

ЛОКАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

ЛОКАЛЬНАЯ СЕКРЕЦИЯ ЦИТОКИНОВ ПРИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

**Дербасова Н.Н., Сотниченко С.А.,
Чиркова Л.В., Чикаловец И.В.***

*Владивостокский государственный университет,
ТИБОХ ДВО РАН*, г. Владивосток*

Патогенез герпетической инфекции включает различные механизмы, однако роль нарушений в системе цитокинов при этой инфекции до конца не определена.

Целью настоящего исследования было провести оценку информативности и прогностической значимости мониторинга содержания некоторых про- и противовоспалительных цитокинов в разных биологических жидкостях при герпесвирусной инфекции в зависимости от органа-мишени.

Материал и методы: под наблюдением находились 80 больных с рецидивирующим генитальным герпесом (из них: 46 мужчин и 34 женщины) и 15 больных с офтальмогерпесом (10 из них с рецидивирующей формой). Материалом для исследований служила сыворотка крови, вагинальный секрет или отделяемое из уретры при генитальном герпесе, а также сыворотка крови и слезная жидкость при герпетическом поражении глаз, контролем служил материал, от 10 здоровых добровольцев. Определение цитокинов в биологических жидкостях проводилось иммуноферментным методом реактивами «R & D diagnostics Inc» (США) в сэндвич-варианте. Был определен уровень IL-4, IL-13, IL-10 и IFN γ , характеризующих функциональное состояние Th2, Th1 лимфоцитов и макрофагов. Исследование производилось в острую фазу болезни, в динамике через 7-10 дней и в период ремиссии.

В результате исследований установлено, что уровень противовоспалительных цитокинов во всех группах больных герпетической инфекцией был достоверно выше, чем у людей из контрольной группы, тогда как содержание IFN γ , напротив, оказалось сниженным и не во всех пробах достигало нормальных величин даже в период ремиссии. Мониторинг локального уровня цитокинов является более информативным, чем определение их в сыворотке крови.

Выявленная депрессия клеточно-опосредованной защиты предопределяет необходимость назначения иммунотропной терапии под контролем уровня локальной секреции цитокинов.

СИСТЕМНЫЙ И МЕСТНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ВВЕДЕНИЕ МЫШАМ ЖИВОГО ХОЛОДО- АДАПТИРОВАННОГО (ХА) ИЛИ ИНАКТИВИРОВАННОГО РЕАССОРТАНТНОГО ШТАММА ПОДТИПА Н5

Дешева Ю.А.*, Рекстин А.Р.*, Лу Х., Кац Д.**,
Климов А.И.**, Руденко Л.Г.***

**НИИ Экспериментальной медицины РАМН,
Санкт-Петербург, Россия; **Центр по контролю
заболеваемости, Атланта, США*

Начиная с 1997 г. неоднократные вспышки птичьего гриппа в Юго-Восточной Азии, вызванные высокопатогенными вирусами А(Н5N1), приводили к заболеванию людей, часто со смертельным исходом. Начавшаяся в январе 2004 года исторически беспрецедентная вспышка высокопатогенного гриппа Н5N1, охватившая 8 стран региона, привела к заболеванию 45 человек в Таиланде и Вьетнаме, 32 из них скончались. Эти события еще раз подтвердили высокий пандемический потенциал вирусов гриппа подтипа Н5 и доказали необходимость срочной разработки средств защиты человека от инфекции высокопатогенными вирусами гриппа птиц. Основной профилактической мерой при гриппе является иммунопрофилактика с использованием инаktivированных (ИГВ) и живых (ЖГВ) гриппозных вакцин.

С целью создания отечественной ЖГВ против пандемически опасных вирусов гриппа мы применили метод классической генетической реассортации в развивающихся куриных эмбрионах ХА вируса А/Ленинград/134/17/57 (Н2N2) [Лен/17], применяемого для производства вакцинных штаммов вируса гриппа А для взрослых и детей, с апатогенным птичьим вирусом А/утка/Потсдам/1402-6/86(Н5N2)[Н5N2-wt].

Материалы и методы. Для изучения прививочных свойств на мышах линии BALB/c использовался реассортант А/17/утка/Потсдам, унаследовавший ген, кодирующий НА от вируса Н5N2, а гены, кодирующие нейраминидазу NA и негликозилированные белки – от ХА Лен/17. Мышей иммунизировали живым реассортантным вирусом или родительским вирусом «дикого» типа Н5N2-wt интраназально (и/н) в концентрации 300 50% мышинных инфекционных доз (МИД₅₀) под легкой анестезией. Инаktivированный формалином реассортантный вирус (ИГВ) вводили внутримышечно в дозе 10 мкг НА. В сыворотках крови, полученных через 6 недель после иммунизации, определяли уровень вирус-специфических антител в РТГА и реакции микронеutralизации (РН). Иммуноферментный анализ (ИФА) применяли для обнаружения специфических IgG и IgA в сыворотках, носовых смывах и промывных водах бронхов.

Результаты. РТГА и РН выявили присутствие антител после введения ЖГВ только к гомологичному вирусу Н5N2, при этом титры гомологичных антигеммагглютинирующих антител не различались во всех трех группах. Образование гомологичных нейтрализующих антител на введение ИГВ или Н5N2-wt было более интенсивным, чем при иммунизации ЖГВ, также как и стимуляция специфических IgG к рекомбинантному очищенному НА вируса Н5N1 А/Гонконг/156/97. ИФА позволил выявить специфические IgG и IgA в сыворотке крови к антигенно отличающимся вариантам вируса гриппа подтипа Н5N1 после интраназальной иммунизации ЖГВ, при этом титры IgA были не ниже, чем после введения Н5N2-wt или ИГВ. Средние титры локальных IgA к антигенно отличающимся вирусам Н5N1 при интраназальном введении ЖГВ или Н5N2-wt не отличались, в то же время после иммунизации ИГВ были обнаружены только локальные IgG, но не IgA.

Заключение. Таким образом, на основе приведенных данных можно заключить, что при оценке поствакцинального иммунного ответа на ЖГВ подтипа Н5, ИФА

являлась более чувствительным методом выявления гетеросубтипического иммунитета по сравнению с РТГА и РН. Подтверждено, что парентеральное введение ИГВ не стимулировало образования локальных IgA. Ранее было показано, что реассортант А/17/утка/Потсдам эффективно репродуцировался в носовых ходах мышей при сниженной репродукции в легких. Таким образом, подтверждено, что основным механизмом защитного действия ЖГВ является репродукция ХА вакцинных штаммов в ВДП, сопровождающаяся как системным иммунным ответом, так и активной стимуляцией локальных IgA.

ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ ВАКЦИНАЦИИ «ПНЕВМО23» У ЛИЦ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Дубинина В.В., Маркелова Е.В., Костинов М.П.

*Владивостокский государственный медицинский университет, г. Владивосток;
НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова,
г. Москва, Россия*

Пневмококковая инфекция является актуальной проблемой медицины в связи с формированием антибиотикорезистентных штаммов и способностью пневмококков вызывать заболевания даже у лиц с нормально функционирующей иммунной системой, а также наличием у *Str. Pneumoniae* ряда факторов, способствующих ускользанию от действия эффективных механизмов защиты. Поэтому на сегодняшний день оправдана программа профилактики пневмококковой инфекции при помощи единственной зарегистрированной в России вакцины «пневмо23».

Целью работы явилось изучение специфического иммунного ответа у людей с бронхолегочной патологией разных возрастных групп для сравнения напряженности гуморального ответа, а, следовательно, и эффективности вакцинации.

Материалы и методы. Вакцинация проведена по стандартной схеме вакциной «пневмо23» (Авентис Пастер, Франция). Исследуемые группы: первая – молодой возраст: 18-23 лет, вторая – люди зрелого возраста, 45-55 лет. Диагноз внебольничной пневмонии был у 57,1% и хронический обструктивный бронхит – у 42,9% пациентов. Уровень специфических антител класса IgM и IgG к полисахаридам 4 серотипов пневмококка и к группе полисахаридов вакцины «пневмо23» определен с помощью метода ИФА на базе НИИВС им. Мечникова.

Результаты и выводы. Все больные ответили на вакцинацию увеличением уровня антител обоих классов к полисахаридам используемой вакцины «пневмо23». Были также определены антитела к полисахаридам ТЗ, 6В, 9Н и 23F- серотипов пневмококка. Достоверных различий в фактических цифрах в 2-х исследуемых группах обнаружено не было. Однако мы выявили несколько неоднозначных результатов: уровень антител к серотипу ТЗ класса IgG через месяц после вакцинации возрастал в несколько раз (превышение по сравнению с оптической плотностью отрицательного контроля, и что важнее, с уровнем антител до вакцинации) в I группе у большего количества больных – 71,4% против 14,2% из второй. А уровень IgM к сероварианту ТЗ определен на высоком уровне (в сравнении с контролем и уровнем антител до вакцинации) во второй группе у 57,1%, в первой у 42,8%.

Также, у лиц молодого возраста мы наблюдали более быстрое формирование IgG-антител, в большинстве слу-

чаев уже на достаточно высоком уровне через месяц после вакцинации. У старшего поколения IgG- антитела в протективном уровне обнаружены в большем проценте через 6 мес. после вакцинации.

Таким образом, иммунологическая эффективность вакцинации доказана в обеих возрастных группах. Однако, у лиц старшей возрастной группы регистрируется замедленный вариант формирования специфического иммунного ответа.

ВЕГЕТАТИВНЫЕ РАССТРОЙСТВА КАК ПРИЧИНА СНИЖЕНИЯ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ И РОТОГЛОТКИ У ПОДРОСТКОВ

¹Карповская Е.Б., ²Левин М.Я., ²Пачкорья М.Г.,
³Косицкая Л.С.

¹Санкт-Петербургская педиатрическая медицинская академия; ²СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; ³НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, Россия

В структуре заболеваний сердечно-сосудистой системы у подростков 75% составляют расстройства вегетативной сердечной деятельности. По МКБ (Х пересмотра) эти расстройства относятся к соматоформной вегетативной дисфункции. В России принят термин «нейроциркуляторная дистония» (НЦД), который используется для обозначения соматоформной вегетативной дисфункции, протекающей преимущественно с кардиоваскулярными расстройствами. У подростков НЦД часто сочетается с очагами хронической инфекции (ОХИ), частота выявления которых достигает 40%.

Целью исследования явилось исследование состояния местного иммунитета полости рта у подростков с очагами и без очагов хронической инфекции (до и после лечения).

В задачи исследования входило: а) исследовать состояние местного иммунитета полости рта у подростков с НЦД и НЦД в сочетании с ОХИ; б) оценить динамику показателей местного иммунитета у подростков после санации ОХИ (воспалительные заболевания пародонта, хронический тонзиллит); в) установить причинно-следственные связи между вегетативными расстройствами и хронической очаговой инфекцией.

Материалы и методы: нами обследовано 100 подростков мужского пола (от 16 до 21 года). По результатам обследования пациенты были разделены на 2 группы – подростки с НЦД без ОХИ (33 чел.), подростки с НЦД в сочетании с ОХИ (67 чел.). Диагноз НЦД устанавливался на основании клинического течения заболевания и с помощью ритмографического исследования с использованием функциональной (дыхательной) пробы, что позволило выявить вегетативную дисфункцию и установить характер вегетативных расстройств. Все пациенты осматривались отоларингологом и стоматологом для выявления ОХИ. Иммунологическое обследование включало определение показателей местной иммунной защиты (уровень лизоцима и иммуноглобулинов sIgA, IgG, IgM ротовой жидкости). Повторное исследование проведено 14 подросткам второй группы после санации ОХИ через 6-8 месяцев.

Основные результаты. У подростков 1 группы определялось снижение уровня лизоцима слюны по сравнению с контролем (соответственно $77,03 \pm 6,49$ и $85,8 \pm 0,5\%$), однако, различия оказались статистически недостоверны-

ми ($p > 0,05$), у подростков второй группы уровень лизоцима достоверно ниже ($59,97 \pm 4,79\%$), как по сравнению с контролем, так и по сравнению с подростками 1 группы ($p < 0,05$). Уровень sIgA в ротовой жидкости как у подростков первой так и второй групп существенно не отличался от контрольной группы (соответственно $45,9 \pm 3,8$, $40,85 \pm 7,3$ и $37,9 \pm 2,0$ мкг/мл при $p > 0,05$). Наблюдалось достоверное увеличение уровня IgG у подростков 1 и 2 групп по сравнению с контролем (соответственно $1,11 \pm 0,05$, $2,36 \pm 0,2$ и $2,23 \pm 0,05$ мкг/мл при $p < 0,01$). Уровень IgM оказался достоверно ниже у подростков 1 и 2 групп по сравнению с контролем (соответственно $0,97$, $0,76$ и $1,46$ мкг/мл при $p < 0,01$). После санации очагов хронической инфекции через 6 месяцев в показателях местной иммунной защиты ротовой полости и ротоглотки практически значимых изменений по сравнению с исходными данными и контролем не обнаружено.

Заключение. Представленные материалы показывают, что гуморальные сдвиги местной иммунной защиты ротоглотки и ротовой полости при НЦД, являются следствием этого заболевания, и существуют независимо от наличия очагов инфекции, являясь фактором риска их возникновения.

ЭКСПРЕССИЯ мРНК ХЕМОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

**Карпушенкова О.В., Сысоев К.А.,
Маслянский А.Л., Чухловин А.Б., Тотолян Арег А.**

*Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И.И. Павлова;
Санкт-Петербургский государственный
технологический институт,
Санкт-Петербург, Россия*

Ревматоидный артрит (РА) – хроническое системное заболевание соединительной ткани, при котором в результате иммуновоспалительного процесса преимущественно поражаются периферические суставы с развитием в них эрозивно-деструктивных изменений. Деструкция обусловлена избыточной продукцией протеолитических ферментов лейкоцитами, инфильтрирующими сустав. Система хемокинов – пептидов, обеспечивающих привлечение лейкоцитов различных классов в очаг воспаления, в этой связи является перспективным объектом исследования. В данной работе было изучено относительное содержание мРНК IL-8, MIP-1 β и RANTES в синовиальной жидкости.

Материалы и методы. Было обследовано 34 пациента: 20 – с ревматоидным артритом и 14 – с реактивным артритом (РеА) – группа сравнения. Из синовиальной жидкости пациентов выделяли РНК, проводили обратную транскрипцию, после чего полученную кДНК подвергали ПЦР. Оценка результатов осуществлялась после электрофореза в 2% агарозном геле с бромистым этидием. Полуколичественную оценку уровней экспрессии каждого из хемокинов в условных единицах проводили с помощью программы Gel-Pro относительно бета-актина (контрольный ген).

Результаты. В группе пациентов с РА по сравнению с пациентами с РеА наблюдался достоверно повышенный уровень содержания мРНК MIP-1 β ($38,2 \pm 16,2$ и $11,1 \pm 17,5$, $p < 0,001$) и RANTES ($47,4 \pm 16,7$ и $12,4 \pm 17,4$, $p < 0,001$). Содержание мРНК IL-8 не отличалось у пациентов двух групп. Кроме того, в группе пациентов с РеА наблюдаются высоко достоверные положительные кор-

реляции между содержанием мРНК IL-8 и MIP-1 β , RANTES и MIP-1 β ($r = 0,8$, $p < 0,001$; $r = 0,7$, $p < 0,001$). Указанные различия свидетельствуют о значительной роли CC-хемокинов MIP-1 β и RANTES в патогенезе РА. Наличие корреляций между содержанием мРНК хемокинов в группе пациентов с РеА отражает одинаковую направленность продукции IL-8, MIP-1 β и RANTES при данной патологии. Отсутствие подобных взаимосвязей при РА означает независимость экспрессии изученных CC и CXC хемокинов в синовиальной жидкости обследованных пациентов.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА У ЛИЦ С ХРОНИЧЕСКИМ ГАЙМОРИТОМ

Коленчукова О.А., Чижмотря Н.М., Парилова О.В.

*ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,
Красноярск, Россия*

Острый гайморит является наиболее частым осложнением острой респираторной вирусной инфекции. Хронический гайморит стоит на одном из первых мест среди хронических заболеваний ЛОР органов. В ряде случаев гаймориты отличаются упорным течением и трудно поддаются консервативному лечению. Наблюдается тенденция к росту числа хронических гайморитов, затяжным течением обострений и малой эффективностью антибактериальной терапии.

Общая тенденция к росту воспалительных заболеваний слизистой оболочки носа и околоносовых пазух тесно связана со снижением иммунореактивности населения.

Целью исследования являлось изучение особенностей иммунного статуса у лиц с хроническим гайморитом в стадии обострения.

Исследование клеточного и гуморального звеньев иммунной системы проведено у лиц в возрасте от 20 до 45 лет с диагнозом хронический гайморит в стадии обострения. В качестве группы контроля служили практически здоровые люди, не состоявшие на диспансерном учете по поводу каких-либо заболеваний, не болевшие последние 1,5-2 месяца и не имевшие прививок в течение предыдущих двух месяцев. Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD16, CD72, HLA-DR (ТОО «Сорбент» г. Москва). Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови оценивали методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови изучали методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле.

В результате исследования обнаружено, что у лиц с хроническим гайморитом наблюдалось увеличение концентрации лейкоцитов и процентного содержания CD72⁺-лимфоцитов. При этом выявлено снижение процентной и абсолютной концентрации лимфоцитов и процентного и абсолютного содержания CD4⁺-лимфоцитов, а также иммунорегуляторного индекса по сравнению с группой контроля.

При исследовании гуморального звена иммунной системы у лиц с хроническим гайморитом обнаружено достоверное увеличение показателей, характеризующих относительный уровень синтеза Ig А, М и G, а также концентрации Ig А и М в сыворотке крови относительно группы контроля.

Таким образом, у лиц, страдающих хроническим гайморитом в стадии обострения, обнаружено увеличение показателей гуморального звена иммунитета. Поскольку одной из ведущих причин развития патологического процесса в слизистой оболочке полости носа и околоносовых пазух остается бактериальный фактор, поэтому увеличение концентрации Ig класса А и М в сыворотке крови, появляющихся на первом этапе иммунного ответа при бактериальных инфекциях, вполне логично при данном заболевании. При этом иммунологическая реактивность клеточного звена снижена, что говорит о некотором дисбалансе компонентов иммунной системы.

УРОВЕНЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И АНТИТЕЛ РАЗНЫХ ИЗОТИПОВ В СЫВОРОТКЕ И СЛЮНЕ ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ

Краснопрошина Л.И., Сходова С.А., Панурина Р.Л.

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

В практике отечественного здравоохранения широко применяются терапевтические бактериальные вакцины, которые вводятся местно-интраназально и перорально. Эти вакцины способны создавать «иммунитет входных ворот», предотвращая размножение патогенных микроорганизмов в слизистой оболочке и их проникновение в другие ткани. Широко применяемые в настоящее время терапевтические бактериальные вакцины (бронхомунал, рибомунил, ИРС19) вводятся местно-интраназально-орально, на слизистые оболочки, поэтому они получили название «мукозных» вакцин. При оценке их действия основное внимание уделяется уровню IgA и sIgA, но в секретах в небольших количествах присутствуют IgG и IgM.

В настоящей работе было проведено изучение уровня иммуноглобулинов изотипов IgM, IgG, IgA в сыворотке и слюне часто болеющих детей в возрасте от 4 до 7 лет, находившихся на лечении в детском санатории. Одновременно в сыворотке и слюне определяли титры антител разных изотипов к антигенам *S.aureus* и *Kl.pneumoniae* методом ИФА с использованием соответствующих антител к изотипам IgM, IgG, IgA. Установлено, что содержание IgG в сыворотке было в пределах возрастной нормы; уровень IgM – повышен, а уровень IgA – снижен. Повышение IgM могло быть связано с наличием воспалительного процесса в носоглотке. При этом было отмечено, что уровень антител к *S.aureus* IgM – класса был самым высоким по сравнению с уровнем IgG антител и IgA-антител (logI обратных титров – 5,6; 5,2; 4,1 соответственно). Уровень антител к *Kl.pneumoniae* IgM класса был также выше, чем уровень IgA и IgG – антител, но в данном случае уровень IgA превосходил уровень IgG (logI обратных титров 7,1; 5,6 и 4,0 соответственно). Уровень иммуноглобулинов в слюне был следующим – sIgA-300; IgA – 43; IgM – 10,7; IgG – 16,4 мкг/мл. Высокий уровень sIgA, наличие IgM, по-видимому, также связано с воспалительным процессом в носоглотке. Титр определяемых в слюне антител к *S.aureus* IgA-класса был выше по сравнению с титром IgM и IgG – антител, но таковые все же определялись. К антигену *Kl.pneumoniae* титр IgA антител в слюне был значительно выше, чем титр IgM антител, а IgG-антитела не определялись. По-видимому, на уровень антител к условнопатогенным бактериям и их принадлежность к изотипам оказывает влияние длительность колонизации слизистых, наличие воспалительных процессов в носоглотке.

НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ИММУНИТЕТА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЕГКИХ

Маркелова Е.В.

*Владивостокский государственный университет,
ДВ научный центр ДВФ ГУ НИИКИ СО РАМН,
г. Владивосток, Россия*

Введение. Заболевания органов дыхания в значительной степени обуславливают ограничение трудоспособности взрослого населения экономически развитых стран, уступая только заболеваниям сердечно-сосудистой системы. Не теряет актуальности необходимость дальнейших исследований, направленных на уточнение отдельных звеньев патогенеза неспецифических заболеваний органов дыхания, в частности, изучение системы местной защиты легких, от состояния которой во многом зависит резистентность органов дыхания к воздействию патогенных факторов. Дисфункция в системе местного клеточного и гуморального иммунитета органов дыхания является важным патогенетическим механизмом развития пневмонии. Критериями воспалительного процесса в легких считают уменьшение содержания альвеолярных макрофагов, увеличение числа нейтрофилов, дистрофические изменения в клетках, нарушается уровень и соотношение популяций и субпопуляций лимфоцитов. Однако исследование состояния мукозального иммунитета проводят с использованием материала эндобронхиальной биопсии и бронхоальвеолярнолаважной жидкости (БАЛЖ), забор которых требует специального оборудования, квалификации и относят к инвазивным методам исследования.

Цель работы: оценить возможность использования неинвазивных методов для оценки состояния местного иммунитета органов дыхания.

Материалы и методы: проведено сравнительное исследование БАЛЖ, жидкости назального лаважа (ЖНЛ), индуцированной мокроты (ИМ) и конденсата выдыхаемой влаги (КВВ) у больных с внебольничной пневмонией (ВП – 25 чел.) с нозокомиальной пневмонией (НП – 17 чел.), туберкулезом легких (10 чел.), бронхиальной астмой (12 чел.) и здоровых доноров (10 чел.). Исследован клеточный состав (БАЛЖ, ЖНЛ, ИМ), уровень иммуноглобулинов М, G, A, E; содержание цитокинов – IL-8, IL-4, IL-10, IFN γ , стабильных метаболитов оксида азота.

Результаты исследований. Установлено, что для оценки клеточного состава и его характеристики возможно применение исследований индуцированной мокроты. Коэффициент корреляции при разной патологии от 0,68–0,8 ($p < 0,05$). Для оценки цитокинового профиля и уровня иммуноглобулинов E целесообразно использовать КВВ с предварительной концентрацией (патент на изобретение № 2222015 от 29.01.2004), определение метаболитов NO и иммуноглобулинов основных классов (IgM, A, G) возможно в КВВ (корреляция с результатами в БАЛЖ $r = 0,72-0,84$; $p < 0,01$). Количественная и качественная характеристика клеточного состава ИМ и диагностика метаболитов оксида азота, учитывая воспроизводимость и низкую затратность, могут быть рекомендованы для широкого внедрения в практическое здравоохранение для оценки качества терапии.

Таким образом, конденсат выдыхаемой влаги и индуцированная мокрота могут быть использованы в качестве материала для выполнения иммунологических методов оценки состояния мукозального иммунитета у больных с

заболеванием легких. Внедрение в клиническую практику неинвазивных диагностических технологий позволит не только улучшить диагностику, но и осуществлять мониторинг течения воспалительного процесса с оценкой эффективности проводимой терапии.

ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ОЦЕНКИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КОЖИ

**Мельникова Е.В., Юцковская Я.А., Метляева Н.Б.,
Кусая Н.В., Маслова Е.В.**

*Владивостокский государственный медицинский
университет, Владивосток, Россия*

Кожа – пограничная ткань, которая является барьером для проникающих в организм чужеродных агентов, патогенов. Доказано, что она служит не только местом реализации иммунологических процессов, но и активно участвует в них, выполняя одновременно роль центрального и периферического органа иммуногенеза. В коже присутствуют все иммунокомпетентные клетки, в том числе Т- лимфоциты и АПК. В нормальных условиях, когда кожные покровы не повреждены, отсутствуют воспалительные и опухолевые процессы, содержание клеток иммунной системы минимально. При патологических процессах содержание специализированных клеток иммунной системы локально увеличивается за счет их миграции из кровеносного русла и местного размножения. Кроме того, сами эпителиальные клетки, образующие эпидермальный барьер клетки, кератиноциты, активируясь приобретают многие черты, свойственные макрофагам. В следствии их активации и выработки хемокинов и цитокинов развивается местный воспалительный процесс, в который вовлекаются элементы дермы и лейкоциты, мигрирующие из кровотока. Воспалительная реакция развивается в дерме, хотя первичные сигналы к ее началу поступают из эпидермиса. Иммунологически значимые клетки кожи способны обеспечить локальную защиту от патогенов и включение системных иммунных процессов, направленных на их удаление из организма.

Локальные процессы воспаления при акне инициируются разными механизмами. Установлено, что ведущую роль в его возникновении играют такие факторы, как фолликулярный гиперкератоз, повышение активности сальных желез, размножение *Propionibacterium acnes*, наследственная предрасположенность, дисбаланс гормонов. Все вышеперечисленные факторы в той или иной мере важны для развития воспалительного процесса, но выраженность этого процесса зависит от степени нарушений местного иммунитета.

Целью нашего исследования явилось определение уровня цитокинов (IL-13 и GM-CSF в смывах с кожи лица) у пациентов, страдающих акне.

Материалы и методы: проведено клинко-иммунологическое обследование 26 пациентов. Обследованы мужчины и женщины, страдающие разными формами акне легкой, средней, тяжелой и крайне тяжелой степени тяжести. Определен уровень IL-13 и GM-CSF в смывах с кожи лица иммуноферментным методом с использованием реактивов «R & D diagnostics Inc» (США). Контролем служили смывы здоровых добровольцев.

Основные результаты. Оценив уровень IL-13 в смывах, отмечено, что результаты гетерогенны. Содержание

IL-13 варьировало от 19,08 пг/мл до 619,26 пг/мл и составило в среднем $218,05 \pm 30,85$ пг/мл. Исследуя показатели IL-13, с учетом формы заболевания, выявлено, что самые высокие показатели отмечались в группе пациентов с узловато-конглобатными высыпаниями и составляли 267,84 пг/мл. При анализе результатов по степени тяжести заболевания существенных различий установлено не было.

Содержание GM-CSF в смывах с кожи лица варьировало от 0,51 пг/мл до 475,23 пг/мл и в среднем составило $27,21 \pm 4,92$ пг/мл против $19,08 \pm 1,4$ пг/мл у здоровых людей. Исследовав показатели GM-CSF с учетом формы заболевания, было установлено, что самые высокие показатели определялись при узловато- конглобатной форме и составляли 475,23 пг/мл. В то время как при камедогенной и папуло-пустулезной форме показатели не значительно превышали норму и составили $27,24 \pm 12,83$ и $36,46 \pm 11,14$ соответственно.

Уровень GM-CSF в слюне варьировал от 0,4 пг/мл до 16,19 пг/мл и составил в среднем $3,86 \pm 0,75$ пг/мл против 0,13 пг/мл у здоровых людей. Анализируя результаты, учитывая степень тяжести и форму заболевания, значительных отличий в разных группах выявлено не было.

Таким образом, установлено усиление локальной секреции GM-CSF и IL-13 у больных с акне, особенно при узловато-конглобатной форме. Дальнейшие исследования позволят уточнить степень и механизмы нарушений локального иммунитета при угревой болезни.

СВЯЗЬ СОСТОЯНИЯ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ С ВЫРАЖЕННОСТЬЮ ВОСПАЛЕНИЯ В ПАРОДОНТЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПЕРИОДОНТИТЕ

**Орехова Л.Ю., Кудрявцева Т.В., Косицкая Л.С.,
Осипова В.А.**

*НПЦ стоматологического факультета СПбГМУ
им. акад. И.П. Павлова;
НИИ экспериментальной медицины РАМН,
Санкт-Петербург, Россия*

Снижение уровня местной иммунной защиты ротовой полости является фактором, способствующим развитию и хронизации воспалительных процессов в пародонте.

Задача настоящего исследования – установить, связаны ли и в какой степени объем поражения тканей пародонта при ВЗП в сочетании с хроническим периодонтитом с уровнем местной гуморальной защиты ротовой полости.

Материалы и методы.

Обследовано 80 больных с воспалительными заболеваниями пародонта в сочетании с осложненным кариесом и 20 контрольных лиц без стоматологических заболеваний. Среди больных ВЗП в сочетании с осложненным кариесом 40 человек имели пародонтит легкой степени тяжести (I группа), II группу составили 40 человек с пародонтитом средней и тяжелой степени.

В ротовой жидкости обследованных выявляли активность лизоцима в бактерицидном тесте с *Micrococcus luteus* и определяли содержание иммуноглобулинов в ИФА. Результаты выражали в мкг глобулина на 1 мг белка ротовой жидкости.

Результаты: Показатели активности лизоцима в контрольной группе составили $85,9 \pm 1,2\%$, при этом ни разу не было отмечено снижение активности фермента ниже 70%.

У больных I группы активность лизоцима была снижена до $68,4 \pm 1,4\%$. Во II группе – до $53,0 \pm 2,4\%$. Соответственно, 69,0% и 71,4% больных характеризовались низкими уровнями активности лизоцима.

Уровень sIgA составил в контрольной группе $37,9 \pm 2,0$ мкг/мл, в I группе $32,9 \pm 1,7$ мкг/мл, во II группе $53,5 \pm 2,5$ мкг/мл. Соответственно, 82,8% больных I группы имели уровень sIgA ниже 40 мкг/мл, во II группе такие лица составили только 28,0%. Уровень IgG в I группе был повышен до $2,36 \pm 0,16$ мкг/мл, во II – до $2,70 \pm 0,2$ мкг/мл против $2,0 \pm 0,28$ в контроле. Содержание в ротовой жидкости IgM в I группе не отличалось от контроля, во II группе составило $3,1 \pm 0,5$ мкг/мл против $1,4 \pm 0,17$ мкг/мл в контроле.

Таким образом, было показано, что у больных ВЗП в сочетании с осложненным кариесом имеются отклонения показателей местной защиты ротовой полости от контроля. Особенно это касалось снижения активности основного защитного фактора – лизоцима, уровень которого был снижен. При более тяжелых формах ВЗП (II группа) изменения более выражены, чем при легких формах.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ И ОКСИДА АЗОТА В МОЧЕ ПРИ ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

Перевертень Л.Ю., Маркелова Е.В.

Владивостокский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

Введение: Заболеваемость геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС), обусловленной серотипом хантавируса Сеул, во Владивостоке достаточно высока и регистрируется ежегодно. Поражение почек является постоянным проявлением этой инфекции, но отличается атипичным и, порой, скрытым течением. Иммунопатогенез почечного синдрома при ГЛПС мало изучен. Отсутствие прямого цитопатогенного действия этиологического фактора, хантавируса, считается общепризнанным фактом, а его патогенность определяется особыми взаимоотношениями с иммунной системой организма хозяина. Иммунный ответ на внедрение вирусов индуцируется цитокиновыми реакциями, в регуляции которых ведущую роль играют IL-12 и IL-10. Эти цитокины по-разному влияют на секрецию оксида азота (NO) мезангиальными клетками почек, который обладает высокой цитотоксичностью в отношении как вируса, так и почечной ткани.

Цель и задачи: Охарактеризовать значение цитокинов и NO в развитии почечного синдрома при ГЛПС путем исследования локального синтеза IL-12p70, IL-12p40, IL-10 и метаболитов NO в почках с оценкой взаимосвязей между локальной продукцией этих медиаторов воспаления и тяжестью повреждения почек.

Материалы и методы. Количество цитокинов измерялось в супернатанте мочи у 50 больных ГЛПС методом сэндвич-варианта твердофазного ИФА с использованием реактивов фирмы «R&D, Diagnostic, Inc» (USA) с чувствительностью 1 пг/мл, а уровень метаболитов NO определялся спектрофотометрически по реакции Грисса. Исследование проводилось в ранний период ГЛПС (1-10 день) и в динамике на 11-21 дни болезни.

Основные результаты. Среднее количество IL-12p70 в моче в раннюю стадию ГЛПС в общей группе больных составило $5,48 \pm 1,16$ пг/мл. При тяжелом течении IL-12p70 был в 3,4 раза ниже, чем при ГЛПС средней степени тяжести, а при легком – уровень IL-12p70 в моче достоверно не отличался от показателей тяжелых больных. В поздний период ГЛПС при среднетяжелом течении наблюдалась тенденция к снижению уровня IL-12p70 в моче, а у больных с тяжелой формой не отмечено достоверной динамики IL-12p70, в то время как у пациентов с легкой ГЛПС зафиксирован рост данного показателя в 2 раза. Выявлена слабая обратная корреляционная связь между уровнем IL-12p70 в моче и креатинином ($r = -0,23$, $p < 0,05$) и мочевиной крови ($r = -0,21$, $p < 0,05$) в ранний период ГЛПС, свидетельствующая о благоприятном влиянии этого цитокина на проявления острой почечной недостаточности. Показатели IL-12p40 в моче в раннюю стадию у больных с тяжелой и со среднетяжелой формами ГЛПС достоверно не отличались, в то время как при легком течении обнаружен более высокий уровень IL-12p40 в моче. Между уровнями IL-12p70 и IL-12p40 в моче больных в ранний период ГЛПС выявлена прямая средней силы корреляционная связь ($r = 0,64$, $p < 0,01$), что подтверждает контролирующую функцию IL-12p40 по отношению к биоактивному димеру IL-12. В поздний период ГЛПС в группах тяжелых и среднетяжелых больных не установлено изменений уровня IL-12p40 по сравнению с ранней стадией, а при легком течении уровень белка p40 снизился в 5,2 раза. Определена прямая слабая корреляционная связь между уровнем IL-12p40 в моче и креатинином ($r = 0,22$, $p < 0,05$) и мочевиной крови ($r = 0,29$, $p < 0,05$) в раннюю стадию ГЛПС, что можно объяснить уменьшением интенсивности реакций клеточного иммунитета по уничтожению хантавируса в результате подавления эффектов IL-12p70 и усугублением острой почечной недостаточности.

Содержание IL-10 в моче больных ГЛПС в ранний период составило $27,0 \pm 1,3$ пг/мл и не отличалось от показателей группы контроля ($32,7 \pm 2,4$ пг/мл, $p > 0,05$), лишь в тяжелом течении IL-10 в моче был ниже ($23,7 \pm 2,0$ пг/мл), чем в группе здоровых доноров. В поздний период болезни только при тяжелом течении отмечалось увеличение IL-10 в моче ($33,9 \pm 6,8$ пг/мл), а у пациентов со среднетяжелой и легкой формами динамика этого показателя в моче не зафиксирована. В ранний период ГЛПС уровни IL-12p70 и IL-12p40 в моче не коррелировали с количеством IL-10 ($p = 0,22$, $p = 0,23$ соответственно). Однако, в динамике болезни выявлена прямая сильная корреляционная связь между содержанием IL-10 и IL-12p70 в моче ($r = 0,8$, $p < 0,05$).

Среднее содержание метаболитов NO в моче больных ГЛПС в ранний период болезни ($7,88 \pm 0,76$ мкМ/л) превысило показатели группы контроля ($4,7 \pm 0,46$ мкМ/л) в 1,7 раз, причем не отмечено разницы в группах больных с разной тяжестью течения ГЛПС. В динамике болезни показатель метаболитов NO в моче больных с тяжелым и со среднетяжелым течением ГЛПС достоверно не менялся, лишь при легкой форме инфекции отмечалось снижение экскреции метаболитов NO по сравнению с ранним периодом в 1,4 раза. Между показателями IL-10 и метаболитов NO в моче больных на ранней стадии ГЛПС выявлена достоверная обратная сильная связь ($r = -0,92$, $p < 0,05$), подтверждающая негативное действие этого цитокина в отношении синтеза нитрооксидных радикалов в почках.

Заключение: Установлено, что при ГЛПС в почках происходит локальный синтез цитокинов и метаболитов NO независимо от системного, что подтверждается отсутствием достоверной корреляционной связи между уровнями этих показателей в сыворотке крови и в моче больных как в раннюю, так и в позднюю стадии инфекции. Отношение IL-12p70/IL-12p40 в моче в ранний период ГЛПС при любой тяжести приближалось к 1/2, что указывает на преобладание белка p40 по сравнению с биоактивным димером IL-12 и его контролирующую функцию. В динамике инфекции данное соотношение изменялось лишь при легком течении и составляло 4/1, то есть превалирование IL-12p70 способствовало адекватному иммунному ответу и предупреждало развитие тяжелой почечной патологии. Уровень IL-10 в моче больных ГЛПС превышал количество IL-12p70, причем степень превышения, особенно в динамике болезни, отражала тяжесть течения инфекции: при тяжелой форме ГЛПС отношение IL-12p70/IL-10 составило 1/10, а при легкой – 1/3. Гиперпродукция IL-10 по сравнению с IL-12p70 в моче свидетельствует о недостаточной локальной стимуляции клеточного звена иммунитета, влияющей на тяжесть почечного синдрома. Продукция цитокинов и оксида азота в почках является показателем местных иммунных реакций на внедрение хантавируса, и демонстрирует развитие иммуноопосредованного повреждения этого органа.

ЛОКАЛЬНЫЙ КЛЕТОЧНЫЙ И ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ В НАЗОАССОЦИИРОВАННОЙ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ПРИ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ И ВАКЦИНАЦИИ

Петухова Г.Д., Баранцева И.Б., Донина С.А., Найхин А.Н.

НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Слизистая оболочка респираторного тракта является не только местом размножения вирусов гриппа, но и первым, наиболее значимым иммунным барьером на пути развития респираторной инфекции. Поэтому этот участок слизистой оболочки привлекает самое пристальное внимание иммунологов. Ранее изучение локального противовирусного иммунитета сводилось к количественному определению секреторных антител. Недавно японскими учеными разработана техника выделения у мышей назоассоциированной лимфоидной ткани (НАЛТ) – аналога кольца Пирогова-Вальдеера у людей. Данное обстоятельство послужило базисом для начала активного экспериментального изучения механизмов формирования не только гуморального, но и клеточного звена локального иммунитета к респираторным вирусам.

Цель исследования. В эксперименте на мышах изучить механизмы формирования локального иммунитета в НАЛТ при гриппозной инфекции и иммунизации живыми аттенуированными вирусами гриппа А.

Задачи исследования. Изучить гуморальный и клеточный иммунный ответ в НАЛТ на аттенуированный генетически реассортированный вирус гриппа А (аналог вакцинного штамма для живой гриппозной вакцины (ЖГВ)) и на его генетических родителей – патогенный вирус А/PR/8/34 (H1N1) и донор аттенуации А/Ленинград/47/57 (H2N2). Сравнить эти данные с результатами тестирования системного иммунного ответа.

Материалы и методы. Объект исследования: лимфоциты НАЛТ и селезенки, секреты респираторного тракта, сыворотки крови мышей. Методы исследования: ИФА (определение локальных и циркулирующих антител, а также Th1- и Th2-цитокинов), проточная цитофлуориметрия (распределение лимфоцитов по CD-маркерам, апоптоз лимфоцитов), реакция бласттрансформации (определение постстимуляционной пролиферативной активности лимфоцитов – ПАЛ).

Основные результаты. Аттенуированный генетический реассортант 2/6 (H1N1) (экспериментальный прототип вакцинного штамма для ЖГВ) не уступал патогенному родителю вирусу А/PR/8/34 (H1N1), воспроизводящему экспериментальную инфекцию, в активности стимуляции в НАЛТ локального гуморального и клеточного иммунитета (локальные IgA-, IgG- и IgM-антитела, ПАЛ, Th (CD4⁺), ЦТЛ (CD8⁺), В-клетки (CD 19⁺), IFN γ , IL-2, IL-6). Однако этот вирус проигрывал патогенному родителю в индукции сывороточных IgG-антител.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что принятый при производстве вакцинных штаммов для ЖГВ способ их аттенуации путем генетического реассортирования по формуле 2/6 сохраняет способность штаммов к активной стимуляции не только локального гуморального, но и локального клеточного иммунитета во входных воротах гриппозной инфекции. При этом количественные и качественные параметры поствакцинального и постинфекционного локального иммунитета вполне сопоставимы. Это важно, если учитывать, что в вакцинологии постинфекционный иммунитет является эталоном.

ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ И ИНФЕКЦИОННОМ ВОСПАЛЕНИИ

Просекова Е.В., Костюшко А.В., Суровенко Т.Н., Касснер Л.Н., Гущина Я.С., Маркелова Е.В.

ДВ научный центр, ДВ филиал ГУ НИИКИ СО РАМН, ГОУ ВПО ВГМУ, Владивосток, Россия

Введение. Бронхиальная астма и пневмония остаются одними из наиболее актуальных проблем клинической медицины. Исследование конденсата выдыхаемой влаги (КВВ) позволяет неинвазивным методом оценить вклад местных факторов иммунной защиты в патогенез заболевания.

Цель и задачи исследования. Изучить особенности местного иммунитета при воспалении дыхательных путей по уровню локальной секреции IgE, цитокинов IL-4, IL-8 и IFN γ , секреторного IgA, метаболитов NO и α_1 -кислого гликопротеина (α_1 -КГП) при бронхиальной астме (БА) и нозокомиальной пневмонии (НП).

Материал и методы. У больных БА (86 пациентов) и НП (74 пациента) в равных условиях проводили забор КВВ, далее концентрировали его путем лиофильной сушки, используя собственную модификацию. Контролем служил КВВ, полученный от 50 практически здоровых лиц. Уровни IL-4, IL-8, IFN γ , IgE, sIgA, и α_1 -КГП в КВВ определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, содержание метаболитов NO оценивали спектрофотометрическим методом.

Результаты. Проведенные исследования позволили установить достоверное увеличение концентрации IL-4 в КВВ больных БА по сравнению с контрольной группой

($5,64 \pm 1,58$ пг/мл и $1,34 \pm 0,06$ пг/мл соответственно). Нами зарегистрирован исходно высокий уровень IFN γ и у практически здоровых пациентов контрольной группы ($11,99 \pm 1,01$ пг/мл), и у больных ($10,34 \pm 1,83$ пг/мл). Интересные результаты получились при оценке соотношения этих оппозиционных цитокинов в КВВ: если у здоровых соотношение IL-4 / IFN γ было 1 / 10, то у больных БА доля IL-4 в конденсате значительно увеличивалась, и соотношение составляло 1 / 2. Уровень IL-8 был в десятки раз выше у больных НП ($270,5 \pm 1,33$ пг/мл) по сравнению с больными БА ($4,8 \pm 0,63$ пг/мл) и со здоровыми ($3,9 \pm 1,52$ пг/мл), что отражает особенности воспалительного процесса в легких. Содержание метаболитов NO у больных ($5,8 \pm 0,7$ мМ/мл у пациентов с БА и $6,2 \pm 0,6$ мМ/мл у пациентов с НП) было значительно выше, чем у пациентов контрольной группы ($2,81 \pm 0,32$ мМ/мл). Концентрация α_1 -КГП в КВВ больных также значительно превышала данные контрольной группы ($6,89 \pm 0,8$ нг/мл у здоровых, $15,3 \pm 0,3$ нг/мл при БА и $17,7 \pm 1,2$ нг/мл при НП). Уровень локальной секреции IgA у больных БА и НП оказался разнонаправленным: sIgA при БА был достоверно ниже, чем в контрольной группе ($4,78 \pm 1,15$ мг/мл и $10,58 \pm 0,64$ мг/мл соответственно), а при НП, напротив, достоверно выше ($20,1 \pm 0,6$ мг/мл). Содержание IgE в КВВ больных БА составило $64,3 \pm 4,1$ мг/мл, у пациентов НП и в контрольной группе определялись минимальные концентрации IgE в КВВ.

Выводы. Выраженное преобладание IL-4 над IFN γ отражает активацию Th $_2$ в БАЛТ с развитием IgE-опосредованного воспаления. Значительное увеличение IgE и IL-4 в КВВ свидетельствует об аллергическом воспалении, тогда как существенное нарастание sIgA и IL-8 – о неспецифическом характере воспалительного процесса в дыхательных путях.

ИНДУКЦИЯ ИНТЕРФЕРОНА И ДРУГИХ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ АТТЕНУИРОВАННЫМИ И ЭПИДЕМИЧЕСКИМИ ВИРУСАМИ ГРИППА В КЛЕТКАХ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА ЧЕЛОВЕКА

**Рекстин А.Р.¹, Кац Д.М.², Климов А.И.²,
Киселева И.В.¹, Руденко Л.Г.¹**

¹НИИ Экспериментальной медицины РАМН,
Санкт-Петербург, Россия; Центр
по контролю заболеваемости, Атланта, США

Живые гриппозные холодаадаптированные реассортантные вакцины являются эффективной мерой профилактики гриппа из-за их способности формировать сбалансированный гуморальный и клеточный иммунный ответ. Иммуногенность кандидатов в вакцинные штаммы может зависеть от способности реплицирующегося вируса индуцировать ответ провоспалительных цитокинов, с одной стороны, и относительной чувствительности аттенуированных вакцинных штаммов к антивирусному действию этих цитокинов, с другой.

Для оценки взаимосвязи факторов врожденного иммунного ответа с аттенуацией, а также для изучения вклада провоспалительных цитокинов в относительную иммуногенность живых аттенуированных гриппозных вакцин, был изучен профиль провоспалительных цитокинов, экспрессируемых клетками респираторного тракта человека после инфекции двумя группами реассортантов. Одна группа реассортантов была представлена однокон-

ными реассортантами, унаследовавшими по одному мутантному гену от холодаадаптированного аттенуированного вируса А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), а остальные семь сегментов генома от эпидемического штамма А/Ленинград/134/57 (H2N2). Другая группа реассортантов представляла собой вакцинные штаммы с формулой генома 6:2, унаследовавшие гены, кодирующие внутренние негликозилированные белки от холодаадаптированного донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), а гемагглютинин и нейраминидазу от современных эпидемических вирусов серотипов А(H1N1) и А(H3N2). Наряду с этим была изучена продукция цитокинов после инфекции родительскими эпидемическими штаммами и холодаадаптированным донором аттенуации.

Методы: Были использованы две клеточные линии: ТНР-1 (макрофаги легких) и А-549 (эпителий легких). 1×10^6 клеток инфицировали вирусами в течение 1 часа при различной множественности заражения. Клетки отмывали и культивировали в 24-луночных панелях для культур клеток при перmissive температуре 34°C. После инкубации супернатанты собирали, уровни цитокинов исследовали с помощью наборов для ИФА (BD Biosciences, San Diego, CA). Интерферон в образцах определяли биологическим методом по торможению репродукции стандартной дозы индикаторного вируса энцефаломиокардита на культуре клеток Vero.

Результаты: В ответ на инфекцию вирусами гриппа макрофаги респираторного тракта экспрессировали значительные количества TNF α , IL-6, IFN α/β , в то время как эпителиальные клетки продуцировали в основном IL-6, IFN α/β и незначительные количества TNF α . Продукция цитокинов имела выраженный дозозависимый характер. Включение мутантных полимеразных генов в состав дикого вируса приводило к снижению способности стимулировать ответ провоспалительных цитокинов, в то время как включение мутантных М и NS генов не оказывало существенного влияния на продукцию цитокинов. Вирусы гриппа серотипа А(H3N2) стимулировали ответ цитокинов более интенсивно по сравнению с вирусами гриппа А(H1N1). Дальнейшее изучение провоспалительных цитокинов, индуцируемых эпидемическими и холодаадаптированными вирусами гриппа, внесет вклад в раскрытие патогенеза гриппозной инфекции и обеспечит основу для селекции кандидатов в вакцинные штаммы с высокой иммуногенностью.

МЕСТНЫЙ ИММУНИТЕТ И КЛИНИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАРОДОНТИТЕ

Сафаров Р.Т.

ТашиИУВ, Ташкент, Узбекистан

Распространенность заболеваний пародонта по данным мировой литературы, в настоящее время достигает 98%, большая часть приходится на хронический пародонтит. Среди многих факторов, определяющих возможности его развития и течения, важнейшими является состояние местных факторов защиты ротовой полости.

Целью нашего исследования явилось изучение показателей местного иммунитета и их взаимосвязь с клиническим состоянием ротовой полости у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП).

Исследования проведены у 57 пациентов в возрасте 22-48 лет с ХГП легкой – 24 (42%), средней – 24 (42%) и тяжелой – 9 (16%) степени. В качестве контроля обследо-

дованы 20 человек со здоровым пародонтом. Показатели местного иммунитета ротовой полости определяли по уровню активности лизоцима, концентрации секреторного sIgA методом радиальной иммунодиффузии и активность спонтанных цитокинов сФУМ в образцах слюны. Активность спонтанных сФУМ и сФСМ определяли биологическим тестированием слюны (по 50 мкл) в микромодификации РТМЛ по капиллярам с определением индекса миграции (ИМ) лейкоцитов донора (клеток мишеней) и индекса угнетения миграции (ИУМ). Для оценки клинического состояния пародонта определяли степень подвижности зубов, глубину пародонтальных карманов (ПК), рассчитывая индекс гигиены (ИГ) и папиллярно-альвеолярно-маргинальный индекс (ПАМ).

У больных ХГП при оценке клинических признаков заболевания было установлено значительное повышение (в 2 – 3,5 раза) по сравнению с нормой показателей ИГ и ПАМ. Так, у больных ХГП легкой степени они оказались равными $2,1 \pm 0,19$ и $50, \pm 0,3, 20$ соответственно, при средней степени тяжести – $2,9 \pm 0,14$ и $65,0 \pm 2,91$ и при тяжелой степени $3,9 \pm 0,14$ и $80,3 \pm 0,50$ против $1,1 \pm 0,15$ и $30,3 \pm 0,50$ в контроле.

Наши исследования показали связь состояния местного иммунитета и степени тяжести патологического процесса. Активность лизоцима, концентрация sIgA слюны в группе с легким течением ХГП не отличались от контроля ($P > 0,05$), но активность сФУМ увеличилась на 46% (при ИУМ=19% против 13% в контроле). При ХГП средней степени выявлено достоверное снижение как активности лизоцима (на 29%), так и содержания sIgA (на 46% при $P < 0,05$), но повышение сФУМ в 2 раза по сравнению с контролем. При ХГП тяжелой степени активность лизоцима и sIgA были ниже контрольных значений на 54%, тогда как сФУМ оказалось повышенным в 2,5 раза (при ИУМ=32% против 13% в контроле).

Проведенное исследование состояния местного иммунитета, показало, что активность лизоцима, sIgA и сФУМ отражают степень тяжести ХГП. При этом, если уровни первых двух показателей коррелируют между собой и снижение их отражает тяжесть ХГП, то активность сФУМ нарастает с тяжестью патологического процесса.

Изменение активности спонтанного сФУМ наряду с sIgA и активностью лизоцима, может служить диагностическим показателем местного иммунитета, отражающим степень тяжести воспалительного процесса в пародонте.

ОСОБЕННОСТИ МЕСТНОГО ИММУННОГО СТАТУСА ПОЛОСТИ РТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ И ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

Серебряная Н.Б., Ковалевский А.М.,
Иорданишвили А.К., Гайворонская В.В.,
Гайворонский И.В., Пасхина М.Н.,
Ветушко В.Д., Чешкова М.А.

Военно-медицинская академия,
Санкт-Петербург, Россия

Ранее проведенные эпидемиологические исследования выявили высокую распространенность и интенсивность заболеваний пародонта у лиц, подвергающихся в ходе профессиональной деятельности воздействию общей вибрации – вертолетчиков, экипажей самолетов транс-

портной авиации, кораблей на воздушной подушке, железнодорожников-машинистов и помощников машинистов поездов.

С целью изучения состояния местного иммунитета полости рта при хроническом генерализованном пародонтите (ХГП) на фоне длительного воздействия общей вибрации произведено иммунологическое обследование 13 вертолетчиков, больных ХГП (в том числе 9 человек с заболеванием легкой и 4 - среднетяжелой степени) и также 5 здоровых людей.

Определяли в ротовой жидкости (РЖ) и жидкости зубодесневых карманов (ЖДК) содержание иммуноглобулинов классов А, М, G, секреторного иммуноглобулина А (sIgA), секреторного компонента, подклассов Ig G (1–4) с помощью иммуноферментных тест-систем ЦНИИ-РИ (СПб), цитокинов IL-4, IL-8, TNF, INF γ , IL-1Ra с применением наборов ТОО «Цитокин» и «Протеиновый контур» (СПб). При статистической обработке о достоверности различий судили на основании t-критерия Стьюдента, f-критерия Фишера, критерия χ^2 для качественных признаков.

Результаты исследования свидетельствуют, что активность воспалительного процесса в пародонте проявляется повышенной концентрацией IgM в РЖ, снижением (вплоть до отсутствия) содержания INF γ в РЖ и уменьшением - в ЖДК. По мере прогрессирования воспалительного процесса в ЖДК повышается концентрация TNF и появляется IL-8, присутствие которого нехарактерно при легкой степени ХГП. О тяжести заболевания свидетельствует появление секреторного компонента в ЖДК.

Установлено наличие прямой достоверной связи между степенью тяжести ХГП и концентрацией sIgA в РЖ и обратной связи между степенью тяжести ХГП и содержанием INF γ в РЖ. Концентрация иммуноглобулинов в РЖ достоверно коррелирует с концентрацией IL-8. Для иммунологических параметров ЖДК показана прямая коррелятивная связь IL-8 с теми же параметрами гуморального иммунитета (IgA, sIgA, IgM, секреторным компонентом). Кроме того, в ЖДК уровень IL-8 отрицательно связан с концентрацией INF γ . Это свидетельствует, что активность воспалительного процесса ведет к ингибированию Th-1 ответа.

Изучается возможность фармакологической коррекции состояния местного иммунитета полости рта при хроническом генерализованном пародонтите на фоне длительного воздействия на организм вибрации путем общего применения адаптогена бемитила и местного – линимента 5% циклоферона.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ЛОКАЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ ПРИ HCV-ИНФЕКЦИИ

Скляр Л.Ф.

Владивостокский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

В иммуногенезе HCV-инфекции существенная роль отводится нарушению баланса Th1/Th2 цитокинов. Повреждение печеночной ткани с развитием фибротических и некротических изменений, связано с воспалительными процессами в ткани органа и уровнем продукции провоспалительных цитокинов. Как известно, реализация механизмов действия противовоспалительных цитокинов отличается их синергидным действием на клетку-мишень, в

связи с этим приобретает важность комплексная оценка стимулирующих и подавляющих эффектов основных про- и провоспалительных цитокинов в развитии патологического процесса. Поскольку цитокины являются локальными медиаторами, более целесообразно измерять их уровни в соответствующих тканях после экстракции тканевых протеинов или в естественных жидкостях.

Целью исследования явилось изучение содержания локальных цитокинов в проекции на важнейшие клинические симптомы с учетом лабораторных и морфологических параметров.

Объектом исследования были 15 пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС) в возрасте от 18 до 44 лет (84% мужчин). Диагностика ХГС складывалась из данных анамнеза, физикального обследования, определения уровня трансаминаз, маркеров вирусной инфекции, морфологических исследований. Анализировали содержание 8 цитокинов – IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, TNF α , IFN γ в супернатанте биоптата печени пациентов ХГС и здоровых доноров (5 человек). Всем пациентам выполнялась чрескожная пункционная биопсия печени иглой Менгини с получением столбика биоптата не менее 20 мм, от которого 2-3 мм субстрата гомогенизировали с добавлением физиологического раствора (5 мл), ресуспендировали и центрифугировали при 5000 об./мин на холоде в течение 10 мин. Полученный супернатант распределяли по 0,5 мл в пробирки, замораживали и хранили до использования при -76°C. Применяли метод твердофазного ИФА с использованием диагностических наборов (R&D Diagnostics Inc., USA) с чувствительностью 1 пг/мл.

Результаты исследования свидетельствовали о достоверном увеличении локального содержания IL-1 α , IL-4, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, TNF α и уменьшение уровней IL-2, IFN γ по сравнению с группой здоровых доноров. Концентрация IFN γ в супернатанте печени имела обратную зависимость от уровня IL-12p40 ($r=-0,98$, $p<0,01$), что указывает на гиперактивацию продукции IL-12p40 клетками макрофагально-моноцитарной системы, приводящую к недостаточной активации клеток Th1-го типа и сопровождающуюся поддержанием вирусной репликации и прогрессированием хронизации HCV-инфекции. При изучении коэффициентов корреляции между показателями содержания локальных цитокинов и выраженностью активности патологического процесса (ИГА), фиброза в печени установлено, что максимальная степень корреляционной связи зафиксирована с показателями IL-4, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, TNF α в группах со слабовыраженной и умеренной активностью ИГА от 4 до 12 баллов и фиброзом в умеренной и тяжелой стадии (F2, F3), что свидетельствует о выраженности воспалительной активности гепатоцитов. При этом в исследуемых группах выраженность гистологической активности на всех уровнях (ИГА от 1 до 12 баллов) сопровождалась значительным увеличением содержания локальных IL-4, IL-10, что возможно ведет к избыточной активации гуморальной составляющей иммунной системы с иммунопатологическими последствиями. Максимальная степень корреляции имела место между выраженностью цитолиза и концентрацией таких цитокинов как IL-10 ($R=0,99$, $p<0,001$) и IL-12p70 ($R=-0,85$, $p<0,001$). Локальный уровень IL-12p70 имел максимальное значение в группах с нормальными и минимальными значениями АЛТ (не более 2-х норм), а минимальные значения исследуемого цитокина зафиксированы в группах с ИГА=9-12 и F3. При этом коэффициент соотношения значений IL-12p70 к IL-12p40 в исследуемых группах имел тенденцию

к снижению по сравнению с группами, где наблюдались минимальные значения АЛТ и слабовыраженная степень повреждения гепатоцитов за счет значительного снижения концентрации IL-12p70. Учитывая, что последний цитокин обладает биологической активностью индуцировать сигнал активации, а IL-12p40 является конкурентным антагонистом рецептора IL-12, полученные результаты свидетельствуют о дефектах синтеза IL-12 у больных HCV-инфекцией.

РЕСПИРАТОРНАЯ АЛЛЕРГИЯ: ОСОБЕННОСТИ МЕСТНОГО И СИСТЕМНОГО ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ

Смирнова С.В., Зенкина Л.В., Игнатова И.А., Кадричева С.Г.

Красноярская государственная медицинская академия; ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, Красноярск, Россия

Бронхиальная астма (БА) – гетерогенное заболевание, которое часто сочетается с риносинуситом, что дало основание рассматривать их как единую аллергическую болезнь респираторного тракта (one way, one disease, allergic rhinobronchitis). Но независимо от патогенетической основы респираторной аллергии (истинного аллергического, либо псевдоаллергического генеза), общим диагностическим критерием со стороны респираторного тракта является воспаление. В процессе формирования и регуляции интенсивности воспалительного процесса при аллергических реакциях определенным интересом представляет баланс-дисбаланс провоспалительных (IL-2, IL-6, IFN γ и др.) и противовоспалительных (IL-4, IL-6 и др.) цитокинов. IL-2, IFN γ продуцируют Th1-клетки, а IL-4, IL-6 – Th2-лимфоциты.

Цель исследования: выяснить особенности местного и системного иммунного реагирования по результатам продукции некоторых цитокинов при различных клинико-патогенетических вариантах респираторной аллергии, в период обострения заболевания.

Материалы и методы исследования. Концентрацию цитокинов определяли в сыворотке периферической крови и назальных смывах методом твердофазного иммуноферментного анализа. Обследовано 70 взрослых лиц: практически здоровые ($n=20$), больные atopической бронхиальной астмой в сочетании с аллергической риносинусопатией (АБАР, $n=22$), астматической триадой (АТ, $n=13$) и смешанной формой БА (СБА, $n=15$). Достоверность различий полученных показателей оценивали с помощью критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования. Достоверность различий показателей представлена по отношению к контролю. Так, в группе АБАР достоверно повышено содержание в сыворотке крови IL-4 ($p<0,05$), IFN γ ($p<0,001$), IL-6 ($p<0,05$) и IL-2 ($p<0,05$). При АТ увеличено содержание в сыворотке крови IFN γ ($p<0,001$) и IL-2 ($p<0,05$). При СБА повышена концентрация в сыворотке крови IL-2 ($p<0,01$) и IFN γ ($p<0,01$). В назальных смывах в группе atopиков достоверно повышена концентрация IL-4 ($p<0,01$) и IL-6 ($p<0,05$), тогда как при полипозном рините достоверно повышена концентрация IL-2 ($p<0,05$) и IFN γ ($p<0,01$). Таким образом, профиль местной продукции цитокинов в период обострения респираторной аллергии коррелирует с системной. При АБАР как в сыворотке крови, так и в назальных смывах преобладает набор цитокинов, секретируемых Th2-лимфоцитами, тогда как при АТ и СБА – Th1-клетками.

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ IL-4, TNF α И IgE У БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ И ХРОНИЧЕСКИХ ОБСТРУКТИВНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЛЕГКИХ ПНЕВМОКОККОВОЙ ЭТИОЛОГИИ

Тальченкова Т.Е., Дубинина В.В.,
Маркелова Е.В., Ткачева С.И., Иваношук М.И.

Амурская областная клиническая больница,
г. Благовещенск, Россия; Владивостокский
государственный медицинский университет,
г. Владивосток, Россия

Многими исследователями обсуждаются механизмы нарушения цитокинового статуса больных с патологией дыхательных путей и роль цитокинового дисбаланса в поддержании хронического воспаления. Повышенная бактериальная нагрузка на органы дыхания способствует активации альвеолярных макрофагов и эндотелиальных клеток капилляров, продуцирующих цитокины. Многие цитокины могут оказывать на бактерии как прямое, так и опосредованное действие, которое может быть или бактерицидным, или стимулирующим рост микроорганизмов. Длительное выделение цитокинов приводит к хроническому воспалению и развитию аутоаллергических реакций как из-за антигенной мимикрии разрушенных бактерий и тканей организма, так и в связи с неспецифическим повреждением последних воспалительной реакцией и включением механизмов апоптоза. Особый интерес вызывают механизмы реализации иммунной защиты от бактерий, связанных с действием IgE. Иммуноглобулин, участвующий в реакциях реагинового или анафилактического типа, играет защитную роль и при бактериальных инфекциях.

В связи с вышеизложенным целью работы явилось изучение цитокинов: провоспалительного – TNF α и противовоспалительного – IL-4 и IgE у больных с острой патологией дыхательных путей: внебольничной пневмонией и хроническим воспалением: ХОБЛ.

Материалы и методы: Было обследовано 35 больных с внебольничной пневмонией, 35 больных ХОБЛ в стадии обострения и 35 здоровых доноров. Все больные мужчины 18-65 лет, большинство из которых курящие – 92,8%. Уровень цитокинов в сыворотке крови и бронхоальвеолярной жидкости больных определен методом ИФА с помощью наборов ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург) – IL-4 и TNF α с чувствительностью до 2000 пг/мл. IgE определяли методом ИФА (Вектор Бест, г. Новосибирск).

Результаты исследования: В сыворотке крови больных ХОБЛ и внебольничной пневмонией IL-4 был выявлен у всех пациентов.

Частота определения TNF α в сыворотке крови соответствовала 42,3% при ХОБЛ и 50,9% – при внебольничной пневмонии. Результаты представлены в таблице. У 51,4%(18) больных ХОБЛ выявлено повышение IgE в диапазоне от 26,2 до 793,1 МЕ/мл. При пневмонии уровень IgE зафиксирован в пределах от 2,6 до 2000 МЕ/мл и определен выше нормы у 45,7% больных. Уровень IL-4 и IgE был повышенным одновременно в 34,3% случаев при ХОБЛ и у 40% больных с внебольничной пневмонией. Уровень изучаемых цитокинов определен в БАЛЖ у 10 больных из каждой группы. Если содержание IL-4 было снижено у 50%(5) больных ХОБЛ и у всех 10 больных с пневмонией, а его повышение было обнаружено у 50%(5) человек ХОБЛ, то в отношении TNF α

мы увидели однозначный результат: повышение данного провоспалительного цитокина. Цитологическое исследование смывов из бронхов и (или) мокроты показало повышение количества нейтрофилов, при этом прослеживается прямая положительная связь и с уровнем TNF α , и с IL-4. Корреляция уровня TNF α с процентным содержанием нейтрофилов в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) можно объяснить тем, что цитокин ответственен за адгезию нейтрофилов к эпителиальной выстилке бронхов, IL-4 повышает миграцию нейтрофилов в очаг воспаления.

Выводы: 1. Уровень TNF α повышен в БАЛЖ у всех обследуемых больных, а присутствие его в сыворотке крови выявлено у 42,3% больных ХОБЛ и 50,9% больных внебольничной пневмонией, что свидетельствует преимущественно о локальной его секреции. более высокое значения TNF α как в сыворотке крови, так и в БАЛЖ больных характерны для пневмонии. Уровень TNF α в БАЛЖ коррелирует с локальным нейтрофилезом и степенью интенсивности воспаления.

2. Уровень IL-4 выше у больных пневмонией, чем у больных ХОБЛ в сыворотке крови, и, наоборот, его содержание в БАЛЖ у больных с пневмонией ниже, чем у больных ХОБЛ, что можно объяснить локальным связыванием IL-4 со своим растворимым рецептором при остром процессе, чего мы не наблюдали при хроническом воспалении.

3. Сочетание системного повышения одного из наиболее важных цитокинов атопического процесса – IL-4 с повышенным уровнем IgE в сыворотке крови больных выявлено в 34,3% случаев при ХОБЛ и в 40% при пневмонии.

ИЗУЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОГО ИММУНИТЕТА В ЦЕРВИКАЛЬНОМ СЕКРЕТЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ АКТИВНОМ И НЕАКТИВНОМ ЭНДОЦЕРВИЦИТЕ

Телешева Л.Ф., Долгушина В.Ф.,
Гольцфарб В.М., Савочкина А.Ю., Тупиков В.А.

ГОУ ВПО Челябинская государственная
медицинская академия, Челябинск, Россия

Шейка матки представляет собой зону наибольшей иммунологической активности репродуктивного тракта, ей принадлежит интегральная роль в защите вышележащих органов половой системы женщин от восходящей инфекции. Клеточный компартамент местного иммунитета слизевого барьера эндоцервикса представлен преимущественно нейтрофильными гранулоцитами, которые составляют основную клеточную популяцию цервикального секрета. Известно, что функциональная полноценность нейтрофилов слизистых оболочек во многом определяет колонизационную резистентность последних, а врожденная или приобретенная дисфункция этих клеток может лежать в основе формирования хронических вялотекущих воспалительных процессов.

Целью исследования явилось изучение показателей локального иммунитета при хроническом активном и неактивном эндоцервиците.

Нами было проведено клинко-морфологическое и иммунологическое обследование 132 женщин с хроническим эндоцервицитом. Во всех случаях диагноз хронического воспалительного процесса был верифицирован гистологическим исследованием биоптатов эндоцервикса,

при этом решающее значение придавалось исследованию состава, плотности и локализации воспалительно-клеточного инфильтрата, а также процессу фиброза стромы. По результатам комплексного клинко-морфологического обследования все больные были разделены на 2 группы – первую составили 77 женщин с хроническим активным эндоцервицитом, во вторую вошло 55 пациенток с неактивным воспалительным процессом в эндоцервиксе. Контрольная группа была представлена 25 женщинами, у которых при клиническом, кольпоскопическом и морфологическом исследовании изменений шейки матки выявлено не было. Всем респондентам было проведено определение количества и функционального профиля нейтрофилов цервикальной слизи.

По данным иммунологического исследования у больных с хроническим эндоцервицитом было выявлено повышение общего количества лейкоцитов цервикальной слизи, причем это повышение было достоверно более выраженным при активном течении воспалительного процесса. Доля жизнеспособных клеток практически не отличалась в исследуемых группах и составила 59% у здоровых и 61 – 62% при эндоцервиците. У пациенток с хроническим воспалительным процессом в эндоцервиксе возрастал % клеток, содержащих лизосомы и показатель интенсивности люминесценции лизосом, при этом отмечалась лишь тенденция к увеличению этих параметров при активном течении процесса по сравнению с неактивным. Зарегистрировано достоверное повышение НСТ-редуцирующей активности у пациенток с хроническим эндоцервицитом по отношению к результатам группы контроля. Заметно различался среди групп больных ответ нейтрофилов слизистой пробки на активацию латексом – отмечены достоверно более высокие показатели этого теста среди женщин с хронически активным воспалением. Соответственно, функциональный резерв гранулоцитов при неактивной форме эндоцервицита был значительно ниже. Содержание фагоцитов было достоверно снижено при эндоцервиците по сравнению со здоровыми женщинами и практически не отличалось среди больных 1 и 2 групп, тогда как фагоцитарное число в большей степени было изменено в 1 группе пациенток.

Результаты исследования показали, что хроническому эндоцервициту присущи определенные иммунологические сдвиги в зависимости от активности воспалительного процесса слизистой оболочки канала шейки матки. Неактивная форма эндоцервицита характеризовалась более глубокими изменениями клеточного иммунитета, что проявлялось в снижении функционального резерва и интенсивности фагоцитоза нейтрофилов в большей степени, чем при активном течении воспаления.

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ ЛОКАЛЬНЫХ АУТОИММУННЫХ РЕАКЦИЙ С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ВРОЖДЕННОЙ ГЛАУКОМЫ У ДЕТЕЙ

Теплинская Л.Е., Хватова А.В., Мазанова Е.В.

*МНИИ глазных болезней им.Гельмгольца,
Москва, Россия*

Врожденная глаукома является одной из частых причин слепоты и слабовидения у детей. Этиология и патогенез врожденной глаукомы неоднозначны. Участие иммунных факторов в развитии и течении врожденной глаукомы недостаточно изучено.

Цель. Изучение локальных аутоиммунных реакций и их ассоциативных связей с клиническими параметрами врожденной глаукомы у детей.

Материал и методы. 87 детям (153 глаза) в возрасте от 3 нед до 15 лет с врожденной глаукомой проведено офтальмологическое обследование и иммунологическое: ИФА для определения аутоантител (ААТ) к ДНКн,д, общему белку миеллина (ОБМ) и коллагену (К) типов I, II, III, IV, определение уровня IgG, IgA, IgM методом Манчини в слезной жидкости.

Результаты. Исследование слезной жидкости детей с врожденной глаукомой показало аутоантител (ААТ) к тканеспецифическим (ОБМ) и межорганным (ДНК, коллагену – К) антигенам и наличие дефицита IgA. В структуре аутоантител преобладали ААТ к ДНК у 23% детей в 16,3% глаз. АТ к ОБМ обнаруживались у 17,5% детей в 9,7% глаз. Реже выявлялись АТ к коллагену – у 6,6% детей в 5,6% глаз. Дефицит IgA обнаруживался с высокой частотой у 86,4% детей в 73,7% глаз, указывая на недостаточность местного иммунного ответа. Определены статистически достоверные корреляции между ДНК-ААТ и тяжестью течения глаукомы, изменениями ДЗН и низкими электрофизиологическими показателями (ЭРГ и ЗВП), развитием послеоперационных осложнений. Тяжелое течение глаукомы наблюдалось у 42,8% детей при наличии ААТ, почти абсолютная стадия отмечалась у 50% детей. Также чаще при наличии ДНК-ААТ развивались послеоперационные осложнения в отличие от детей, не имевших ААТ (33,3% и 15,9% глаз соответственно, $p < 0,05$). Достоверные взаимосвязи определялись между наличием ДНК-ААТ и состоянием ДЗН: у детей с наличием ААТ чаще обнаруживалась выраженная глаукоматозная экскавация (65,2% и 32,9% глаз, $p < 0,01$). ДНК-ААТ также чаще ассоциировались с патологическими изменениями ЭРГ и ЗВП (73,9% и 33,3% глаз, $p < 0,01$). Сумма полученных данных позволяет расценивать ДНК-ААТ в качестве маркера неполноценности локального иммунного ответа и тяжести клинического и послеоперационного течения глаукомы. Сопоставление с клинической симптоматикой выявило прямую корреляцию между ОБМ-ААТ и низкой остротой зрения: слепота и слабовидение ($\text{visus } 0-0,05$) достоверно чаще регистрировались среди детей с ОБМ-ААТ (81,8% и 42,1% глаз, $p < 0,05$). Наличие ОБМ-ААТ ассоциировались с патологическими изменениями ЭРГ (78,9% и 27,6% глаз, $p < 0,01$). Таким образом, ОБМ-ААТ могут служить индикатором тяжести клинического течения и выраженности поражения не только зрительного нерва, потенциального развития глаукоматозной нейропатии, но и заинтересованности наружных и внутренних слоев сетчатки. Аутоантитела к коллагену обнаруживались довольно редко – в 5,6% глаз с тяжелым клиническим течением глаукомы. Появление К-ААТ может быть связано с отклонениями в системе соединительной ткани самого глаза. Процесс в глазу детей с локальным дефицитом IgA характеризовался большей частотой выраженных глаукоматозных изменений роговицы (тотальные дистрофические изменения роговицы (бельмо) в 58,8% глаз ($p < 0,01$), зрительного нерва (белый цвет ДЗН и тотальная экскавация) в 76,5% глаз ($p < 0,01$), значительным растяжением глазного яблока (ПЗО глаза больше 25 мм) в 62,7% глаз ($p < 0,05$), выраженными изменениями ЭРГ в 80,4% глаз ($p < 0,01$).

Выводы: Локальные аутоиммунные реакции сопутствуют анатомическим и морфологическим изменениям структур тканей глаза при врожденной глау-

коме. Установлена иммунопатогенетическая значимость локальных аутоиммунных реакций и местного дефицита IgA в развитии тяжелого течения глаукомы, что предопределяет необходимость применения иммунокорректоров, особенно в послеоперационном периоде.

КЛЕТОЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЕСТЕСТВЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА (ВЗП)

Улитовский С.Б., Алексеева Е.С., Левин М.Я.

НПЦ стоматологического факультета СПбГМУ им. акад.И.П. Павлова, Россия

С целью установления динамики и роли клеточных механизмов при ВЗП было обследовано в динамике 40 больных с хроническим генерализованным катаральным гингивитом (ХГКГ) и 25 больных с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП), а также 20 практически здоровых лиц с интактным пародонтом. Определяли: стоматологические показатели воспаления в ротовой полости по папиллярно – маргинально – альвеолярному индексу (ПМА), показатели функциональной активности нейтрофилов оценивали по НСТ – тесту (Park et. al., 1968). Уровень естественных киллеров (ЕК) определяли в ИФА по выявлению антигена CD16.

Результаты. Установлено, что функциональная активность фагоцитирующих клеток при ХГКГ составляет $11,9 \pm 0,1\%$, при ХГП – $15,2 \pm 0,1\%$ против $8,5 \pm 1,9\%$ в контроле ($t=1,79$, $p<0,01$ соответственно).

В результате санации полости рта по классической схеме активность НСТ снижалась до $9,4 \pm 0,1\%$ и $10,7 \pm 0,26\%$ соответственно и существенно не отличалась от контроля ($p>0,1$). При дополнительном лечении с применением иммуномодулятора «Полирем» нормализация показателя НСТ была еще большей, достигая $8,6 \pm 0,06\%$ и $8,9 \pm 0,1\%$, т.е. практически нормализовалась.

Уровень ЕК в крови больных ХГКГ и ХГП был повышен более чем вдвое в сравнении с контролем ($13,8 \pm 2,9\%$) составлял $27,2 \pm 0,1\%$ и $31,3 \pm 0,25\%$ ($p<0,01$). После проведения санации уровень ЕК при ХГКГ и ХГП снижались в обоих случаях до $17,5 \pm 0,25\%$, достоверно не отличаясь от контроля ($p>0,1$). Дополнительное применение иммуномодулятора обеспечивало приближение показателей к норме: $13,6 \pm 0,2\%$ и $14,4 \pm 0,4\%$ ($p>0,1$).

По уровню теста НСТ и количеству в крови ЕК могут быть четко дифференцированы ХГКГ и ХГП. При ХГКГ активность НСТ не превышала $13,4\%$, а число ЕК было менее 30% . Для ХГП были характерными уровни НСТ выше $13,9\%$ и число ЕК выше 30% . Корреляции между признаками воспаления (ПМА) и исследуемыми иммунологическими показателями определялись следующим: при отсутствии воспалительной реакции в результате проведенного лечения (ПМА=0) у всех обследованных уровень НСТ был в пределах нормы. При признаках выраженного воспаления (ПМА>25) $63,5\%$ обследованных имели показатели усиленного фагоцитоза ($>11,5\%$).

Проведенные исследования показали, что уровень активности фагоцитоза и число ЕК в крови полностью отражают выраженность и динамику воспалительной реакции пародонта и эти критерии могут быть ис-

пользованы как объективные показатели воспаления при диагностике ВЗП и оценке результатов их лечения.

ВЛИЯНИЕ ДНК ИЗ МОЛОК ЛОСОСЕВЫХ РЫБ НА СЕКРЕЦИЮ IL-3 И GM-CSF КЛЕТКАМИ КРОВИ ДОНОРОВ

Федянина Л.Н., Иванушко Л.А.

НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН, Владивосток, Россия

Известно иммуностропное действие дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), получаемой из молок лососевых рыб, препарата, разработанного учеными ТИНРО-центра и выпускаемого в настоящее время в виде биологически активной добавки (БАД) к пище. Установлено, что ДНК активизирует процессы кроветворения, реакции гуморального иммунитета и фагоцитарные процессы в макрофагах, однако механизмы действия ее до конца не изучены (Беседнова Н.Н., Касьяненко Ю.И. и др., 1999). Одним из возможных механизмов действия ДНК является активация клеток иммунной системы к продукции определенных цитокинов.

Целью нашей работы явилось изучение влияния ДНК из молок лососевых рыб на продукцию цитокинов IL-3 и GM-CSF клетками крови здоровых доноров *in vitro*.

Методы: кровь помещали в пробирку с гепарином и разбавляли в 3 раза стерильной средой RPMI 1640. К 1,35 мл разбавленной крови добавляли 0,15 мл среды RPMI 1640 (спонтанный синтез IL-3 и GM-CSF – контрольная группа). Для изучения индуцированного синтеза цитокинов, (опытная группа), вносили ДНК в количестве 50 мкл/мл. Пробирки помещали в термостат, через 18 часов кровь центрифугировали (800g) в течение 5 минут, супернатант отбирали и хранили при -20°C . IL-3 и GM-CSF определяли иммуноферментным анализом с помощью наборов Duoset «R and D Diagnostics Inc» (USA).

Результаты: в зависимости от полученных данных, доноров (21 человек) условно делили на следующие группы: с исходно низкими значениями показателей, с исходно средними и с исходно высокими значениями. Уровень индуцированных цитокинов (опытная группа) сравнивали с уровнем его спонтанной секреции (контрольная группа). Результаты оценивали с учетом критерия Манна – Уитни.

В первой группе доноров, с исходно низкими показателями, ДНК вызвала повышение концентрации IL-3 с $0,5 \pm 0,1$ пг/мл (контроль) до $2,2 \pm 0,6$ пг/мл (опыт) ($p<0,01$), а уровень GM-CSF в опытной группе, не изменился по сравнению с уровнем контрольной группы и составил $0,4 \pm 0,1$ пг/мл. Во второй группе уровень IL-3 был в два раза меньше контрольного ($2,5 \pm 0,2$ пг/мл и $1,2 \pm 0,4$ пг/мл), уровень GM-CSF также снижались ($3,8 \pm 0,8$ пг/мл и $2,7 \pm 1,2$ пг/мл, соответственно). В третьей группе наблюдалось выраженное снижение показателей стимулированной секреции изучаемых цитокинов, количество IL-3 в 10 раз ($12,8 \pm 6,2$ и $1,2 \pm 0,3$ пг/мл) и GM-CSF в 3 раза ($14,1 \pm 3,0$ и $4,7 \pm 2,4$ пг/мл соответственно).

Выводы: БАД ДНК из молок лосося оказывает модулирующее действие на продукцию цитокинов IL-3 и GM-CSF, более выраженное по отношению к IL-3.

ИССЛЕДОВАНИЕ МАЗКОВ-ОТПЕЧАТКОВ ПОЛОСТИ НОСА У ДЕТЕЙ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ**Шарифуллина А.А., Агафонова Е.В., Фассахов Р.С.***Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии*

Аллергический ринит (АР) занимает одно из ведущих мест в структуре аллергических заболеваний у детей. В клинической практике исследование мазков-отпечатков со слизистой полости носа имеет бесспорное преимущество ввиду своей простоты, доступности и информативности.

Целью работы явилась оптимизация диагностики АР на основании цитологического исследования мазков-отпечатков со слизистой полости носа.

Под наблюдением находилось 59 детей от 3 до 17 лет с различными вариантами АР. Выделяли изолированный аллергический ринит (АР-24 ребенка), сочетание аллергического ринита с atopической бронхиальной астмой (АР+АБА, 26 детей), сочетание аллергического ринита с atopическим дерматитом (АР+АД, 9 детей). Контрольную группу составили 12 здоровых детей. Пациентам проводилось бактериологическое исследование носового секрета. На основании исследований были выработаны собственные диагностические критерии оценки назоцитограмм с учетом степени эозинофилии (умеренная степень -5-10%, высокая степень >10%), лимфоцитоза (умеренная степень - до 30%, высокая степень >30%) и нейтрофилеза (нейтрофилез средней степени - от 40 до 60%, нейтрофилез высокой степени >60%). Выделяли лимфоцитоз с плазматизацией (в мазке-отпечатке >5% лимфоцитов с признаками плазматизации), а также подсчитывали% нейтрофилов и эпителиальных клеток с признаками десрукции ядра и цитоплазмы.

В периоде ремиссии у пациентов с АР высокой степени эозинофилии не выявлено, умеренная отмечалась в 20%. У детей с АР+АД эозинофилия умеренная и высокая выявлены соответственно в 33% и в 11%. При АР+АБА в периоде ремиссии умеренная эозинофилия составила 40%, что существенно отличалось от показателей в группах с изолированным АР и АР+АД. Высокая эозинофилия при АР+АБА составила 10%. В периоде обострения при АР отмечено нарастание как умеренной, так и высокой эозинофилии (42,9% и 35,7%), при АР+АБА в периоде обострения отмечено выраженное нарастание высокой эозинофилии (50%).

На фоне круглогодичного течения АР (как при изолированном, так и при сочетании с АБА) по сравнению с сезонным течением заболевания чаще имел место вариант лимфоцитоза с плазматизацией (81,9%, 15,4% соответственно). При сопоставлении с микробным пейзажем полости носа при сочетанных формах АР (АР+АД, АР+АБА) на фоне доминирования стафилококковой инфекции в назоцитограммах имело место нарастание нейтрофилеза с гиперхромными изменениями ядер и вакуолизацией цитоплазмы по сравнению с группой детей с АР (12, 5%, 25,5% соответственно), что свидетельствует о роли стафилококка в местном аллергическом воспалении.

Таким образом, предложенные диагностические критерии оценки мазков-отпечатков могут использоваться для прогнозирования течения заболевания и оптимизации диагностики аллергических ринитов у детей.

СООТНОШЕНИЕ ОБЩИХ И МЕСТНЫХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ**Штабров В.А., Мамедова А.А., Сергеева Е.В.***Институт физиологии природных адаптаций
УрО РАН, Архангельск, Россия*

До сих пор нет ясности о соотношении общих и местных иммунологических реакций и зависимости их взаимодействия от конечного эффекта иммунного ответа.

Цель исследования: изучение взаимосвязей иммунных реакций в крови и по месту воспалительного очага.

Материалы и методы: объект исследования – дети в возрасте от 7 до 16 лет (298 чел.). Исследовали кал, мочу, отделяемое зева, носа; активность фагоцитоза, содержание sIgA, ЦИК и сорбционную активность эпителия слизистых. Бактериологические исследования проведены в бактериологической лаборатории Северного медицинского центра им. Семашко.

Основные результаты: Не установлены взаимосвязи между уровнем IgA в крови и экссудате (транссудате), что свидетельствует о преимущественно самостоятельном синтезе sIgA. Уровень фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови (44%) и экссудате (38%) мало различается. Существенные различия наблюдаются в интенсивности фагоцитоза: фагоцитарное число в значительной степени выше в местной фагоцитарной защите (14, против 7 в периферической крови). Подобная ситуация наблюдается с ЦИК (4,5 г/л в экссудате, против 2,7 г/л в периферической крови). Создается впечатление, что ЦИК концентрируется в очаге воспаления в присутствии избытка антигена.

Интенсивность местной фагоцитарной защиты прямо связана с сорбционной активностью эпителия ($r=0,98$, $p>0,05$) и содержанием секреторных иммуноглобулинов А ($r=0,90$, $p>0,05$), подтверждая тем самым общность одного из этапов двух процессов: сорбции и фагоцитоза.

Положительные взаимосвязи между сорбционной активностью и циркуляцией в периферической крови гранулоцитов ($r=1,00$, $p>0,05$), лимфоцитов ($r=0,97$, $p>0,05$) имеет, по всей вероятности, косвенную взаимосвязь, поскольку увеличение миграционной активности клеток периферической крови и выход их из депо естественно взаимосвязаны с общей реакцией активизации в связи с воспалением, антигенной стимуляцией или стрессовой ситуацией.

Заключение: При изучении взаимосвязей иммунных реакций в крови и по месту воспалительного очага выявили повышенный уровень интенсивности фагоцитоза и высокую концентрацию ЦИК в экссудате, по сравнению с уровнем в периферической крови.