действием патогенов. Кроме того установлено, что у всех женщин с КВВ, как при моно-, так и микст-форме инфекции, определялся более высокий уровень экспрессии TLR2 клетками, по сравнению со здоровыми лицами, а также больными ХС. Вместе с тем, наряду с повышенными фоновыми показателями экспрессии TLR2 МНК крови большинства больных (68,6%) кандидозным вульвовагинитом на фоне ХС, у 14,6% пациентов регистрировался низкий уровень экспрессии TLR2, у 16,8% – значения числа клеток, соответствующие показателям здоровых лиц. При сравнении числа TLR2<sup>+</sup> клеток в вагинальном смыве и среди МНК крови установлено, что показатели экспрессии TLR2<sup>+</sup> были выше на клетках ВС (в среднем на 15-30%), что, вероятно, связано с повышенной концентрацией микробных ассоциаций в генитальном тракте. Следует отметить, что у больных с непрерывно рецидивирующим течением ВВК регистрировались более высокие показатели количества TLR2<sup>+</sup> клеток (85-88%). Таким образом результатами проведенных исследований установлено, что снижение в вагинальном смыве и сыворотке крови уровней АМП LL-37 и гиперэкспрессия TLR2 МНК и клетками вагинального смыва являются критериями неблагоприятного течения генитального кандидоза (при моно- и микст-формах инфекции) на фоне хронического сальпингоофорита, что обосновывает возможность их определения в качестве маркеров тяжести данной патологии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной ЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» по заявке № 551П/41 «Иммунологический мониторинг адаптации человека и его жизнеобеспечения в условиях действия неблагоприятных экзогенных и эндогенных факторов» (2009-2013 гг.).

#### ПОКАЗАТЕЛИ ИНТЕРФЕРОНОВОГО СТАТУСА И ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ С ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ СОЧЕТАННОЙ ФОРМАМИ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

Мельниченко А.В.<sup>1</sup>, Мезенцева М.В.<sup>2</sup>,  
Подчерняева Р.Я.<sup>1</sup>, Григорьева Т.А., Шаповал И.М.<sup>2</sup>,  
Трегубова М.И.<sup>2</sup>, Львов Н.Д.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> ФГБУ НИИ Вирусологии им. Д.И. Ивановского  
Минздравсоцразвития России, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ НИИ Эпидемиологии и микробиологии  
им. Н.Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России, Москва,  
Россия

Хроническая рецидивирующая герпесвирусная инфекция (ГИ) рассматривается, в ряде случаев, как инфекционная (приобретенная) болезнь иммунной системы, при которой длительная персистенция вируса сопровождается продуктивной инфекцией практически во всех видах клеток иммунной системы, что проявляется их функциональной недостаточностью, и способствует формированию иммунодефицита, прежде всего снижению функционирования системы интерферона (IFN) и других цитокинов. Поэтому особое место в патогенезе ГИ придается изучению иммунной системы и особенно-

стей ее функционирования в условиях инфицированности герпесвирусами.

**Целью исследования** являлось сравнительная оценка показателей интерферонового и цитокинового статуса у больных с различными проявлениями сочетанной герпесвирусной патологией.

**Материалы и методы.** В комплексном исследовании участвовало 113 больных в возрасте от 18 до 73 лет с ГИ (острая ГИ, вызванная ВПГ 1,2 – человека, хроническая сочетанная ГИ, вызванная ВПГ 1,2, ЦМВ, вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ), вирусом герпеса 6-го типа (HHV-6) – 70 человек. Вирусологические исследования: определение титра антител (IgM и IgG) методом ИФА к ВПГ 1, ВПГ 2, ЦМВ и HHV-6 с использованием концентрированных высокоочищенных антигенных препаратов вирусов, выявление антигена ВПГ, ЦМВ и (HHV-6) в мазках-отпечатках, на предметных стеклах с урогенитального тракта, с зева, в мазках крови методом флюоресцирующих антител (МФА); выделение (изоляция) вирусов ВПГ и ЦМВ в культуре клеток (определение инфекционного титра вируса по цитопатическому действию в логарифмах (lg TCID<sub>50</sub>/мл). Диагностические тест-системы приготовлены по методикам разработанным ранее (НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского) и прошедшие всестороннюю и многолетнюю лабораторно-клиническую апробацию. Для определения антител в ИФА к ВЭБ использовали тест-системы (НПО «Вектор», г. Новосибирск, Россия). Иммунологические исследования: определение интерферонового статуса и чувствительности к препаратам проводили биологическим методом, анализ цитокинового профиля – методом ОТ-ПЦР. Контрольная группа – 40 здоровых добровольцев в возрасте от 20 до 45 лет.

**Результаты.** У 80% больных ГИ выявлено выраженное снижение способности к продукции IFN $\alpha$  (< 80 Ед/мл) – показателя состояния противовирусной защиты организма, из них 37% – с хронической ВПГ-инфекцией (титры АТ ВПГ 1,2 – IgM 1:8100, IgG 1:24300, из крови, слюны изолирован ВПГ-1,5-2,0 lgTCID<sub>50</sub>/мл), сочетанная герпесвирусная патология наблюдалась у 26% (ВПГ 1, 2+ВЭБ+HHV-6), острая ГИ – у 37% (титры АТ к ВПГ 1, 2 – IgM 1:72900, IgG- 1:656100, в крови, слюне – изолирован вирус – 2,0 lgTCID<sub>50</sub>/мл и выше). В 57% случаев у больных ГИ обнаружено снижение титров IFN $\gamma$ , показателя функциональной активности Т-лимфоцитов и способности к активации иммунной системы. Из них 34% – с хронической сочетанной герпесвирусной патологией (ВПГ 1,2+ВЭБ+HHV-6) и 10% – с острой формой ГИ. Было выявлено снижение показателей как IFN $\alpha$ , так и IFN $\gamma$  у 52% больных в основном с хронической сочетанной ГИ.

Спонтанная интерфероновая реакция лейкоцитов отмечается у 13% и обычно свидетельствует о развитии аутоиммунного процесса, что подтверждается диагнозом СКВ и заболеваниями суставов. Титры IFN в сыворотке крови > 8 (сывороточный IFN) – наблюдались у 8 человек (11%), что соответствовало активному острому герпетическому процессу.

По нашим данным, как при хронической сочетанной ГИ (ВПГ 1,2+ЦМВ+ВЭБ+HHV-6), так и при острой ГИ по сравнению со здоровыми добровольцами, была выявлена активация экспрессии генов IFN $\alpha$ , IL-2, IL-8, IL-18 и IL-10 (более выражена при хронической ГИ) и угнетение транскрипция гена IL-12 (в большей степени при острой ГИ). При этом синтез мРНК IL-6, TNF $\alpha$  оставался в норме. При хронической ГИ экспрессия генов IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-4 оставалась на уровне здоровых лиц. При

острой ГИ отмечалась активация  $IFN\gamma$  и IL-4, при этом у таких пациентов выявлены высокие титры АТ к ВПГ 1,2 (IgG более чем 1:656100).

Определение чувствительности к препаратам  $IFN$  вывило 12,5% больных, резистентных к препаратам как  $IFN\alpha$ , так и  $IFN\gamma$ , из них 22% – пациенты с острой ГИ и 78% – с хронической сочетанной ГИ. В 77% случаев была отмечена чувствительность к препаратам  $IFN\alpha$  (реаферон, Intron A) в основном у пациентов с острой ГИ, а у 86% пациентов – чувствительность к препаратам как  $IFN\alpha$  так и  $IFN\gamma$  (гаммаферон), и лишь в 11% случаев определялась чувствительность только к препарату  $IFN\gamma$ . С нашей точки зрения, наиболее эффективными в клинической практике терапии ГИ являются препараты  $IFN\alpha$ .

**Заключение.** На основании проведенных исследований можно сделать заключение о характере иммунного ответа при разных формах герпесвирусной патологии для выбора направления иммунокоррекции.

### МАРКЕРЫ ОСТРОЙ И РЕАКТИВИРОВАННОЙ СТАДИИ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

Трубченинова Л.П., Гудима Г.О., Трефильева Н.Ф., Николаева И.А., Ильина Н.И., Сидорович И.Г.

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

**Введение.** Проблема наличия у ВИЧ-позитивных лиц инфекций, вызываемых вирусом простого герпеса 1 и 2 типов (ВПГ 1,2), цитомегаловирусом (ЦМВ) и вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) в настоящее время является актуальной. Снижение функции иммунной системы приводит к активации этих вирусов, существующих в организме в латентной форме.

Особенно остро в современном мире стоит проблема сочетанной инфекции ВИЧ и герпесвирусами, когда последние могут активизироваться настолько, что могут поражать практически все органы и системы. При этом наблюдается генерализация процесса при инфицировании ЦМВ или ВПГ, являясь непосредственной причиной смерти, а в случае острой инфекции вирусом ВЭБ имеет место возрастание восприимчивости к ВИЧ-инфекции, связанное с увеличением количества ССР-5 хеморецепторов, отвечающих за проникновение ВИЧ в  $CD4^+$  клетки. Показано, что в процессе лечения инфекции ВЭБ и выздоровления количество ССР-5 хеморецепторов уменьшается.

**Цель и задачи.** При таких обстоятельствах принципиальным является определение иммуноглобулинов М и G к специфическим антигенам: к капсидному комплексу (VCA), раннему антигену (EA) и ядерному антигену (EBNA). Антитела к капсидному комплексу (VCA) и раннему антигену (EA) используют для определения наличия острой или реактивированной инфекции. Наличие IgG к капсидному антигену ВЭБ может расцениваться как показатель текущей либо перенесенной ВЭБ-инфекции, а IgG к антигену EBNA свидетельствуют о перенесенной инфекции.

**Материалы и методы.** Специфические иммуноглобулины класса М и G к ВИЧ и ВЭБ определяли твердофазным иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Подтверждение на ВИЧ-инфекцию проводилось в Россий-

ском Центре по борьбе и профилактике СПИДа на наборах фирмы «Bio-Rad» New Lav Blot 1.

Были обследованы 50 образцов сывороток крови наркоманов: 20 – от ВИЧ-инфицированных и 30 сывороток крови от наркоманов, отрицательных на антитела к ВИЧ.

**Основные результаты.** IgM к VCA отсутствовали во всех образцах. Положительная реакция на IgG к EA составила 55% (11 положительных образцов из 20) в группе ВИЧ-инфицированных пациентов и 16,6% (5 положительных образцов из 30) в группе наркоманов с отсутствием ВИЧ-инфекции. Реакция к ядерному антигену EBNA во всех образцах сывороток была высоко положительной и составила 100% с показателями оптической плотности выше 2,5.

**Заключение.** Таким образом, в группе ВИЧ-инфицированных наркоманов выявлена положительная реакция с ранним антигеном (IgG EA), которая превысила в 3,3 раза показатели в группе наркоманов, отрицательных на антитела к ВИЧ. 100% обследованных нами наркоманов, как положительных на антитела к ВИЧ, так и отрицательных на антитела к ВИЧ, являются носителями вируса Эпштейна–Барр.

Наличие антител к раннему антигену (EA) свидетельствует о ранней инфекции или реактивации ВЭБ-инфекции. Изучение взаимодействия между ВИЧ и другими микроорганизмами, в том числе вирусами, способствует созданию новых терапевтических подходов к стратегии борьбы с ВИЧ-инфекцией.

### ЛИГАНД NOD-РЕЦЕПТОРА 1 ПОЛУЧЕННЫЙ ИЗ NEISSERIA MENINGITIDIS СЕРОГРУППЫ В ЕГО СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА IN VITRO И IN VIVO

Тухватулин А.И., Логунов Д.Ю., Шмаров М.М., Костюкова Н.Н., Мороз А.Ф., Народицкий Б.С., Гинцбург А.Л.

ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития Российской Федерации, Москва, Россия

NOD-подобные рецепторы относятся к одному из 7 семейств паттерн-распознающих рецепторов врожденного иммунитета. Данные рецепторы участвуют в распознавании бактерий, а также их структурных фрагментов, попадающих в цитоплазматическое пространство эукариотических клеток. После взаимодействия с собственными лигандами NOD-подобные рецепторы способны запускать ответные специфические иммунные реакции как врожденного (активация фагоцитоза), так и приобретенного иммунитета (индукция процессинга и презентации антигенов). Ключевая роль данных рецепторов в формировании эффективных защитных реакций была показана против таких бактерий, как *Helicobacter pylori*, *Trypanosoma cruzi*.

В данной работе был разработан оригинальный метод получения из бактерии *Neisseria meningitidis* серогруппы В и очистки (до достижения масс-спектрометрической чистоты) молекулы, являющейся лигандом одного предшественника NOD-подобных рецепторов – NOD1. В экспериментах *in vivo* была показана способность данной молекулы к органоспецифичной активации (наибольшая активация NF- $\kappa$ B наблюдалась в печени, селезенке, легком и кишечнике) основного провоспалительного транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B, регулирующего разви-

тие большинства иммунных реакций. Было обнаружено, что лиганд NOD1 рецептора обладает отличными от лигандов другого семейства паттерн-распознающих рецепторов (Toll-подобных рецепторов) иммунобиологическими свойствами. В частности, были показаны различия в спектрах индуцируемых цитокинов (IL-1, IL-6, IL-18, TNF $\alpha$ , IFN $\beta$  и др.), в том числе играющих непосредственную роль в формировании противоинфекционного иммунитета.

Таким образом, выделенный из *N. meningitidis* серогруппы В и идентифицированный лиганд NOD рецептора 1 может использоваться не только как самостоятельное антибактериальное средство, но и имеет перспективы использования в качестве нового молекулярного адъюванта, позволяющего создавать эффективные вакцинные препараты против различных патогенов, включая *N. meningitidis* серогруппы В.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ИНДИКАЦИИ СТАФИЛОКОККОВЫХ ЭНТЕРОТОКСИНОВ РАЗНЫХ ТИПОВ У *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ АНГИНЕ У ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ

Флуер Ф.С., Адешвили П.С.

ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»  
Минздравсоцразвития России, Москва, Россия  
ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, Москва, Россия

**Введение.** До настоящего времени нет единого мнения в отношении возбудителя ангины при инфекционном мононуклеозе (ИМ) у детей. С одной стороны считают, что ангина при ИМ у детей обусловлена вирусами, с другой стороны, что это заболевание имеет бактериальную природу. Следует подчеркнуть, что вторая точка зрения основана на частом выделении при этом заболевании стафилококков.

Известно, что стафилококки продуцируют большое количество факторов патогенности, в том числе 22 иммунологически различных типов стафилококковых энтеротоксинов (СЭ), обладающих суперантигенной активностью. В работе была предпринята попытка исследования энтеротоксигенности стафилококковых культур, выделенных у детей.

**Цель и задачи.** Определение наличия стафилококковых энтеротоксинов разных типов иммуноферментным методом у штаммов стафилококков, выделенных при ангине у детей с ИМ.

**Материалы и методы.** В работе исследовали наличие стафилококков у 19 больных детей с ангиной с ИМ в возрасте от 3 до 14 лет. *S. aureus* был выделен у 11 больных детей с ангиной при ИМ. Культивирование стафилококков для определения продукции СЭ проводили на жидкой питательной среде с ферментативным гидролизом казеина. Культивирование проводили на штуртель аппарате при 120 об/мин в течение 24 ч при 37 °С. Удаление микробных клеток проводили центрифугированием при 10 000 об/мин в течение 15 мин. СЭ определяли в надосядочной жидкости. Определение СЭ разных типов проводилось согласно МУК № 4.2.2429-08 с использованием иммуноферментных тест-систем, полученных согласно ВФС 42-235, ВС 89;1989 и ВФС 42-236, ВС 89; 1989. Чувствительность тест-систем составляла 1-2 нг/мл.

**Основные результаты.** Из 19 исследованных больных детей с ангиной с ИМ *S. aureus* был выделен у 11 больных. Количество стафилококков было более 10<sup>3</sup> КОЕ. Нами исследовано 11 штаммов *S. aureus* на продукцию СЭ типов А, В, Д. Показано, что 10 культур *S. aureus* продуцировали стафилококковые энтеротоксины. Следует подчеркнуть, что 6 штаммов *S. aureus* продуцировали одновременно два энтеротоксина – СЭА и СЭВ, один штамм *S. aureus* продуцировал токсины А, В и Д, 3 штамма *S. aureus* продуцировали энтеротоксин типа А.

Мы не наблюдали утяжеления течения ангины у больных с ИМ, у которых в смывах из ротоглотки высевались энтеротоксигенные штаммы *S. aureus* 10<sup>3</sup> КОЕ, по сравнению с теми больными, у которых не высевались энтеротоксигенные штаммы стафилококка. В большинстве случаев у детей, которые не получали антибактериальную терапию при наличии энтеротоксигенных стафилококков, длительность течения ангины была короче и составляла в среднем 6,4±2,3 (n = 10) дня, в то время как течение ангины у больных, которые получали антибиотикотерапию, составляла 8,3±3,9 (n = 12) дня.

### УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ И ГИПЕРПАЗИЕЙ НОСОГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ

Шабалдина Е.В., Кутенкова Н.Е., Шабалдин А.В.  
ГОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия, г. Кемерово, Россия

Известно, что частая респираторная заболеваемость у детей обусловлена не состоятельностью иммунного ответа к определенным антигенам вирусов и бактерий, что может проявляться аллергией к инфекционным антигенам. Схожие процессы способствуют формированию гиперплазии носоглоточной миндалины. Частота аденоидных вегетаций II-III степени у детей с рецидивирующими респираторными инфекциями достигает 50%. Важное значение в регуляции взаимодействий иммунокомпетентных клеток имеют цитокины. Конституциональные особенности их продукции у индивидуума может быть критическим для развития аллергического иммунного ответа к тем или иным антигенам. Для детализации патогенетических нарушений, характерных для инфекционного и лимфопролиферативного синдромов иммунопатологии, изучили уровень цитокинов периферической крови у детей с частой респираторной заболеваемостью с одновременной гиперплазией носоглоточной миндалины.

Методом иммуноферментного анализа проведено исследование концентрации фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF), рецепторного антагониста интерлейкина 1 (РАIL-1), интерлейкина 1 бэта (IL-1) и интерлейкина 4 (IL-4) в периферической крови у детей. Обследованы две группы детей сопоставимых по возрасту (2-4 года) и полному составу: дети группы здоровья IIа (n = 23) и дети с гиперплазией носоглоточной миндалины II-III степени и частой респираторной заболеваемостью (n = 19). Для исследования уровня цитокинов в периферической крови использовали тест-системы ООО «Вектор-Бест», г. Новосибирск.

Проведенное исследование показало, что в группе условно-здоровых детей уровень TNF в периферической крови имел широкий диапазон от полного отсутствия анализа в крови до концентрации 13 пг/мл, что указывает на мобильность этого показателя. То же самое касалось и других цитокинов, так в группе условно-здоровых де-

тей уровень PAИL-1 в периферической крови был в пределах 19-1106 пг/мл; IL-1 – 5-63 пг/мл; IL-4 – 1-26 пг/мл. В группе детей с инфекционным и лимфопролиферативным синдромами иммунопатологии пределы уровней изучаемых цитокинов в периферической крови были следующие: для TNF – 0-19 пг/мл; для PAИL-1 – 1-185 пг/мл; IL-1 – 7-70 пг/мл; IL-4 – 1-40 пг/мл. Из-за широкого диапазона концентраций цитокинов в периферической крови достоверно значимых различий между группами по каждому из интерлейкинов не получено.

Далее исследовали соотношение интерлейкинов экспрессирующих Т-хелперами I типа (TNF, IL-1) к интерлейкинам Т-хелперов II типа (IL-4), а также соотношение PAИL-1 к IL-1. Достоверные различия были получены лишь для одного отношения суммы провоспалительных цитокинов к противовоспалительным ((TNF+IL-1)/IL-4). В группе детей с частой респираторной заболеваемостью и гиперплазией носоглоточной миндалины этот показатель был выше, чем в группе условно здоровых детей (122,3+53,4 у.е. против 10,8+3,5 у.е. в контроле,  $p < 0,05$ ). Представленные результаты указывают на У наличие конституциональных нарушений иммунорегуляторного потенциала, связанного с соотношением Т-хелперов I типа к Т-хелперам II типа, и определяющих формирование частой респираторной заболеваемости и гиперплазии носоглоточной миндалины.

В ходе исследования показано, что приоритетным в оценке цитокинового статуса у детей являются исследования соотношений различных классов цитокинов.

## ИММУННЫЙ СТАТУС В УСЛОВИЯХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНЫХ ПАЗУХ

**Шутов В.И., Шаповалова А.Е., Быстрова Н.А., Конопля Н.А., Будяков С.В., Гаврилюк В.П.**

*Белгородский государственный университет,  
г. Белгород, Россия*

**Введение.** Воспалительная патология околоносовых пазух имеет устойчивую тенденцию роста, происходит увеличение рецидивирующих и хронических форм заболевания, не смотря на совершенствование способов диагностики и лечения. Неэффективность традиционного лечения гнойных синуситов, сопутствующая применению антибиотиков, в большой степени связана с развитием антибиотикорезистентности патогенной флоры и иммуносупрессивным действием антибиотиков на местном и системном уровнях.

**Цель и задачи.** Изучение характера нарушений иммунного статуса и состояния перекисного окисления липидов у больных с воспалительными заболеваниями верхнечелюстных пазух: острого верхнечелюстного гнойного синусита (ОВС) и обострения хронического (ОХВС).

**Материалы и методы.** Под постоянным наблюдением находилось 24 больных с верифицированным диагнозом острый гнойный верхнечелюстной синусит, и 25 больных – обострение хронического верхнечелюстного синусита. Диагноз верхнечелюстного синусита верифицировался на основании характерной клинической картины, лабораторных и рентгенологических данных. Группа контроля состояла из 15 здоровых доноров-добровольцев того же возраста.

**Основные результаты.** У больных ОВС установлено снижение CD3, повышение содержания CD4, CD16 и CD25-клеток, а у больных ОХВС по сравнению со здоровыми донорами снижено содержание CD3, CD4, CD25

и HLA-DR-клеток повышено количество CD8, CD95 и CD16-клеток. У больных ОВС выявлено повышение содержания В-лимфоцитов при повышении концентрации в плазме крови концентрации IgM, IgG, тогда как у пациентов с ОХВС наоборот, выявлена супрессия гуморального звена иммунитета, что проявляется снижением содержания В-лимфоцитов, IgM, при этом концентрация sIgA остается на контрольных значениях.

У больных ОВС при поступлении в стационар повышен фагоцитарный индекс и показатели НСТ-теста, как спонтанного, так и стимулированного, что приводит к повышению функционального резерва нейтрофилов, а у пациентов с ОХВС активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов периферической крови остается на уровне нормы, тогда как повышено значение НСТ-теста спонтанного, но не выше значений у больных ОВС. Таким образом, у больных ОВС имеет место стимуляция функции нейтрофилов периферической крови, что, вероятно, является компенсаторной реакцией организма на инфекционный агент, что усиливает миграцию фагоцитов в гнойный очаг, тогда как у больных ОХВС активность нейтрофилов практически остается на прежнем уровне.

В условиях ОВС выявлено повышение концентрации в плазме крови всех изученных провоспалительных цитокинов: TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, Г-КСФ, IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ , и как компенсаторный механизм – противовоспалительного цитокина рецепторного антагониста IL-1 (РАИЛ). Концентрация других цитокинов, обладающих антагонистическими эффектами, остались на уровне нормы (IL-4 и IL-10). У больных ОХВС в меньшей степени, чем у предыдущей группы, выявлено повышение концентрации TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, IFN $\gamma$ , а концентрация IL-1 $\beta$  и Г-КСФ остается на уровне нормы. При этом без изменений остается концентрация всех изученных противовоспалительных цитокинов: РАИЛ, IL-4, IL-10.

В условиях ОВС выявлено повышение активности комплемента, концентрации в плазме крови как неактивных продуктов (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> и C<sub>5</sub>), так и их активных молекул, обладающих провоспалительной активностью и стимулирующей хемотаксис клеток макрофагально-моноцитарного ряда (C<sub>3a</sub> и C<sub>5a</sub>). При этом концентрация компонентов системы комплемента, обладающих ингибирующей активностью – фактор Н и C<sub>1</sub>-инг., оказалась также повышена.

**Заключение.** У больных верхнечелюстным синуситом при поступлении в стационар на системном уровне имеет место нарушение целого ряда показателей иммунного статуса: у больных ОХВС по сравнению с пациентами с ОВС в меньшей степени изменены показатели функционально-метаболической активности нейтрофилов, цитокинового звена и системы комплемента, что, вероятно, обусловлено истощением компенсаторно-приспособительных механизмов поддержания иммунного гомеостаза у больных в условиях хронического иммунного воспаления.

## РАЗРАБОТКА МУКОЗАЛЬНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАКЦИН ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ ВИРУСНЫХ ПАТОГЕНОВ

**Шмаров М.М., Седова Е.С., Щербинин Д.Н., Тутыхина И.Л., Логунов Д.Ю., Народицкий Б.С., Гинцбург А.Л.**

*ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»  
Минздравсоцразвития России, Москва, Россия*

Основным путем проникновения вирусных патогенов в организм является слизистая оболочка. Поэтому

на сегодняшний момент важной задачей является создание мукозальных вакцин, так как они обеспечивают формирование иммунного ответа на слизистую, то есть именно там где находятся входные ворота большинства вирусных инфекций. Современным и перспективным подходом к созданию мукозальных вакцин являются генетические вакцины. Генетическая иммунизация обеспечивает экспрессию антигена непосредственно в клетках организма-хозяина, то есть имитирует поведение живого патогена, индуцирует образование как гуморального, так и клеточного иммунного ответа и производство генетических вакцин не требует работы непосредственно с патогеном. Кроме того мукозальные генетические вакцины вызывают образование на слизистой секретируемых антител изотипа А, играющих важную роль в формировании перекрестного иммунного ответа. Генетические вакцины представляют из себя ДНК-вакцины или вакцины на основе вирусных векторов. Одним из самых хорошо изученных вирусных векторов является рекомбинантный аденовирус человека пятого серотипа (Ад5). Мукозальные вакцины на основе Ад5 обладают рядом преимуществ над традиционными вакцинами. Они безопасны, так как рекомбинантные аденовирусы не способны размножаться в клетках млекопитающих, не реактогенны, хорошо подходят для мукозального, в том числе интраназального введения и существуют эффективные технологии получения аденовирусных препаратов в короткие сроки. На сегодняшний день показана эффективность применения мукозальных вакцин на основе рекомбинантных Ад5, экспрессирующих антигены различных патогенов, при вакцинации от таких заболеваний как туберкулез, корь, герпес, и других, вызываемых вирусами, передающимися воздушно-капельным и половым путем.

Разработка мукозальных вакцин широкого спектра действия против такого патогена, инфицирующего респираторный тракт, как вирус гриппа А, является востребованной и актуальной. В ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития РФ была разработана мукозальная вакцина против вируса гриппа А на основе Ад5, экспрессирующего ген гемагглютинаина вируса гриппа птиц H5N2, и была изучена ее способность индуцировать образование IgA к вирусу гриппа на слизистой верхних и нижних дыхательных путей иммунизированных лабораторных мышей, а так же проведена оценка протективных свойств полученной вакцины.

Входящий в состав вакцины аденовирус Ад5-НА является репликативно-дефектным и может использоваться для интраназальной иммунизации млекопитающих. Для проведения этой работы лабораторные мыши линии Balb/c были двукратно интраназально иммунизированы полученной вакциной, и через три недели после иммунизации у животных отбирали сыворотки крови и смывы с верхних и нижних дыхательных путей для анализа уровня антител к вирусу гриппа методом иммуноферментного анализа (ИФА) и с помощью реакции вирус-нейтрализации (РН). Также животные были заражены летальными дозами вирусов гриппа А различных субтипов (H5N2, H1N1 и H2N3) для оценки формирования перекрестного протективного иммунного ответа.

С помощью РН было показано, что как в сыворотках крови, так и смывах с верхних и нижних дыхательных путей присутствует высокий уровень антител, нейтрализующих вирус гриппа H5N2. При этом РДанные ИФА демонстрируют, что в как бронхо-альвеолярных лаважах, а особенно в смывах с верхних дыхательных путей детектиру-

ется значительные уровни секретируемого IgA, специфичного к вирусу гриппа H5N2.

Также продемонстрировано, что мыши, двукратно интраназально иммунизированные аденовирусом Ад5-НА, были полностью защищены от заражения не только гомологичным штаммом вируса гриппа (H5N2), но и от заражения гетерологичными штаммами (H1N1, H2N3), что говорит о формировании гетеросубтипического иммунного ответа.

Таким образом была продемонстрирована эффективность генетической мукозальной вакцины на основе рекомбинантного Ад5 против вируса гриппа А и ее способность формировать иммунного ответа широкого спектра действия на слизистой дыхательных путей.

### **ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ: ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

**Щегловитова О.Н., Миронченкова Е.В.,  
Склянкина Н.Н., Болдырева Н.В.**

*ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»*

*Минздравсоцразвития России, Москва, Россия*

Сосудистая система объединяет организм в единое целое. Эндотелий выстилает внутреннюю поверхность сосудов (ЭС), является полупроницаемым избирательным барьером для жидкой и клеточной части крови и реализует жизненно важные регуляторные функции. ЭС занимает значительное место в функционировании иммунной системы: обладает презентующей функцией и обеспечивает миграцию лейкоцитов крови для поддержания гомеостаза организма. ЭС экспрессирует противовоспалительный фенотип в физиологических условиях и является каузальной клеточной популяцией в развитии воспаления – врожденной неспецифической реакции организма, развивающейся при попадании инфекционного патогена в организм и при других патологических процессах. На уровне сосуда осуществляются межклеточные взаимодействия трех основных популяций: лейкоцитов крови, клеток эндотелия и гладкомышечных клеток стенки сосуда. Эти взаимодействия реализуются при непосредственных клеточных контактах и с помощью растворимых медиаторов. ЭС подвергается воздействию большого числа патогенов, в том числе и вирусов. Культивируемые клетки первичной культуры эндотелия сосудов дают возможность моделировать процессы, происходящие в организме. Действие цитокинов, продуцируемых лейкоцитами крови и гладкомышечными клетками стенки сосуда, приводит к ограничению инфекционного процесса, инициированного ВПГ-1 в ЭК, но может приводить к развитию вирусной латенции. IFN $\gamma$ , в отличие от IFN $\alpha$ , IFN $\beta$  и IFN $\omega$ , может активировать распространения ВИЧ-1 инфекции путем увеличения передачи вирионов от инфицированных ЭК Т-клеткам крови. Представлены данные об увеличении вирусной инфицированности ЭК ВИЧ-1 под влиянием МоАТ к МКА ICAM-1.

Клеточные и растворимые факторы иммунной системы с помощью различных механизмов оказывает воздействие на течение вирусного инфекционного процесса в первичной культуре ЭС.