

# ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ ЭНДОГЕННОЙ И ЭКЗОГЕННОЙ ПРИРОДЫ

## УРОВЕНЬ СЫВОРОТОЧНОГО ИНТЕРФЕРОНА КАК ПОКАЗАТЕЛЬ АКТИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОДОНТА

Алексеева Е.С.

*НИЦ стоматологического факультета СПбГМУ  
им. акад. И.П. Павлова*

Интерфероны относятся к группе провоспалительных цитокинов и стимуляторов иммунного ответа организма. Повышение продукции интерферонов играет защитную роль и может отражать выраженность и динамику воспалительного процесса.

**Цель** настоящего исследования – установление связи уровня сывороточного интерферона с проявлениями местной воспалительной реакции при заболеваниях пародонта.

Обследовано в динамике 40 больных хроническим генерализованным катаральным гингивитом (ХГКГ) и 25 больных хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП). Состояние пародонта оценивали по стоматологическому показателю папиллярно – маргинально – альвеолярному индексу – ПМА (Parma, 1960). Уровень сывороточного интерферона (СИФ) определяли в тесте торможения репродукции вируса (Кондратьев Г.А., 1985).

**Результаты:** Уровень сывороточного интерферона (СИФ) в контрольной группе составлял  $8,0 \pm 2,3$  МЕ/мл., при ХГКГ –  $2,0 \pm 0,08$  МЕ/мл., при ХГП –  $21,7 \pm 0,2$  МЕ/мл.

После проведения санации полости рта по классической схеме средний уровень СИФ снижался до  $9,0 \pm 0,15$  МЕ/мл, при ХГКГ и до  $14,0 \pm 0,2$  при ХГП. При дополнительном лечении с применением иммуномодулятора «Поллирема» уровень интерферона в большей степени снижался при ХГКГ до  $8,4 \pm 0,07$  МЕ/мл., при ХГП – до  $9,0 \pm 0,16$  МЕ/мл.

Между стоматологическими показателями воспаления (ПМА) и уровнем СИФ существуют прямые корреляции. Так при отсутствии процессов воспаления (ПМА=0) уровень СИФ при ХГКГ и ХГП у всех больных не превышал 20 МЕ/мл, а у 42,4% и 38,8% пациентов был ниже 10 МЕ/мл. Наоборот, при наиболее высоких значениях ПМА (>30 МЕ/мл) не обнаружено пациентов с низкими уровнями СИФ, а высокие показатели СИФ – выше 21 МЕ/мл соответственно у 40% и 70% обследованных.

Уровень СИФ имел и диагностическое значение. Так при низких показателях СИФ 82,1% больных имел ХГКГ, при высоких – 18,8%, тогда как для ХГП до лечения были характерны высокие уровни СИФ (81,2%).

Таким образом, было показано, что активный воспалительный процесс в ротовой полости сопровождается повышением уровня СИФ пропорционально выраженности воспаления. Определение СИФ у больных ВЗП может быть использовано для оценки активности динамики воспаления, а так же контролем лечения.

## ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА ПРОТЕФЛАЗИД ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ЖЕНЩИН С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Арипджанова Д.

*Институт акушерства и гинекологии МЗ РУз,  
Ташкент, Узбекистан*

**Целью** настоящего исследования явилось проведение мониторинга иммунного статуса женщин с папилломавирусной инфекцией органов гениталий в результате включения в общепринятую терапию препарата Протефлазид (Украина). В зависимости от проведенной терапии больные были разделены на 2 группы: в первую вошли 26 женщин, получавшие Протефлазид, а во вторую – 18 женщин с ПВИ, получавшие традиционное лечение. Контрольную группу составили 20 практически здоровых женщин репродуктивного возраста. Фенотип основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови изучали по идентификации на их поверхности дифференцировочных рецепторов с использованием моноклональных антител – ЛТ («Сорбент», Москва). Продукция цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-8, IFN $\gamma$  определялась в сыворотке с использованием тест-систем, разработанных ТОО «Цитокин» (С.-Петербург). Уровень основных классов иммуноглобулинов IgG, IgA, IgM в сыворотке крови определяли по методу Манчини. Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по включению латексных частиц. Подтверждение наличия в ПВИ было проведено методом ПЦР, тест-системы «Авиценна» (Россия). У всех женщин с ПВИ при поступлении в стационар выявлено достоверное ( $p < 0,001$ ) уменьшение количества CD3 $^+$ , CD4 $^+$  и CD8 $^+$  клеток, а также снижение фагоцитарной активности нейтрофилов. Количество CD16 $^+$  лимфоцитов было достоверно повышенным. Концентрация IgG была снижена, а IgM повышена ( $p < 0,05$ ). Было установлено, что уровень продукции IFN $\gamma$  у больных женщин почти в 3 раза ниже контрольных значений ( $p < 0,01$ ). Продукция IL-1 $\beta$  и IL-8 была достоверно повышена ( $p < 0,05$ ). Проведенные исследования показали, что ПВИ способствует усугублению иммунодефицита и, возможно, развитию или утяжелению течения осложнений. Анализ иммунологических исследований после проведенного лечения выявил достоверное увеличение содержания CD3 $^+$ , CD4 $^+$  и CD8 $^+$ -лимфоцитов ( $P < 0,001$ ). Концентрация IgG и IgM в сыворотке больных женщин и фагоцитарная активность нормализовалась по сравнению с данными до лечения ( $p < 0,05$ ). Продукция IL-1 $\beta$  и IL-8 снизилась, а IFN $\gamma$  – повысилась. Следовательно, применение Протефлазида при ПВИ способствует восстановлению нарушенных функций иммунной системы путем повышения активности иммунорегуляторных субпопуляций Т- лимфоцитов, специфического фактора защиты организма и усиления продукции цитокинов.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ  
ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЛЕЙКОЦИТАРНОГО ИНТЕРФЕРОНА  
НА ЭКСПРЕССИЮ CD 4 И CD 8 МАРКЕРОВ  
НА ПОВЕРХНОСТИ МЕМБРАН Т-ЛИМФОЦИТОВ**

**Артюхов В.Г., Путинцева О.В., Колтаков И.А.**

*Воронежский государственный университет,  
Воронеж, Россия*

**Введение.** Одной из наиболее важных иммунологических функций Т – лимфоцитов является участие в процессе распознавания чужеродных антигенов, экспрессированных на поверхности антигенпрезентирующих клеток (АПК). Ответственными за эту функцию являются специальные антигенраспознающие рецепторы – ТСR, которые ассоциированы на поверхности мембраны с полипептидным комплексом CD 3, ответственным за проведение внутрь клетки сигнала о взаимодействии ТСR с комплексом «пептид – молекула МНС». Специфичность и эффективность распознавания антигенов рецепторным комплексом обеспечивается корцепторными молекулами CD 4 или CD 8, экспрессируемыми Т-хелперами и Т-киллерами соответственно.

**Цель и задачи.** Целью данного исследования был сравнительный анализ влияния человеческого лейкоцитарного α-интерферона в широком диапазоне концентраций на экспрессию CD 4 и CD 8 маркеров на поверхности мембран Т-лимфоцитов крови доноров.

**Материалы и методы.** Объектами исследования служили Т-лимфоциты периферической крови доноров. Лимфоциты выделяли из дефибринированной венозной крови центрифугированием (300g, 15 мин) на градиенте плотности фиколл-урографина ( $\rho=1,076 \text{ г/см}^3$ ). Полученную суспензию лимфоцитов, содержащую 2-4·10<sup>6</sup> клеток/мл, разделяли на Т- и В- популяции по методу Terasaki на колонках с синтетической нейлоновой ватой. Чистота Т-клеточной суспензии составляла 80-90%, а концентрация – 2·10<sup>5</sup> клеток/мл. При изучении влияния исследуемого цитокина на экспрессию некоторых рецепторов и их компонентов на мембранах Т-лимфоцитов тестируемые клетки инкубировали в присутствии α-интерферона («Предприятие по производству бак. препаратов НИИВС», С.-Петербург) в концентрациях 0,01; 0,1; 1; 10 и 100 МЕ/мл в течение 24 ч при 25°С в среде RPMI-1640 с добавлением антибиотиков (100000 ЕД/л пенициллина и 0,1 г/л стрептомицина). Контрольные образцы инкубировали при тех же условиях без добавления препарата интерферона. Определение изменения экспрессии поверхностных дифференцировочных антигенов CD 4 и CD 8 проводили методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител серии LT 4, LT 8 соответственно. В качестве конъюгата применяли бараньи антитела к IgG мыши, меченные пероксидазой хрена («Сорбент», Москва). Субстратом для пероксидазы служил раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидина в 0,15 моль/л цитратно-фосфатном буфере (рН 5,0) с добавлением 0,05 мл 5% раствора пероксида водорода на 10 мл субстрата. Реакцию останавливали через 10 мин внесением в каждую лунку 0,05 мл 50% раствора серной кислоты. Результаты экспериментов учитывали спектрофотометрически на ИФА – анализаторе «Униплан» производства ЗАО «Пикон» Москва, измеряя оптическую плотность образцов при длине волны, равной 450 нм, и выражали в единицах оптической плотности.

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с помощью прикладных программ «STATISTICA». Достоверность отличий контрольных и опытных значений сравниваемых показателей определя-

ли по t – критерию Стьюдента. При этом рассчитывали варьирование показателя при 6 повторных определениях внутри опыта ( $M \pm m$ ). Доноры, проявляющие сходный биологический эффект при действии модифицирующего агента, объединялись в отдельные группы. Для каждой группы определяли значения среднего уровня экспрессии исследуемого антигена.

**Основные результаты.** Уровень экспрессии CD 4 рецепторов на поверхности мембран нативных Т-клеток 35 доноров в среднем составил  $0,318 \pm 0,023$ . Использование цитокина в малых концентрациях (0,01, 0,1 и 1 МЕ/мл) повышало уровень ИФА сигнала до величин  $0,419 \pm 0,029$ ,  $0,408 \pm 0,026$  и  $0,380 \pm 0,028$  (32, 28 и 19% относительно контроля соответственно), причем максимальный эффект был выявлен при самом большом разведении модификатора из используемых. Модификация клеток α-интерфероном в больших концентрациях (10 и 100 МЕ/мл) приводила к снижению уровня экспрессии изучаемого антигена до  $0,294 \pm 0,006$  и  $0,226 \pm 0,015$  (8% и 29% соответственно).

Для изучения влияния препарата α-интерферона на изменение уровня CD 8 антигена, характерного для субпопуляции Т-киллеров, были проведены исследования на клетках крови 35 здоровых добровольцев.

Уровень исследуемого антигена на поверхности нативных Т-лимфоцитов составил  $0,300 \pm 0,018$ . CD 8<sup>+</sup> Т-лимфоциты проявили резистентность к действию α-интерферона в концентрациях 0,01 и 10 МЕ/мл: в экспериментах после добавления цитокина не было выявлено статистически достоверных отличий регистрируемого показателя от контроля. Модификация Т-клеток интерфероном в концентрациях 0,1 и 1 МЕ/мл вызывала повышение ИФА сигнала до величин  $0,365 \pm 0,016$  и  $0,341 \pm 0,020$  соответственно, а в дозе 100 МЕ/мл – резкое снижение исследуемого параметра до  $0,241 \pm 0,018$ .

**Заключение.** Анализ полученных нами данных показал, что использование малых доз α-интерферона вызывает рост концентрации CD 4 и CD 8 маркеров на мембранах Т-клеток, который наблюдается для CD 4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов при дозах α-интерферона, равных 0,01; 0,1 и 1 МЕ/мл, а для CD 8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов – 0,1 и 1 МЕ/мл. Введение больших концентраций цитокина (100 МЕ/мл) сопровождается подавлением экспрессии исследуемых маркеров Т-клетками.

Установлено, что лимфоциты, несущие на поверхности своих мембран CD 4 маркеры, являются более чувствительными к действию α-интерферона, чем CD 8<sup>+</sup> клетки.

Таким образом, при действии малых концентраций цитокина будет происходить усиление антигенраспознающей функции CD 4<sup>+</sup> клеток и, как следствие, формирование пула активированных Т-хелперов, усиливающих протекание иммунного ответа организма по гуморальному механизму.

**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ЛАКТО ФЛОР НА  
ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

**Аскарров Т.А.**

*Институт иммунологии АН РУз,  
Ташкент, Узбекистан*

Ранее было установлено, что препарат Лакто Флор обладает свойством стимулировать пролиферацию эндогенных и экзогенных кроветворных стволовых клеток.

В работе приводятся результаты по изучению эффекта Лакто Флор, выделенного из молозива коров, на дифференцировку кроветворных стволовых клеток. Для этого мышей линии BALB/c облучали тотально в сублетальной (6,5 Гр) дозе и вводили Лакто Флор в дозе 15 и 1,5 мг/кг однократно внутрибрюшинно. На 9-е сутки мышей забивали и подсчитывали число макроколоний на поверхности селезенки. Затем проводили гистологические исследования серийных срезов селезенки, в которых подсчитывали число эритроидных, гранулоцитарных, мегакариоцитарных, недифференцированных и смешанных микроколоний.

Установлено, что при введении Лакто Флор в дозе 15 мг/кг число макроколоний на поверхности селезенки увеличивается в 1,8 раза, а при дозе 1,5 мг/кг – в 2,5 раза, по сравнению с контролем. Гистологические исследования показали, что под воздействием препарата Лакто Флор происходит повышение общего количества микроколоний в селезенке облученных мышей, причем стимуляция выявлена во всех ростках кроветворения: эритроидной, гранулоцитарной и мегакариоцитарной. Наибольшая стимуляция выявлена в красном ростке кроветворения.

Полученные результаты свидетельствуют о способности препарата Лакто Флор влиять на пролиферацию и дифференцировку кроветворных стволовых клеток.

#### **КОРРЕКЦИЯ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ ПРЕПАРАТОМ ЛАКТО ФЛОР**

**Аскарров Т.А.**

*Институт иммунологии АН РУз,  
Ташкент, Узбекистан*

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения эффекта биопрепарата Лакто Флор, полученного из молозива коров, на иммунный статус при вторичных иммунодефицитных состояниях различной этиологии у мышей.

Моделями вторичных иммунодефицитов служили: острый токсический гепатит (ОТГ), индуцированный четыреххлористым углеродом (CCl<sub>4</sub>), гемолитическая анемия, вызванная солянокислым фенолгидразином, ожоговая болезнь и иммунодефицит, вызванный введением гидрокортизона.

Установлено, что при всех моделях происходит существенное снижение иммунологической ответственности к эритроцитам барана, снижение количества иммунокомпетентных клеток в центральных и периферических органах иммунитета, изменения в гематологических показателях у мышей.

Наиболее глубокие нарушения в иммунологической реактивности организма наблюдаются при ОТГ и ожоговой болезни.

Под воздействием препарата Лакто Флор происходит повышение продукции антителообразующих клеток в селезенке, нормализация клеточного состава в тимусе, костном мозге и лимфатических узлах у животных со вторичными иммунодефицитными состояниями.

Делается вывод, что биопрепарат Лакто Флор является достаточно эффективным иммунокорректирующим веществом, способным восстанавливать нарушения в иммунной системе при иммунопатологических состояниях.

#### **ФАКТОР НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ-АЛЬФА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКИХ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ И КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ**

**Баймахашева А.Н.**

*Казахский НИИ онкологии и радиологии Минздрава РК, Алматы, Казахстан*

Обследовали 39 больных немелкоклеточным раком легкого III стадии заболевания. После оперативных вмешательств в объеме долевых резекций, пневмонэктомий и реконструктивно-пластических операций с лимфодиссекцией проводилась адьювантная химиоиммунотерапия. Стандартная химиотерапия (везпид, цисплатин) осуществлялась параллельно с иммунотерапией эндотоксином *Salmonella typhi* (фармакопейный пирогенал), действие которого тождественно рекомбинантному интерлейкину-2. Преимуществом данного вида химиоиммунотерапии является удовлетворительная переносимость. Контрольную группу составили 30 больных немелкоклеточным раком легких, получавших стандартную терапию без иммунотерапии. Пирогенал вводился в виде аутогемопрепарата (15 мл аутокрови + 25 мкг пирогенала ⇒ термостатирование в течение 90 минут). Ранее проведенные нами исследования показали эффективность стимуляции иммунокомпетентных клеток *ex vivo*, способствующих выработке противоопухолевых цитокинов в цельной крови в тромбодитагрегирующем тесте. (предпатент). Метод иммунотерапии основан на использовании аутологических цитокинов с терапевтической целью: иммуномодулирующей и противоопухолевой.

Сэндвичевым методом на иммуноферментном анализаторе Anthos 2010 с применением стандартного коммерческого набора CYTELISA™ (США) исследовали уровень фактора некроза опухолей-α в сыворотке крови у всех больных (до лечения, после операции, после химиоиммунотерапии), а также у 28 здоровых лиц.

Всем больным выполнялось обстоятельное иммунологическое обследование, включающее определение 23 показателей иммунитета. До лечения обнаружен дефицит абсолютного количества Т-лимфоцитов, в основном за счет снижения содержания Т-хелперов, что также было причиной подавления Т-иммунорегуляторного индекса. После хирургического вмешательства уровень фактора некроза опухолей-α снизился, а после проведения химиоиммунотерапии отмечено достоверное повышение в сыворотке крови этого цитокина. Результаты данного исследования свидетельствуют о возможности стимуляции ФНО-α, обладающего цитостатическим эффектом на опухолевые клетки. Кроме того, установлен факт стимуляции иммунореактивности, проявляющийся в том, что содержание Т-лимфоцитов приблизилось к норме.

#### **ИНТЕРЛЕЙКИН-2 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКИХ IV СТАДИИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ АУТОЦИТОКИНОТЕРАПИИ ЭНДОТОКСИНОМ SALMONELLA TYPHI**

**Баймахашева А.Н., Баишева С.А.**

*Казахский НИИ онкологии и радиологии Минздрава РК, Алматы, Казахстан*

Больные раком легкого IV стадии заболевания представляют наиболее сложную группу больных, получаю-

щих в основном только симптоматическое лечение. В работе анализируется опыт применения аутогемопрепарата с эндотоксином *Salmonella typhi* (фармакопейный пирогенал) с паллиативной целью у 13 больных немелкоклеточным раком легкого. Пирогенал вводился в виде аутогемопрепарата N5 (15 мл аутокрови + 25 мкг пирогенала ⇒ термостатирование в течение 90 минут). В предварительных экспериментах в системе *in vitro* нами была показана стимуляция цитокинообразования в тромбоцитагрегирующем тесте. М.И. Давыдов и В.А. Нормантович (2003) в своих исследованиях по стимуляции лимфы показали, что пирогенал эффективно заменяет рекомбинантный препарат интерлейкина-2, обладая аналогичной активационной способностью.

Сэндвичевым методом на иммуноферментном анализаторе Anthos 2010 с применением стандартного коммерческого набора CYTELISA™ (США) исследовали уровень интерлейкина-2 в сыворотке крови у всех больных до и после иммунотерапии. После аутоцитокинотерапии отмечено повышение уровня интерлейкина-2 в среднем в 2.4 раза. Повышение уровня интерлейкина-2 под влиянием аутогемопрепарата с пирогеналом при IV стадии немелкоклеточного рака легких является новым. Продолжающиеся исследования по определению других видов цитокинов позволяют назвать такой вид иммунотерапии аутоцитокинотерапией, так как пирогенал стимулирует выделение собственных интерлейкинов. Также необходимо отметить, что по-видимому, эндогенный интерлейкин-2 потенцирует образование фактора некроза опухоли- $\alpha$  и интерферона- $\gamma$ .

Анализируя динамику 23 иммунологических параметров больных немелкоклеточным раком легкого IV стадии заболевания, необходимо отметить, что выраженные положительные изменения ряда показателей наблюдались у большей части пациентов. Отмечалось повышение абсолютного и относительного содержания в периферической крови лимфоцитов, Т-лимфоцитов, а также Т-хелперов, улучшение иммунорегуляторного индекса, а также снижение количества макромолекулярных комплексов.

Установлено, что аутоцитокинотерапия у 80% пациентов купирует симптомы интоксикации, болевой синдром, улучшает самочувствие. У пяти больных отмечена регрессия метастатических узлов в печени. Продолжительность жизни в группе больных, получавших симптоматическое лечение, составила в среднем 5-6 месяцев, а у пациентов, которым проводилась иммунотерапия пирогеналом в аутогемопрепарате в среднем – 10-14 месяцев.

## ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ АКТИВНОСТИ ЮВЕНИЛЬНОГО РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Батян Г.М.

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь

При ювенильном ревматоидном артрите (ЮРА) изменение активности регуляторных и эффекторных клеток обусловлено глубокими нарушениями в системе межклеточных взаимодействий за счет лимфокинов и монокинов. Основную роль в развитии воспалительной реакции играют провоспалительные цитокины: интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) и др. Процесс резорбции хряща, наблюдающийся при ЮРА, сопровождается

активацией ферментативного разрушения коллагена и протеогликанов. При этом источником протеолитических ферментов могут быть хондроциты, синовиоциты, а также клетки, проникающие в суставную полость из крови. Медиаторами этого процесса являются IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$ .

**Целью** настоящего исследования явилось изучение спонтанной и индуцированной продукции IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  мононуклеарами периферической крови (МПК) у больных ЮРА с разными степенями активности процесса.

**Материалы и методы.** Обследовано 54 ребенка с ЮРА в возрасте от 3 до 18 лет. Активность 1 степени выявлена у 26% больных, 2 степени – у 48%, 3 степени – у 26%. Контрольную группу составили 70 здоровых детей в возрасте от 4 до 18 лет.

Иммунологическое исследование включало определение спонтанной и индуцированной митогенами продукции IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ . В качестве стимулятора использовали липополисахарид (ЛПС) в конечной концентрации 5 мкг/мл («Sigma», L 4524, ФРГ).

Определение концентрации цитокинов в полученных супернатантах и сыворотках крови обследованных детей проводилось иммуноферментным методом с использованием диагностических наборов IMMUNOTECH. Исследуемые образцы инкубировались в лунках микропланшета, покрытых моноклональными антителами к определяемому цитокину. Детекция результатов проводилась на многоканальном фотометре «Labsystems» (Финляндия) при длине волны 405 или 450 нм. Чувствительность тест-системы составила 10 пг/мл.

**Результаты.** При анализе полученных данных установлено увеличение спонтанной продукции TNF $\alpha$  в супернатантах культур клеток при высокой степени активности процесса.

Выявлено достоверное увеличение спонтанной и индуцированной продукции IL-1 $\beta$  у детей со 2-й степенью активности (1606,6 $\pm$ 360,7 пг/мл;  $p < 0,01$ ; 3252,0 $\pm$ 658,3 пг/мл;  $p < 0,01$ ) и 3-й степенью активности ЮРА (430,0 $\pm$ 123,5 пг/мл;  $p < 0,05$ ; 2250,0 $\pm$ 589,1 пг/мл;  $p < 0,01$ ) по сравнению с детьми, имеющими 1-ю степень активности заболевания (90,0 $\pm$ 23,5 пг/мл; 126,6 $\pm$ 10,2 пг/мл). Причем, обращает на себя внимание очень высокая спонтанная продукция IL-1 $\beta$  мононуклеарами периферической крови детей со 2-й степенью активности по сравнению с 1-й и 3-й степенью. Кроме того, концентрация индуцированного IL-1 $\beta$  у детей со 2-й степенью определялась в 100% случаев при аналогичных показателях при 1-й и 3-й степени 43% и 75% соответственно.

**Заключение.** Высокое содержание IL-1 $\beta$  в супернатантах культур МПК детей со 2-й и 3-й степенями активности может являться важным диагностическим критерием тяжести процесса и развития острой воспалительной реакции при данной патологии.

## АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ

Бляхер М.С., Лопатина Т.К., Федорова И.М., Капустин И.В., Карпова Н.В., Котелева С.И. \*Шарапов Н.В., Иванов В.А.

ГУ МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Москва; \*Детский Республиканский санаторий «Кратово», Московская область, Россия

В настоящее время возросло количество заболеваний, связанных с дефектами состояния иммунной сис-

темы, именуемым вторичными иммунодефицитами, которые спровоцированы плохой экологической ситуацией, бесконтрольным применением медикаментозных препаратов, неправильным питанием и др. Это обуславливает необходимость лечения дефектов иммунной системы, что послужило причиной появления на рынке лекарств большого количества т.н. иммуномодуляторов, т.е. препаратов, улучшающих состояние иммунной системы. Для этих препаратов обычно хорошо охарактеризовано их воздействие на разные звенья иммунной системы, однако остается невыясненным ряд вопросов. Целесообразно ли их совместное применение, если направленность воздействия разная? Адекватно ли использование иммуномодуляторов с другими иммуностропными препаратами, например с вакцинами, для повышения их эффективности и безвредности? Можно ли применять иммуномодуляторы без предварительного исследования состояния иммунной системы у пациента? В данном исследовании мы попробовали хотя бы частично ответить на эти вопросы.

В ходе работы обследовано более 300 детей, проживающих в экологически неблагоприятных условиях (Брянская область, пострадавшая от аварии на Чернобыльской АЭС). Дети, проходившее оздоровительное лечение в санатории Кратово, получали достаточно широкий спектр иммуномодуляторов – отдельно или в сочетаниях – и были обследованы до и после лечения по нижеперечисленным параметрам (численность субпопуляций лимфоцитов, уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови, интерферогенез, уровень цитокинов в сыворотке крови, продукция цитокинов, содержание внутриклеточных цитокинов, продукция специфических антител к компонентам вакцины, состояние здоровья этих детей). Использованные иммуномодуляторы – полиоксидоний, ацилакт, афлубин, анаферон, вакцина ИРС 19.

Все иммуномодулирующие воздействия, включая просто санаторное лечение, были разнонаправлены у детей с исходно нормальным состоянием иммунной системы и у детей с исходно сниженными показателями иммунного статуса. У первых эффект иммунотерапии был отрицательным и приводил к снижению показателей иммунограммы, у последних – чаще положительный – наблюдалось улучшение или нормализация этих показателей.

Иногда совместное применение иммуномодуляторов (ИРС 19 + ацилакт, ИРС 19 + афлубин) у детей с исходно нормальными показателями иммунной системы нивелировало отрицательное воздействие отдельно применявшихся препаратов, иногда ситуация ухудшалась (ИРС 19 + анаферон). В ряде случаев изменение состояния иммунной системы в разных ее звеньях менялось по-разному – анаферон как сам по себе, так и в сочетании с ИРС 19, положительно воздействовал на численность субпопуляций лимфоцитов, а на продукцию ряда цитокинов (IFN $\gamma$ , ФНО $\alpha$  и др.) влиял отрицательно.

Анализ проведенных исследований позволил заключить, что применение иммуномодуляторов без исследования состояния иммунной системы нежелательно, т.к. в ряде случаев может существенно ухудшить ее состояние у здоровых лиц. Эффект от совместного применения иммуномодуляторов или вакцин разнонаправленного действия не всегда прогнозируем; такое применение должно быть обосновано в каждом конкретном случае сочетания препаратов.

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕВИРУСНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ И ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА

Вавилова А.Н., Широнова Н.Л., Лапин С.В.,  
Комиссаров С.Н.<sup>2</sup>, Антонова Т.В.,  
Радченко В.Г.<sup>1</sup>, Тоголян Арег А.

*НМЦ по молекулярной медицине МЗ и СР  
на базе СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;*

<sup>1</sup>*СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова;*

<sup>2</sup>*СПбГМА им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург;  
Мурманская инфекционная больница, Россия*

Аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз и первичный склерозирующий холангит относятся к аутоиммунным поражениям печени, при которых в 90% случаев выявляются специфические аутоантитела.

**Целью исследования** является выделение клинико-иммунологических характеристик у больных с вирусными и невирусными поражениями печени.

Нами обследовано 65 человек, среди которых у 30 было серологически доказано наличие вирусного гепатита С и у 6 человек – вирусного гепатита А. Методы лабораторного обследования: клинический и биохимический анализ крови, общий анализ мочи. Также было проведено обследование на наличие антител к гладким мышцам, антимиохондриальных антител, антинуклеарного фактора, антител к обкладочным клеткам желудка и антител к микросомам печени и почек.

У 24% больных с неverified поразением печени были выявлены аутоантитела различных видов. При этом у 24% больных с неverified гепатитом были выявлены антитела к гладким мышцам, у 6% – антитела к митохондриям и у 10% – антинуклеарный фактор. В группе больных с вирусным гепатитом антитела к гладким мышцам были выявлены в 11% случаев.

В результате обследования в группе больных с наличием антител к гладким мышцам было обнаружено снижение альбумина сыворотки крови ( $29,5 \pm 6,1$  г/л против  $47,7 \pm 9,2$  г/л;  $p < 0,05$ ), более высокий уровень  $\gamma$ -глобулинов ( $28,7 \pm 8,8$  г/л против  $21,1 \pm 6,9$  г/л;  $p < 0,05$ ) и повышенные значения тимоловой пробы ( $10,8 \pm 8,1$  против  $4,6 \pm 3,9$ ;  $p > 0,05$ ) по сравнению с пациентами, у которых такие аутоантитела не выявлялись.

В случае присутствия антител к гладким мышцам у больных отмечалось снижение альбумина сыворотки крови ( $29,5 \pm 6,1$ % против  $38,1 \pm 6,3$  г/л;  $p < 0,05$ ) и более высокий уровень  $\gamma$ -глобулинов ( $28,7 \pm 8,8$  г/л против  $19,3 \pm 8,4$  г/л;  $p < 0,05$ ) по сравнению с пациентами с неverified поражением печени и отрицательным ответом на наличие антител к гладким мышцам.

При сравнении групп больных с неverified вирусным гепатитом и вирусным гепатитом у больных неverified вирусным гепатитом был выявлен более высокий уровень  $\gamma$ -глобулинов ( $22,6 \pm 9,8$  г/л против  $16,5 \pm 6,1$ ;  $p < 0,05$ ) и количество лейкоцитов ( $6,9 \pm 2,3 \times 10^9$ /л против  $5,7 \pm 2,2 \times 10^9$ /л;  $p < 0,05$ ). В то же время в группе пациентов с вирусным гепатитом было отмечено повышение АЛТ, по сравнению с группой больных с неverified вирусным поражением печени ( $169,2 \pm 284,5$  ммоль/л против  $68,1 \pm 54,5$  ммоль/л соответственно;  $p < 0,05$ ).

Таким образом, было показано, что в группе больных с неverified вирусным поражением печени и наличием в сыворотке крови аутоантител к гладким мышцам наиболее выражено повышение уровня  $\gamma$ -глобулинов, а у больных с вирусным гепатитом преобладает синдром печеночно-клеточной недостаточности.

**ПРИМЕНЕНИЕ ЛИКОПИДА У ДЕТЕЙ С ОРВИ НА ФОНЕ ИНФИЦИРОВАНИЯ ГЕРПЕСВИРУСАМИ**

**Вершинина Е.Н., Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Монахова Н.Е.**

*НИИ детских инфекций, Санкт-Петербург, Россия*

У детей первого года жизни с отягощенным преморбидным фоном острые респираторные заболевания могут протекать тяжело с развитием осложненных форм. Особого внимания заслуживают дети, переносящие ОРВИ на фоне инфицирования герпесвирусами.

**Целью исследования** явилось определение эффективности использования ликопида при острых респираторных заболеваниях у детей, инфицированных герпесвирусами. Из 105 детей в возрасте от 1 мес. до 3 лет, больных ОРВИ, в 78% случаев (82 ребенка) установлено инфицирование герпесвирусами (ВПГ, ЦМВИ, ВЭБ). У 47% детей определялась моногерпетическая инфекция, в 31% случаев-смешанная. Ликопид назначали 37 больным; контрольную группу составили дети, получающие только базисную терапию-45 детей.

При неосложненных ОРВИ не выявлено достоверных различий как клинических, так и иммунологических параметров по сравнению с группой больных, не получавших ликопид. Напротив, клинический эффект препарата при его использовании у больных с осложненным течением ОРВИ (пневмония, бронхит, инфекция мочевыводящих путей – ИМВП) совпадал со значительным иммуномодулирующим эффектом ликопида. Продолжительность основных симптомов заболевания была достоверно ниже в группе, получавшей ликопид: при бронхитах и пневмониях сокращалась длительность катарального синдрома в днях ( $3,25 \pm 0,48$  vs  $6,8 \pm 0,75$ ), при ИМВП – синдрома интоксикации ( $3,83 \pm 0,45$  vs  $4,57 \pm 0,49$ ). У детей контрольной группы с бронхитами в периоде ранней реконвалесценции обнаруживались признаки иммуносупрессии по сравнению с детьми, получавшими ликопид, что проявлялось в значительном снижении числа (%) CD4<sup>+</sup>Т-лимфоцитов ( $26,3 \pm 2,65$  vs  $37 \pm 4,75$ ) и CD8<sup>+</sup> ( $13 \pm 2,29$  vs  $19,5 \pm 2,47$ ), а также содержания (г/л) в крови IgA ( $0,07 \pm 0,02$ ) и IgG ( $2,57 \pm 0,99$ ). Кроме того у пациентов, получивших ликопид, отмечалось повышение числа (%) ЕК CD16<sup>+</sup> и CD25<sup>+</sup> лимфоцитов, которого не было у детей контрольной группы. У детей с пневмонией ликопид способствовал активации синтеза IgM и IgA. При ИМВП применение ликопида также вело к активации синтеза IgM, без влияния на продукцию IgA или IgG. Под действием препарата у больных также повышалось содержание (%) CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и CD20<sup>+</sup> В-лимфоцитов, чего не наблюдалось у детей контрольной группы.

При катаральном наблюдении в течение 1 года у детей, получавших ликопид, наблюдали снижение заболеваемости, в то время как 39% детей из группы контроля переносили частые ОРЗ. У 50% из них заболевания протекали в среднетяжелой форме с бактериальными осложнениями (бронхиты, отиты, ангины).

Таким образом, положительный клинический эффект применения в курсе терапии ОРВИ ликопида, по-видимому, обусловлен его иммуномодулирующим влиянием, которое оптимизирует иммуногенез в целом, корректируя конкретные звенья иммунной защиты при сочетанной вирусно-бактериальной инфекции.

**ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ И ФАКТОРОВ РОСТА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ СЕРДЦА**

**Вторушина В.В., Сотникова Н.Ю., Горожанина Т.З.**

*ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова МЗ РФ», Иваново, Россия*

Среди патологии сердечно-сосудистой системы у новорожденных до 33% составляют дисплазии соединительной ткани сердца (ДСТС) – аномально расположенные хорды, пролапсы митрального и трикуспидального клапанов, открытое овальное окно, длинный евстахиев клапан, аневризма межпредсердной и межжелудочковой перегородки и др. ДСТС связаны с риском развития инфекционного эндокардита, легочной гипертензии, нарушения ритма сердца, тромбоэмболий, которые могут являться причиной внезапной смерти ребенка. В основе формирования дисплазий лежит аномалия тканевой структуры, проявляющаяся в нарушении содержания и соотношения отдельных видов коллагена, что приводит к снижению прочности соединительной ткани. Ведущее значение в формировании дисплазии соединительной ткани имеют мутации генов, кодирующих синтез и пространственную организацию коллагена, ответственных за формирование компонентов экстрацеллюлярного матрикса, а также многочисленных ферментов, принимающих участие во внутри- и внеклеточном созревании коллагена и процессах фибрилlogenеза.

Диспластические изменения соединительной ткани могут быть обусловлены неблагоприятной экологической обстановкой, неадекватным питанием, стрессами, инфекционными заболеваниями, в частности, внутриутробной инфекцией, гипоксией, аутоиммунными процессами, влияющими на организм в процессе онтогенеза.

Учитывая факторы риска развития ДСТС, можно предполагать, что нарушения функции иммунной системы играют важную роль в формировании данной патологии. В то же время, количество проведенных в данной области исследований незначительно, особенно в отношении детей раннего возраста.

В связи с этим, целью нашей работы было оценить содержание в сыворотке крови новорожденных с ДСТС трансформирующего фактора роста b2 (TGFB2), фактора роста фибробластов (FGF basic), фактора некроза опухоли α (TNFα и) и интерферона γ (IFNγ).

Проведено лабораторно-функциональное обследование 30 новорожденных. При функциональном обследовании (эхокардиография) новорожденные были разделены на две группы: 1 группа – 20 детей с ДСТС; 2 группа – 10 детей без ДСТС. Определение концентрации цитокинов и факторов роста проводилось методом ELISA – TGFB2 («Bender MedSystems», Австрия), FGF basic («BioSource International», Бельгия), TNFα и IFNγ (ООО «Цитокин», СПб, Россия).

Проведенный сравнительный анализ данных показал, что в группе новорожденных с ДСТС наблюдалось достоверное увеличение содержания в сыворотке крови TGFB2, FGF и TNFα ( $p < 0,05$  во всех случаях), а уровень IFNγ существенно не различался в обеих исследуемых группах.

Согласно литературным данным, основными медиаторами, отвечающими за дифференцировку и пролиферацию кардиальных миоцитов, являются трансформирующий фактор роста β и фактор роста фибробластов. Можно предположить, что интерферон γ, усиливая синтез про-

воспалительных цитокинов, в частности, фактора некроза опухолей  $\alpha$ , способствует привлечению макрофагов и Т-лимфоцитов в интерстициальную ткань, которые в свою очередь секретируют трансформирующий фактора роста- $\beta$ , стимулируя выработку фактора роста фибробластов и привлечение клеток в интерстиций в том числе и фибробластов, меняющих свой фенотип и секретирующих экстрацеллюлярные матричные белки (коллаген, эластин). Трансформирующий фактор роста- $\beta$  также выступает преимущественно как супрессорный фактор, сдерживающий, в частности аутоиммунные процессы. Повышенный уровень фактора некроза опухолей- $\alpha$  может говорить о напряженном противовирусном иммунном ответе.

Таким образом, с одной стороны изменения в продукции цитокинов и факторов роста могут быть непосредственно связаны с нарушениями формирования соединительно-тканного каркаса сердца, приводя к развитию дисплазии соединительной ткани сердца, а с другой стороны говорить о возможных причинах формирования данной патологии.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4.

#### **БАЛАНС ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ВОСПАЛЕНИЕМ НОСОГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ**

**Вышлов А.Н., Махов В.А., Сафронов И.Д., Киселев А.Б.**

*МЛПУ Зональный перинатальный центр; Государственный институт усовершенствования врачей, Новокузнецк; ГУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, Новосибирск; Новосибирская государственная медицинская академия, Новосибирск, Россия*

Эпидемиологическими исследованиями установлено, что хронические инфекционно-воспалительные заболевания верхних дыхательных путей встречаются в Сибири более чем у 40% жителей (Рымша М.А., 1998).

Среди них первое место в детском возрасте занимает хронический аденоидит (ХА). В структуре заболеваний верхних дыхательных путей его доля составляет около 50%.

Известно, что исходное состояние организма и совершенство его регуляторных и эффекторных механизмов в значительной степени определяет характер и особенности развития местных проявлений локального заболевания и взаимоотношений с компенсаторными и реактивными на организменном уровне (Меерсон Ф.З., 1993).

Установлено, что ХА сопровождается нарушением функционирования иммунной системы и поэтому может быть охарактеризован как многофакторный иммунопатологический процесс, который способствует развитию системных осложнений и/или отягощает их прогноз.

Одними из основных регуляторных факторов иммунитета являются ряд пептидов, носящих название цитокины. Нарушение их продукции и роль при развитии патологического процесса, в том числе и при хронических аденоидитах неоспорима. Но, к сожалению, до настоящего времени, публикации о клинико-иммунологических связях протекания воспалительного процесса лимфоид-

ной ткани носоглотки единичны, что не отражает потребности развития современной оториноларингологии. В частности, знание таковых особенностей может дать предпосылки к развитию консервативного лечения, в особенности иммунотерапии хронических аденоидитов.

Целью настоящей работы было выявить клинико-иммунологические взаимосвязи между различными формами патологии носоглоточной миндалины (хронический аденоидит, гипертрофия носоглоточной миндалины) и некоторыми факторами гуморального иммунитета – интерлейкинами IL-4 и IL-6 – у детей.

В соответствии с целью исследования проведено обследование 94 пациентов обоего пола, поступивших на лечение в оториноларингологическое отделение МЛПУ «Зональный перинатальный центр» г. Новокузнецка в 2003-2004 году в возрасте от четырех до десяти лет.

Первую группу (основная группа) составили 38 пациентов обоего пола с диагнозом хронический аденоидит. Пациентов женского и мужского пола было по 50% (19/38) – соотношение 1:1. Возраст пациентов данной группы варьировал от 4 до 10 лет. Средний возраст больных составил  $7\pm 0,3$  года.

Пациенты основной группы предъявляли жалобы на частые гнойные насморки (более трех раз в год), храп по ночам, затруднение носового дыхания в течении длительного времени (от 24 до 84 месяцев).

Вторую группу (группу сравнения) составили 40 пациентов с верифицированным диагнозом гипертрофия носоглоточной миндалины.

Пациенты данной группы предъявляли жалобы на постоянное затруднение носового дыхания (храп по ночам, постоянно открытый рот – со слов родителей).

Контрольную группу составили 16 практически здоровых пациентов, поступивших в отделение для выполнения косметических операции (привески уха, отоопластика, ринопластика и т.д.).

Определение концентрации интерлейкинов в сыворотке крови выполнялось твердофазным иммуноферментным методом на тест-системах «ProCon IL-4», «ProCon IL-6» (Протеиновый контур, Санкт-Петербург, Россия) по инструкции изготовителя.

#### **Результаты собственных исследований.**

Учитывая огромную роль цитокинов в кооперации функции иммунной системы как в норме, так и в патологии, было проведено изучение баланса одних из основных провоспалительных цитокинов – IL-4 и IL-6 – при хроническом аденоидите и гипертрофии носоглоточной миндалины у детей.

Концентрация IL-4 в сыворотке крови исследуемых групп составила ( $M\pm m$ , 95% CI): в группе контроля –  $41\pm 7$  (24 – 53) пг/мл, в группе больных с хроническим аденоидитом  $100\pm 12$  (47 – 120) пг/мл, в группе больных с гипертрофией носоглоточной миндалины  $129\pm 15$  (73 – 133) пг/мл.

При ХА в большинстве случаев концентрация IL-4 была выше значений группы контроля – в 59,1% (13/27), в 33,4% (9/30) – в рамках значений группы контроля, и в 18,5% (5/25) – ниже значений контрольной группы. В группе ГНМ в подавляющем большинстве случаев в 84,4% (27/32) концентрация IL-4 в сыворотке были выше значений группы контроля, в 12,5% (4/32) – в рамках «нормативных» значений, и только в 3,1% (1/32) концентрация IL-4 была ниже значений группы контроля.

Концентрация IL-6 в сыворотке крови исследуемых групп составила ( $M\pm m$ , 95% CI): в группе контроля –  $48\pm 3$  (36 – 54) пг/мл, в группе больных с хроническим аденоидитом

дитом  $73 \pm 6$  ( $48 - 75$ ) пг/мл, в группе больных с гипертрофией носоглоточной миндалины  $78 \pm 6$  ( $59 - 86$ ) пг/мл.

В группе ХА 12,5% (4/32) значения концентрации данного интерлейкина укладывались в значения группы контроля, в 9,4% (3/32) были ниже значений и в 78,1% (3/32) выше значений группы контроля.

Статистическое среднее группы ГНМ было также практически вдвое выше значений группы контроля. При этом при сравнении получены статистически значимые данные о различии «средних» групп ГНМ и К. Средние групп ХА и ГНМ статистически значимо не различались. Концентрация IL-6 при ГНМ в 81,1% (30/37) была выше, в 13,5% (5/37) случаев в рамках значений группы контроля и в 5,4% (2/37) – ниже значений контрольной группы. В рамках анализа настоящей группы выявлена положительная статистически значимая корреляция между IL-6 и IL-4 ( $r=0,375$ ,  $p=0,035$ ).

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1) при хроническом аденоидите происходит ступенчатое повышение уровня IL-4 и IL-6 соответственно прогрессу хронизации воспаления, причем наибольшие повышение концентрации данных цитокинов в сыворотке крови связано со степенью гипертрофии носоглоточной миндалины.

2) повышение концентрации IL-4 и IL-6 в достаточной степени коррелирует между собой, что указывает на взаимосвязь действия данных цитокинов при развитии хронического патологического процесса в лимфоидной ткани носоглоточной миндалины.

В заключение необходимо отметить, что исследование содержания факторов кооперации иммунной системы, в частности цитокинов, перспективно с точки зрения разработки новых методов иммунотерапии хронических заболеваний лимфоидной ткани носоглотки, что особенно актуально в педиатрической практике.

## ВЛИЯНИЕ МИЕЛОПЕПТИДОВ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ *IN VITRO*

**Гаврилова Т.В., Гейн С.В., Погудина Т.А., Черешнев В.А.**

*Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН; Пермский государственный университет, Пермь, Россия*

Миелопептиды представляют собой группу биорегуляторных пептидов костномозгового происхождения, обладающую нейротропной, дифференцировочной и иммунокорригирующей активностью.

**Цель работы** – изучение роли моноцитов в реализации эффектов миелопептидов на пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови. Лейкоциты и освобожденную от моноцитов фракцию мононуклеаров периферической крови здоровых мужчин-добровольцев в возрасте от 22 до 30 лет культивировали с различными концентрациями ФГА (конечная концентрация в культуре 20; 2,5, мкг/мл) в 96-луночных планшетах на среде 199 с добавлением 10 мМ НЕРЕС, 2 мМ L-глутамин, 100 мкг/мл гентамицина и 10% аутоплазмы в течение 72 часов. За 18 часов до окончания культивирования в каждую лунку вносили по 2 мкКи  $^3\text{H}$ -метилтимидина. Миелопептид ( $10^{-7}$  г/мл), МП-1 и МП-3 ( $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-10}$  г/мл), МП-5 и МП-6 ( $10^{-7}$  г/мл) вносили в культуры сразу с момента их постановки. Освобождение фракции

мононуклеаров от моноцитов производили путем адгезии на чашках после выделения мононуклеаров на градиенте плотности фиколл-верографин. Установлено, что миелопептиды МП-1, МП-3 и МП-6 оказывали супрессивный эффект на реакцию бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ), проявляющийся в культурах преимущественно с субоптимальной концентрацией митогена (2,5 мкг/мл). Миелопептид и МП-5 на выраженность пролиферативного ответа не влияли. В случае удаления моноцитов из фракции мононуклеаров, ингибирующие эффекты МП-1, МП-3 и МП-6 на ФГА-индуцированную пролиферативную активность лимфоцитов нивелировались. Сравнительный анализ действия отдельных миелопептидов показал, что наиболее выраженный эффект на РБТЛ наблюдался со стороны МП-3. На спонтанную пролиферативную активность лимфоцитов влияния исследуемых миелопептидов зарегистрировано не было.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ЭРОЗИВНЫМ АНТРАЛЬНЫМ ГАСТРИТОМ ДО И ПОСЛЕ ТЕРАПИИ ПРЕПАРАТОМ «БАКТИСТАТИН».

**Гайковая Л.Б., Авалуева Е.Б., Боганькова Н.А.**

*ГОУВПО Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Россия*

У больных кислотозависимыми заболеваниями желудка и двенадцатиперстной кишки имеет место нарушение иммунитета, связанное с применением эрадикационной терапии по поводу обострения заболевания.

**Цель исследования** заключалась в оценке изменений состояния иммунного статуса у больных с эрозивным антральным гастритом после курса эрадикационной терапии и на фоне применения биологически активной добавки «Бактистатин». «Бактистатин» представляет собой комплекс: *Bacillus subtilis* (штамм 3), цеолит – природный адсорбент на основе диоксида кремния, гидролизат соевой муки и стеарат кальция и обладает иммуностимулирующим действием.

Изучалось состояние клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета у больных с эрозивным антральным гастритом после эрадикационной терапии и оценивалась эффективность влияния «Бактистатина» на иммунитет этих больных. Иммунологическое исследование крови проводилось 20 пациентам, которые получали по 2 капсулы по 2 раза в день «Бактистатин» после курса эрадикационной терапии в течение 28 дней. Клеточный иммунитет оценивали по абсолютному и относительно количеству субпопуляций лимфоцитов ( $\text{CD3}^+$ ,  $\text{CD4}^+$ ,  $\text{CD8}^+$ ,  $\text{CD16}^+$ ,  $\text{CD19}^+$ ), реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) с фитогемагглютинином (ФГА). Определяли концентрацию иммуноглобулинов А, М и G в сыворотке по Mancini и уровень циркулирующих иммунных комплексов. Оценка состояния неспецифической резистентности проводилась по фагоцитарному числу и фагоцитарному индексу.

У больных с эрозивным антральным гастритом после эрадикационной терапии выявлялось достоверное снижение абсолютного количества цитотоксических лимфоцитов ( $0,38 \pm 0,16 \cdot 10^9/\text{л}$ ) и функциональной активности Т-лимфоцитов по РТМЛ с ФГА ( $88,0 \pm 6,7\%$ ). Кроме того, у всех обследованных в сыворотке наблюдалось повышение уровня ЦИК ( $96,0 \pm 8,2$  ед.) и концентрации иммуноглобулина М ( $1,78 \pm 0,6$  г/л). Миграционная способность нейтрофи-

лов была ниже контрольных значений –  $1,57 \pm 0,2$  ед. Следовательно, после эрадикационной терапии наблюдались изменения во всех звеньях иммунной системы.

На фоне приема препарата «Бактистатин» у больных эрозивным гастритом функциональная активность Т-лимфоцитов по РТМЛ с ФГА достигала контрольных значений ( $55,0 \pm 4,3\%$ ), снижался уровень циркулирующих иммунных комплексов. При анализе показателей неспецифической резистентности наблюдалось снижение фагоцитарной функции нейтрофилов на фоне повышения их микробицидности по НСТ-тесту ( $26,3 \pm 2,4\%$ ) и миграционной способности ( $2,3 \pm 0,9$  ед.).

Таким образом, установлено иммуномодулирующее действие «Бактистатина» у пациентов с эрозивным антральной гастритом и препарат рекомендован для комплексной терапии кислотозависимых заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки.

### **ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ОБМЕНА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ**

**Голованова А.Е.**

*Красноярский Государственный Университет,  
Красноярск, Россия*

В последние годы внимание специалистов различных направлений привлекает к себе проблема роста заболеваемости инфекционным мононуклеозом, особенно среди детей. Инфекционный мононуклеоз – лимфопролиферативное заболевание, возбудителем которого чаще всего является вирус Эпштейна-Барр (EBV). На сегодняшний день инфекционный мононуклеоз рассматривается как заболевание иммунной системы. Однако до сих пор иммунные механизмы патогенеза данного заболевания изучены не до конца и требуют дальнейшего исследования.

Целью данного исследования явилось изучение уровня активности метаболических ферментов лимфоцитов крови у детей с инфекционным мононуклеозом в разных возрастных группах.

Всего обследовано 215 детей в возрасте 1-14 лет. Среди них 70 детей в возрасте 1-3 года (29 – здоровых, 41 – больной), 53 ребенка в возрасте 4-6 лет (33 – здоровых, 20 – больных) и 92 ребенка в возрасте 7-14 лет (71 – здоровый, 21 – больной). Для определения активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови использовали биoluminesцентный метод.

Результаты проведенного исследования показали, что у детей с инфекционным мононуклеозом независимо от возраста в лимфоцитах крови повышается активность глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), НАД-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДИЦДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (НАДН-МДГ), но при понижении уровня малик-фермента (НАДФМДГ). Кроме того, у больных детей 4 – 6 и 7 – 14 лет в лимфоцитах крови повышена активность НАД-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ) и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (НАДН-ЛДГ). В лимфоцитах крови у больных детей 1 – 3 и 4 – 6 лет повышена активность НАД-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАД-ГДГ). В то же время, в иммунокомпетентных клетках у больных детей 1 – 3 и 7 – 14 лет повышена активность глутатионредуктазы (ГР).

Исследуемые ферменты занимают ключевые позиции в метаболизме, регулируют субстратные потоки в клетке

и поэтому, в конечном итоге, определяют степень функциональной активности лимфоцитов. Так, повышение активности Г6ФДГ, являющейся ключевой реакцией пентозофосфатного цикла, приведет к увеличению наработки интермедиатов для процессов макромолекулярного синтеза. Пентозофосфатный цикл является основным конкурентом гликолиза за субстрат. Однако, анаэробная реакция ЛДГ в лимфоцитах крови у больных детей в возрасте 4 – 6 и 7 – 14 лет повышена, что характеризует активацию анаэробного окисления глюкозы. Ферментативная реакция, которая может компенсировать отток субстратов с гликолиза, катализируется ГЗФДГ, активность которой повышена в иммунокомпетентных клетках у детей с EBV-инфекцией. Данный фермент осуществляет перенос продуктов липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза. При этом необходимо отметить, что в лимфоцитах больных детей снижается активность НАДФМДГ, которая является ключевой в реакциях липидного анаболизма. Можно заключить, что повышенный распад липидов для поддержания интенсивности гликолиза и снижение анаболических реакций соответственно может привести к истощению липидного пула в иммунокомпетентных клетках детей с EBV-инфекцией.

Кроме того, метаболический статус иммунокомпетентных клеток у больных EBV-инфекцией характеризуется повышением активности ГР у детей в возрасте 1 – 3 и 7 – 14 лет, что свидетельствует об активации глутатион-зависимой антиоксидантной системы.

Лимфоциты являются клетками, где энергетические реакции определяются интенсивностью как анаэробных, так и аэробных процессов. Обнаружено, что уровни активности МДГ и НАДИЦДГ (оксидоредуктаз цикла Кребса) в лимфоцитах крови у больных детей повышены. Кроме того, отмечено повышение активности НАДГДГ в лимфоцитах крови у детей с EBV-инфекцией в возрасте 1 – 3 и 4 – 6 лет, которое характеризует субстратную стимуляцию реакций цикла трикарбоновых кислот за счет интермедиатов аминокислотного обмена.

Таким образом, реактивность метаболизма иммунокомпетентных клеток при инфекционном мононуклеозе характеризуется активацией пентозофосфатного цикла, гликолиза и реакций, определяющих аэробные процессы. Кроме того, в лимфоцитах больных детей активированы реакции липидного катаболизма и снижена активность ключевой реакции липидного анаболизма. Подобное метаболическое состояние лимфоцитов на клеточном уровне характеризует иммунную реакцию организма к инфекционному фактору.

### **ИММУНОКОРРИГИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ РЕАМБЕРИНА И ЦИКЛОФЕРОНА НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ БОЛЬНЫХ ГЕРОИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ**

**Горбач В.В., Зурочка А.В.**

*НИИ иммунологии Челябинской Государственной  
Медицинской Академии, г.Челябинск, Россия*

**Введение.** Ранее мы показали, что проведение стандартных детоксицирующих мероприятий у больных героиновой интоксикацией, приводит к значительной депрессии иммунной системы, требующей проведения иммунокорректирующей терапии.

**Цель работы.** Изучить иммунокорректирующее влияние применения реамберина и циклоферона на актив-

ность иммунокомпетентных клеток больных героиновой интоксикацией.

**Материалы и методы.** Было изучено влияние реамберина и циклоферона в стандартных дозировках на состояние иммунной системы 68 больных героиновой интоксикацией. Контролем служили 72 больных, находящихся на стандартной дезинтоксикационной терапии. Оценку иммунной системы проводили по уровню CD3, CD4, CD8, CD10, CD11b, CD16, CD20, CD25, CD34, CD56, CD95, HLA-DR позитивных клеток, фагоцитарной, лизосомальной и НСТ – активности фагоцитов, уровням ЦИК, IgA, IgM, IgG, CН50 и C1 – C5 фрагментов комплемента.

**Результаты исследования.** Анализ проведенной работы показал, что последовательное введение реамберина и циклоферона у больных героиновой интоксикацией восстанавливало экспрессию CD3, CD4, CD8 позитивных клеток, снижало уровни активационных маркеров лимфоцитов (CD25, CD95, HLA-DR), восстанавливали функции фагоцитов и нормализовало активность гуморального звена иммунитета по сравнению с больными, получавшими только стандартную дезинтоксикационную терапию.

**Выводы.** Комплексное применение реамберина и циклоферона больным героиновой интоксикацией способствует восстановлению активности иммунной системы наркоманов, нарушенной в результате действия наркотического вещества и стандартных детоксицирующих лечебных мероприятий.

#### **ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА БЕСТИМ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО КАНДИДОЗНОГО ВУЛЬВОВАГИНИТА**

**Долгушин И.И., Овденко М.Б.**

*НИИ иммунологии Челябинской государственной медицинской академии, г. Челябинск, Россия*

Кандидозный вульвовагинит – инфекционное поражение слизистой вульвы и влагалища, вызываемое дрожжеподобными грибами рода *Candidae*. Особенностью хронического рецидивирующего кандидозного вульвовагинита (ХРКВ) является длительное течение, частое рецидивирование, а также значительные трудности в применении методов терапии. Противогрибковая терапия эффективно лечит обострения ХРКВ, но не предотвращает развитие новых рецидивов, причина которых кроется в несостоятельности иммунного контроля инфекции. Очевидна актуальность поиска эффективных методов активации иммунитета с целью лечения ХРКВ.

**Цель работы:** Изучить клинико-иммунологическую эффективность синтетического иммуномодулятора бестим в комплексной терапии ХРКВ. Бестим – синтетический дипептид Y-Glu-I-Trp с выраженными иммуномодулирующими свойствами, активирует дифференцировку предшественников Т-лимфоцитов, повышает продукцию IL-2, фагоцитарную активность макрофагов.

**Материалы и методы:** Продолжительность исследования составила 6 месяцев. В исследование были включены 60 пациенток в возрасте от 18 до 47 лет с ХРКВ. 40 женщин составили опытную группу, 20 – контрольную. Пациентки получали бестим в комплексной терапии с системным антимикотиком флюконазолом и местным лечением. Пациентки контрольной группы – 20 человек получали системный антимикотик флюконазол в дозировке 150 мг 1 раз в неделю N2, а также местное лечение. Пациентки опытной

группы – 40 человек получали комплексную терапию. Бестим вводился внутримышечно 1 раз в сутки в дозе 0,0001г, курс лечения составил 5 инъекций. На 3-ий день после начала лечения бестимом пациентки получали флюконазол 150 мг внутрь и через 7 дней повторно; также проводилось местное лечение с использованием антимикотиков.

**Результаты и обсуждение:** Все пациентки, получавшие иммуностимулятор бестим, отметили его хорошую переносимость. В группе больных, получавших бестим, клиническое выздоровление наступило у 34 женщин (85%). У этих пациенток исчезли жалобы на зуд, жжение во влагалище, выделения из половых путей, рези при мочеиспускании, отечность, гиперемия слизистой влагалища; значительное улучшение отметили 6 пациенток (15%). Оценка иммунного статуса пациенток, проведенная через 1 месяц после комплексного лечения с использованием бестима, показала отчетливую тенденцию к нормализации измененных показателей иммунитета. Так, в вагинальном секрете женщин с ХРКВ после комплексной терапии, включающей бестим, заметно уменьшилось общее число лейкоцитов, жизнеспособность нейтрофилов. При изучении фагоцитарной активности нейтрофилов вагинального секрета было установлено, что у пациенток с ХРКВ активность и интенсивность фагоцитоза были значительно снижены. После проведенной терапии бестимом отмечена положительная динамика и тенденция к восстановлению этих показателей. Иммунологический эффект воздействия бестима заключался в резком стремлении к уменьшению активности лизосом в вагинальном секрете. Исследование НСТ-реакции нейтрофилов вагинального секрета на добавление частиц латекса у больных ХРКВ выявило, что нейтрофилы вагинального секрета не отвечали изменением кислородзависимого метаболизма на воздействие латекса. Функциональный резерв нейтрофилов у больных ХРКВ был значительно ниже, чем такой же показатель у здоровых. Комплексная терапия больных ХРКВ с использованием бестима оказывала выраженное нормализующее влияние на окислительный метаболизм нейтрофилов вагинального секрета. Существенные изменения наблюдались в показателях системного иммунитета. После лечения наблюдалась положительная динамика: повысились показатели клеточных антигенов CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD56, CD95; иммунорегуляторный индекс после лечения составил 1,6 по сравнению с 1,17 до лечения. Среди неспецифических факторов защиты повысилась активность и интенсивность фагоцитоза у пациентов, получавших комплексную терапию. Отмечено также изменение показателей гуморального иммунитета: IgA понизился, IgG повысился, IgM практически не изменился.

**Выводы:** Применение бестима способствует выраженной нормализации факторов системного и местного иммунитета. Использование бестима в комплексной терапии ХРКВ приводит к повышению излеченности и препятствует возникновению рецидивов.

#### **ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА У БОЛЬНЫХ СИФИЛИСОМ НА ФОНЕ ИММУНОКОРРЕКЦИИ БЕСТИМОМ**

**Долгушин И.И., Фаст М.В.**

*НИИ иммунологии Челябинской государственной медицинской академии, г. Челябинск, Россия*

Сифилис – хроническое инфекционное заболевание, возникающее при заражении бледной трепонемой, преимущественно половым путем.

В последнее время большое внимание уделяется детальному изучению иммунных механизмов в патогенезе сифилитической инфекции. В литературе имеются сообщения о нарушении у больных сифилисом иммунологической реактивности. В течении сифилитической инфекции доказана клеточная иммуносупрессия, проявляющаяся в снижении числа Т- и В- лимфоцитов в периферической крови больных сифилисом и Т-зависимых зонах лимфоидных органов, подавляется фагоцитарная активность нейтрофилов с выраженным отрицательным хемотаксисом фагоцитов. В то же время, состояние гуморальных факторов, характеризующих неспецифические механизмы иммунного ответа, активизируется. Развитие клинической картины при переходе заболевания в фазу вторичного рецидивного сифилиса сопровождается увеличением частоты обнаружения IgM, IgA, IgG в диагностически значимых количествах. Все вышесказанное позволяет рассмотреть вопрос о возможном применении иммуномодуляторов в лечении сифилитической инфекции. В настоящее время в НИИ ОГБП (г. С-Петербург) синтезирован препарат Бестим – синтетический дипептид у-Glu-L-Trp с выраженными иммуномодулирующими свойствами. Бестим активирует дифференцировку предшественников Т-лимфоцитов, повышает продукцию IL-1 $\alpha$  и фагоцитарную активность макрофагов.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение показателей клеточного и гуморального иммунитета, а также обоснование включения в комплекс терапии сифилитической инфекции препарата Бестим.

В исследование были включены 53 пациента (33 из них составили опытную группу и 20 человек – контрольную) со вторичным сифилисом кожи и слизистых, с давностью заболевания более 6 месяцев. Больные были распределены по двум группам в зависимости от применяемого лечения. Основная группа (33 человека) получила лечение водорастворимым пенициллином по 1 000 000 Ед. 4 раза в сутки №20 согласно инструкции МЗ РФ от 2003 г. в сочетании с Бестимом. Бестим вводили путем в/м инъекции на 5-е сутки от начала пенициллинотерапии в виде 5-ти ежедневных инъекций в дозе 0,0001 г на 2 мл. изотонического раствора хлорида натрия 1 раз в сутки. В группе сравнения (20 человек) лечение проводилось только водорастворимым пенициллином по той же схеме согласно инструкции МЗ РФ. До лечения и после окончания терапии пациентам обеих групп проводилось комплексное клиническое, лабораторное и иммунологическое обследование.

Больные в количестве 53 человек (из них 32 женщины и 21 мужчина) находились под наблюдением в стационаре на протяжении всего периода лечения (в среднем около 22 суток). Клинические проявления вторичного периода сифилиса у пациентов были представлены следующими формами: розеолезная сыпь у 15-ти; папулезные высыпания: в полости рта у 5-ти, анальной области – у 12-ти, гениталий – у 17-ти, ладоней – у 13-ти, подошв – у 8-ми; полиаденит у 10-ти, паховый лимфаденит у 4-х; очаговая аллопеция у 3-х, диффузная аллопеция – у 2-х; лейкодерма – у 2-х. Динамика изменений иммунологических показателей была представлена следующим образом: в обеих группах до начала лечения наблюдалось снижение (по сравнению с нормой) процентных показателей CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> клеток и иммунорегуляторного индекса также увеличилось, а также увеличение Ig класса А, М, G и циркулирующих иммунных комплексов (в 2 раза по сравнению

с нормой). После курса терапии у пациентов, получавших в качестве иммунокорректирующей терапии препарат Бестим возросло содержание: зрелых Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>), содержание субпопуляции CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup> лимфоцитов и иммунорегуляторного индекса. Наблюдалось снижение Ig класса М, показатели IgA и G существенно не менялись. Достоверно снизилось количество циркулирующих иммунных комплексов. В группе контроля лишь намечалась положительная тенденция к изменению данных показателей. Проводя сравнительный анализ разрешения клинических проявлений у пациентов в обеих группах было отмечено, что у пациентов в опытной группе клинические проявления разрешались в среднем на 5-6 дней раньше, чем у больных в группе сравнения.

### **ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I ЧЕЛОВЕКА НА ЕГО ЭКСПРЕССИЮ ПОСЛЕ ПЕРЕНОСА МЫШАМ МЕТОДОМ ГИДРОДИНАМИЧЕСКИХ ИНЪЕКЦИЙ**

**Ефремов А.М.<sup>1,2</sup>, Акифьев Б.Н.<sup>1</sup>, Дуже Э.Б.<sup>1</sup>, Могиленко Д.А.<sup>1,2</sup>, Олейникова Г.Н.<sup>1</sup>, Лапиков И.А.<sup>1,2</sup>, Жданова О.Ю.<sup>1</sup>, Орлов С.В.<sup>1,2</sup>, Перевозчиков А.П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>НИИ экспериментальной медицины Российской академии медицинских наук;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Атеросклероз – одна из главных причин развития сердечно-сосудистых заболеваний, в частности ишемической болезни сердца. Характерным показателем развития атеросклероза является снижение содержания в крови липопротеинов низкой плотности (ЛПВП). Особое внимание уделяется антиатерогенным свойствам ЛПВП и их главной белковой составляющей – аполипопротеину А-I (Аро А-I). Антиатерогенные свойства человеческого Аро А-I были продемонстрированы в экспериментах с трансгенными животными.

Ген человека в составе плазмидных векторов экспрессии переносили *in vivo* мышам С57Bl/6 методом гидродинамических инъекций в хвостовую вену. Использовали плазмидные векторы экспрессии Аро А-I двух видов: 1) рСМVсароАI – кДНК Аро А-I под контролем промотора СМV; 2) рАIg – геномный локус, в котором интронированный ген Аро А-I находится под контролем собственной протяженной 5'-регуляторной области (АРОАI) (-5976...+1 относительно точки инициации транскрипции). Гидродинамические внутривенные инъекции плазмид обоих типов приводили к появлению в клетках печени мышей мРНК Аро А-I человека, а в крови животных – человеческого белка Аро А-I. Динамика содержания Аро А-I человека в сыворотке крови мышей, инъецированных указанными плазидами, была различной. В случае рСМVсароАI Аро А-I человека выявлялся на следующий день после инъекции в максимальных значениях, а затем его содержание спадало до нуля к концу второй недели. В случае рАIg белок Аро А-I человека появлялся в плазме крови мышей только на второй день после инъекции и достигал максимальных значений на 5-7 сутки от начала эксперимента. Значительный уровень Аро А-I сохранялся в плазме крови инъецированных мышей в течение нескольких месяцев (в отдельных случаях до полугода). Длительная экспрессия человеческого Аро А-I в печени

инъецированных мышей С57В1/6 не приводила к развитию гуморального иммунного ответа.

Различия в динамике экспрессии плазмид рСМVсароАI и рАIg могли объясняться либо способностью тканеспецифической промоторной области Аро А-I человека обеспечивать длительную экспрессию перенесенного гена в печени мышей (рАIg), в отличие от вирусспецифического промотора СМV (рСМVсароАI), либо важностью экзон-интронной структуры Аро А-I для его продолжительной экспрессии.

Для проверки этих предположений мыши С57В1/6 были инъецированы вектором экспрессии рАРОАIг<sub>ус</sub>, содержащим кДНК-копию репортерного гена люциферазы под контролем минимального промотора и печеночного энхансера (-256...+1) гена Аро А-I человека. Активность люциферазы в лизатах печени инъецированных мышей была максимальной на первые сутки после начала эксперимента и падала более чем в 100 раз на третьи сутки после инъекций. Аналогичные эксперименты, проведенные с генетической конструкцией рАРОАIг<sub>аро</sub>, содержащей интронированный ген Аро А-I человека под контролем собственных минимального промотора и печеночного энхансера (-273...+1), также выявили высокий уровень Аро А-I человека в плазме крови инъецированных мышей уже на первые сутки после начала эксперимента. Вместе с тем, уровень Аро А-I сохранялся в течение нескольких недель после инъекций. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют в пользу роли экзон-интронной структуры перенесенного гена в поддержании его длительной экспрессии в печени мышей после гидродинамического переноса. Существенную роль в этом процессе могут играть провоспалительные цитокины, уровень которых может повышаться в крови мышей в результате гидродинамических инъекций.

#### **ВЛИЯНИЕ ПОЛИХРОМАТИЧЕСКОГО ВИДИМОГО И ИНФРАКРАСНОГО СВЕТА НА СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА HSP70 В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

**Жеваго Н.А., Новоселов С.С., Гужова И.В., Маргулис Б.А., Самойлова К.А.**

*Институт цитологии РАН,  
Санкт-Петербург, Россия*

Иммунокорректирующее, ранозаживляющее и адаптивное действие видимого и инфракрасного (ИК) излучений от лазерных и нелазерных фототерапевтических аппаратов широко используется в современной медицине. Не исключено, что в развитии некоторых из этих эффектов принимает участие белок теплового шока (Hsp70), который, будучи важным элементом системы поддержания нативного состояния белков организма, выполняет широкий спектр защитных функций, в частности, обладает иммуномодулирующим действием (участие в презентации антигена, активации и созревании дендритных клеток, стимуляции иммуноцитов с усилением продукции провоспалительных цитокинов и др). Этот вопрос, однако, остается еще слабо изученным.

**Цель и задачи.** Изучить влияние полихроматического видимого + ИК поляризованного (ВИП) света в терапевтических дозах на содержание в периферической крови человека Hsp70 после облучения кожных покровов и образцов крови *in vitro* при сочетанном воздействии со

слабоповреждающим стрессорным фактором – гемоэкспфузиями небольших объемов.

**Материалы и методы:** 22 добровольцам первой группы облучали крестцовую область (D=15 см) светом фототерапевтического аппарата «Віортрон» (Швейцария; 480-3400 нм, 12 Дж/см<sup>2</sup>) и в разные сроки проводили взятие крови для исследований. При облучении крови в условиях *in vitro* (в чашках Петри) использовали в 5 раз меньшую дозу (2,4 Дж/см<sup>2</sup>). Вторую группу составили 11 необлученных лиц, которым в те же сроки и в том же объеме (65 мл за 5 сут) проводились 3 гемоэкспфузии без облучения. Для определения содержания в плазме Hsp70 использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа (тест-системы разработаны в Лаборатории защитных механизмов клетки Института цитологии РАН).

**Основные результаты.** У 55% облученных добровольцев в плазме крови, полученной через 0,5 ч после однократного облучения, регистрировалось снижение содержания Hsp70, в среднем, на 12% (p<0.05). Тенденция к снижению сохранялась через 24 ч и после 4 ежедневных сеансов фототерапии (в 53 и 60% случаев, в среднем, на 13 и 18%). При прямом облучении крови в условиях *in vitro* подобная закономерность не выявлялась. В группе необлученных лиц изменения носили противоположный характер: через 0,5 ч после 1-го взятия крови и 24 ч после 2-кратных гемоэкспфузий в 55 и 46% случаев отмечалась тенденция к возрастанию концентрации Hsp70 (на 39 и 24%, соответственно); к 5 сут эффект повышения (в среднем, на 26%; p<0.05) регистрировался у 73% добровольцев.

**Заключение.** Таким образом, облучение светом небольшого участка поверхности тела человека способствует снижению уровня Hsp70 в периферической крови, которое возрастает после воздействия слабоповреждающего стрессорного фактора (гемоэкспфузий). Этот факт можно рассматривать как проявление антистрессорного действия фототерапевтических процедур. Механизм эффекта в условиях *in vivo*, по всей вероятности, связан с повышением утилизации Hsp70 тканями организма, а не с фотомодификацией компонентов крови, поскольку при облучении *in vitro* уровень Hsp70 не меняется.

#### **ЭКСПРЕССИЯ ЦИТОКИНОВ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В И С**

**Железникова Г.Ф., Горячева Л.Г., Монахова Н.Е.**

*НИИ детских инфекций МЗ РФ,  
Санкт-Петербург, Россия*

Заражение вирусами гепатита В (HBV) и С (HCV) нередко происходит в раннем возрасте, при этом заболевание изначально приобретает хроническую форму, характеризующуюся малосимптомным, торпидным течением. Полагают, что персистенция вирусов обусловлена угнетением синтеза IFN $\alpha$ / $\beta$  и  $\gamma$  с нарушением баланса цитокинов Th1/Th2 в пользу Th2. Однако остается неясной роль отдельных цитокинов в патогенезе хронических вирусных гепатитов (ХВГ). Ранее нами был изучен цитокиновый статус подростков, страдающих ХГ В и С (Шилова И.В., 2003).

**Целью** настоящей работы явилась оценка продукции *in vivo* цитокинов (в ИФА) у детей с ХГ В и С. Обследовано 37 детей в возрасте от 4 до 8 лет с вирусологически подтвержденной HBV- (n=25) или HCV-инфекцией (n=12). По уровню АлАТ больные были разделены на две

ТАБЛИЦА. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В И С

Группа		n	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$	IL-8	IFN $\alpha$	IFN $\gamma$	IL-4
ХВГ В	1	4	1360 $\pm$ 196*	579 $\pm$ 127*	21 $\pm$ 6,9*	9,5 $\pm$ 3,3	154 $\pm$ 64	443 $\pm$ 66*
	2	21	430 $\pm$ 32*	149 $\pm$ 35*	6,5 $\pm$ 1,9*	6,8 $\pm$ 2,5	58 $\pm$ 16	61 $\pm$ 16
P			<0,001	<0,001	<0,05	-	-	<0,001
ХВГ С	1	5	1099 $\pm$ 238*	203 $\pm$ 82*	31 $\pm$ 14	3,5 $\pm$ 0,4	21 $\pm$ 7,2*	344 $\pm$ 84*
	2	7	554 $\pm$ 81*	98 $\pm$ 26*	51 $\pm$ 21	2,9 $\pm$ 0,6	17 $\pm$ 3,0*	70 $\pm$ 14
P			<0,05	-	-	-	-	<0,001
«Норма»		10	136 $\pm$ 26	19 $\pm$ 4	49 $\pm$ 11	32 $\pm$ 20	92 $\pm$ 24	51 $\pm$ 7

Примечания: цитокины в пг/мл; \* –  $p < 0,05$  в сравнении с «нормой».

группы – с умеренной (1) и минимальной (2) активностью процесса.

У детей с ХВГ В выраженность воспалительного процесса в печени коррелировала с ответом цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и IL-4, концентрация которых в сыворотке крови у 4 пациентов с умеренной активностью в 3-7 раз превышала показатели у больных основной группы с минимальной активностью гепатита. Уровень IL-8 оказался сниженным относительно «нормы», но при этом у больных 1-й группы он был все же существенно выше по сравнению со 2-й. У детей с ХВГ С выраженность цитолиза гепатоцитов (по уровню АлАТ) была прямо связана с содержанием в крови IL-1 $\beta$  и IL-4. Подъем TNF $\beta$  в фазу умеренной активности процесса проявлялся в виде тенденции, а концентрации IL-8 были в пределах «нормы». Ни при HBV-, ни при HCV-инфекции у детей не обнаружено стимуляции синтеза IFN $\alpha$ . Секретция IFN $\gamma$  значительно различалась при этих двух инфекциях. Если при ХВГ В его уровень в циркуляции был близок к «нормальному», с заметным повышением в фазу умеренной активности процесса, то при ХВГ С концентрации цитокина не достигали «нормы» в обе фазы гепатита. В фазу умеренной активности ХВГ имела место преимущественная стимуляция синтеза цитокина Th2 IL-4. Коэффициент IFN $\gamma$ /IL-4 составлял 0,4 и 1,5 (ХВГ В), или 0,1 и 0,3 (ХВГ С) (1-я и 2-я группа соответственно), против 1,8 в «норме».

Таким образом, усиление воспалительных реакций в печени при ХВГ ассоциировано с активацией синтеза IL-1 $\beta$  и IL-4, при слабой реакции со стороны клеток, секретирующих IFN $\gamma$ , (ХВГ В) или даже при ее отсутствии (ХВГ С).

#### ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОГО ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 БЕТА НА МОДЕЛИ ЛЕТАЛЬНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

Зезюлин П.Н., Минаева Е.Н., Синкевич И.Е., Симбирцев А.С.

ГНЦ НИИ особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург, Россия

Цитокины семейства интерлейкина-1 (IL-1) являются одними из важнейших медиаторов развития защитных реакций организма при внедрении патогенов. Изучение механизмов активации иммунитета под влиянием IL-1 позволит найти новые подходы к направленной патогенетической терапии различных инфекционных заболеваний человека.

Целью работы было изучение противоинфекционного действия рекомбинантного IL-1 $\beta$  человека на модели

бактериальной инфекции у мышей при различных вариантах профилактического и лечебного применения. Защитный эффект IL-1 исследовался на мышах инфицированных *Y.pseudotuberculosis*. Препараты IL-1 вводились внутривенно в различные сроки до и после заражения животных в дозах 2, 20, 200 нг и 2 мкг на мыш. Используемые препараты IL-1 охарактеризованы по специфической биологической активности, отсутствию примесей белков штамма-производителя, бактериальной ДНК и липополисахаридов. Согласно полученным результатам препарат рекомбинантного IL- $\beta$  дозозависимо увеличивал выживаемость животных при инфицировании летальными дозами микроорганизмов. Степень выраженности защитного действия IL-1 зависела от использованной схемы и кратности введения. Наиболее яркий защитный эффект получен при курсовом введении препарата в первые три дня после инфицирования. Таким образом, можно заключить, что IL-1 оказывает противоинфекционное защитное действие, которое зависит от схемы применения препарата.

#### ВЛИЯНИЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПРИМЕНЕНИЯ МАГНИТОТЕРАПИИ НА ДИНАМИКУ ИММУННОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

Златник Е.Ю., Чилингарянец С.Г.

Научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону, Россия

Ранее нами было показано иммуностропное влияние переменного магнитного поля (ПеМП) при непосредственном действии на лимфоциты и моноциты онкологических больных. Известно также, что ПеМП обладает иммунокорректирующим эффектом, опосредованным через центральную нервную систему. Эти позиции явились основанием для включения магнитотерапии (МТ) в комплексное лечение больных раком легкого на этапе постоперационной реабилитации после пневмон- или лобэктомии. Больные контрольной группы (n=12) получали стандартное для послеоперационного периода лечение; больным основной группы (n=21) дополнительно проводили 12-14 сеансов МТ низкочастотным ПеМП в программированном режиме (0,03, 0,3 и 9 Гц) с постепенно снижающейся индукцией (с 4,6 до 0,8 мТл) на область затылка. Иммунологический статус оценивали до начала лечения и через 14 дней после его завершения.

Результаты представлены в таблице.

У больных контрольной группы после операции отмечен ряд негативных изменений иммунного статуса: наблюдалось статистически достоверное снижение процен-

ТАБЛИЦА. ДИНАМИКА ИММУННОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ ОСНОВНОЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУПП

Группы больных, сроки исследования		Показатели (%)						
		Лимфоциты				РБТЛ		
		CD2 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD16 <sup>+</sup>	CD20 <sup>+</sup>	ФГА	ЛПС
Контрольная	До лечения	53,5±1,44	35,6±5,9	33,2±4,0	20,0±1,4	18,7±0,85	32,0±1,19	32,6±1,22
	После лечения	46,5±1,5*	23,4±2,0*	23,3±2,7*	16,2±2,3	16,2±0,6	29,1±1,4	30,0±1,27
Основная	До лечения	46,5±0,99	30,7±1,71	29,6±1,74	18,1±1,16	17,6±0,63	31,4±1,04	28,3±1,18
	После лечения	57,0±1,76* **	37,8±0,7* **	33,2±1,57**	18,2±1,12	18,1±0,65**	36,7±0,83* **	36,4±1,62* **

\* - статистически достоверные отличия от исходных; \*\* – различия между группами (P<0,05)

тного содержания Т-лимфоцитов, в том числе, регуляторных субпопуляций CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>, то есть, страдают как хелперно-индукторные, так и цитотоксические клетки. Полученные изменения расцениваются как присущие опухолевой болезни, так и вызванные перенесенным оперативным вмешательством. Использование МТ в послеоперационном периоде у больных основной группы вызвало у них статистически достоверное повышение по сравнению с исходным процентного содержания Т-лимфоцитов за счет CD4<sup>+</sup> клеток, а также митогенного ответа Т- и В-клеток на ФГА и ЛПС, соответственно. По сравнению с больными контрольной группы в основной группе после окончания курса МТ определялся статистически достоверно более высокий процентный уровень Т-лимфоцитов, в том числе, CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> клеток, В-лимфоцитов, функциональная активность Т- и В-клеток.

Таким образом, ПеМП можно рассматривать как позитивное иммунотропное воздействие на организм больного, а использование МТ может найти практическое применение в комплексном лечении злокачественных новообразований.

### ИНДУКЦИЯ NO-СИНТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПОНЕНТАМИ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ ПРИ МАЛООБЪЕМНОЙ ГЕМОПЕРФУЗИИ

**Знаменский Г.М., Яковлев С.В., Эйсмонт Ю.А., Буркова Н.В., Крецер И.В., Нохрин С.П., Сорока В.В., Джурко Б.И., Крылов К.М., Зугаирова О.Н., Кузнецова Л.А., Кузнецов С.И.**

Гос НИИ скорой помощи им Ю.Ю.Джанелидзе; ГОУ ДПО Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург, Россия

Индукцибельная NO-синтаза (iNOS) представлена на различных клетках крови (моноциты, нейтрофилы, тромбоциты) и сосудистого русла (эндотелиоциты, гладкомышечные клетки сосудов). Она быстро экспрессируется под воздействием различных экзогенных и эндогенных факторов и обеспечивает синтез значительного количества оксида азота (NO<sup>•</sup>), который вызывает релаксацию кровеносных сосудов, а также выполняет еще ряд эффекторных (биоцидных) и регуляторных функций. Среди эндогенных индукторов NO\* можно выделить провоспалительные цитокины (TNFα, IFNγ, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12) и активные производные кислорода, которые, как известно, образуются в результате взаимодей-

ствия крови с гемоконтактными препаратами (гемосорбентами).

**Целью исследования** было проанализировать возможность индукции NO-синтазы на клетках крови и сосудистого русла у больных с термическими поражениями нижних конечностей (I гр), а также у больных с критической ишемией нижних конечностей (II гр), которых (обе группы) лечили методом целевой малообъемной гемоперфузии (ЦМОГ).

Обследовано 20 больных I группы и 30 человек II группы. Забор крови для анализов проводили до начала процедуры ЦМОГ из бедренных артерии и вены, и спустя 30-60 мин после завершения гемоперфузии из бедренной вены. Также анализировали кровь, оставшуюся в гемоконтактной колонке. Во всех образцах плазмы с помощью реактива Грисса спектрофотометрически (λ=543 нм) регистрировали нитриты и нитраты, большая часть которых образуется за счет быстрого окисления продукта NO-синтазных реакций – оксида азота, т.е. косвенно по изменению концентрации этих продуктов можно судить об индукции iNOS в данном регионе.

Полученные предварительные результаты позволяют сделать вывод, что динамика развития реакции в обеих группах больных независимо от вида патологии имеет односторонний характер, с той лишь разницей, что в группе больных с термическими поражениями все показатели были более выражены. Так у пострадавших с ожогами нижних конечностей концентрация нитратов и нитритов в артериальной крови до процедуры соответствовала 35,9±2,52 мкмоль/мл, что несколько ниже, чем в венозной крови (39,2±3,26 мкмоль/мл). В пробах крови, полученных с гемоконтактной колонки, концентрация нитритов и нитратов возросла по сравнению с артериальной кровью до гемоперфузии и составила 41,2±2,72 мкмоль/мл. Можно предположить, что увеличение суммарной концентрации нитратов и нитритов в этой пробе происходит за счет экспрессии индукцибельной NO-синтазы на клетках крови при ее взаимодействии с гемоконтактным препаратом. Однако, максимальное суммарное количество нитратов и нитритов обнаружено в оттекающей от пораженной конечности венозной крови, проба которой была взята спустя 1 час после завершения процедуры ЦМОГ. Их концентрация составила 49,2±2,24 мкмоль/мл, что достоверно отличается от аналогичного показателя в пробах венозной крови до проведения процедуры (p<0,05). Более выраженный характер реакции может быть обусловлен тем, что наряду с индукцией NO-

синтазы на клетках крови начинает активироваться более мощный пул NO-синтезирующих ферментов, локализованных на эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудистого русла.

Больные с критической ишемией нижних конечностей, которая была обусловлена в основном атеросклеротическими поражениями сосудов, имели более низкие показатели NO-синтазной активности. Такой характер реактивности связан, скорее всего с неполноценным функционированием клеточных элементов сосудов, пораженных атеросклеротическими отложениями, что значительно сокращает потенциальное количество продуцентов релаксирующего фактора.

Таким образом, целевая малообъемная гемоперфузия пораженной конечности (независимо от вида поражения) индуцирует (скорее всего опосредованно через компоненты цитокиновой сети или посредством активных форм кислорода) NO-синтазную активность клеток крови и сосудистого русла, что обеспечивает увеличение продукции основного релаксирующего фактора сосудов – оксида азота и улучшает кровоснабжение тканей конечности с положительным клиническим эффектом.

#### **ЦИТОКИНОВЫЙ И ИММУННЫЙ СТАТУС ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫМ ЛИПОСОМАЛЬНЫМ АЛЬФА-2b ИНТЕРФЕРОНОМ**

**Зотова В.В., Бойко Л.А., Бортникова О.Г., Бочкова Е.Н., Молчанова Н.Е., Дагалдян А.А., Приходько Н.Н.**

*Областная детская больница, Ростов-на-Дону, Россия*

В настоящее время большое внимание уделяется изучению вопросов лечения герпесвирусной инфекции (ГВИ). В последние годы показано патогенетическое значение изменения цитокинового и иммунного статуса у больных ГВИ. Введение в комплексную программу лечения препаратов интерферона- $\alpha$  оказывает противовирусное и иммуномодулирующее действие.

**Целью исследования** явилось изучение эффективности применения липосомальной формы рекомбинантного альфа-2b интерферона (реаферон-ЕС-липид) в комплексной программе лечения больных ГВИ.

Под наблюдением находилось 112 детей в возрасте от 2-х до 3-х лет, больных ГВИ (ЦМВИ, ВПГИ, ВЭБИ). Диагноз подтверждали методом ПЦР (выделение ДНК вирусов), ИФА (IgM, IgG антитела), цитологическими тестами и клинической картиной заболевания. Экспрессию рецепторов цитокинов (ЦК) изучали методом Fast Immune, показатели клеточного иммунитета – методом проточной цитометрии с помощью моноклональных антител фирмы Becton Dickinson.

При обследовании детей, больных ГВИ, выявлено снижение спонтанной и индуцированной экспрессии рецепторов ICAM-1 на CD3<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup> клетках, что свидетельствует об угнетении процессов межклеточного взаимодействия. Отмечено значительное повышение экспрессии провоспалительных ЦК (IL-1, TNF $\alpha$ ) и снижение экспрессии противовоспалительных цитокинов (IL-2, IL-4) и IFN $\gamma$ .

При исследовании показателей иммунного статуса выявлено снижение числа CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, Th1, Th2 лимфоцитов и увеличение числа CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup> лимфоцитов, обла-

дающих цитотоксической и киллерной функцией. Уровень IgG, IgA, IgM, IgE и ЦИК превышал показатели здоровых детей.

Введение в комплексную программу лечения больных ГВИ реаферона-ЕС-липид способствовало повышению экспрессии молекулы адгезии ICAM-1, противовоспалительных цитокинов IL-2, IL-4 и IFN $\gamma$  и снижению экспрессии провоспалительных цитокинов.

Отмечена тенденция к нормализации основных показателей иммунного статуса. Следует отметить сохраняющееся низкое количество Th1 лимфоцитов, повышенную экспрессию маркеров поздней активации (HLA-DR), нормализацию уровня основных классов иммуноглобулинов и снижение уровня IgE, что коррелировало с уменьшением проявлений дисбиоза кишечника.

Улучшение лабораторных показателей коррелировало с клиническим улучшением больных, повышением сопротивляемости организма, регрессом сопутствующей органной патологии.

Таким образом, использование липосомальной формы рекомбинантного  $\alpha$ -2b интерферона (реаферон-ЕС-липид) способствует клинико-лабораторному улучшению состояния больных ГВИ.

#### **ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ НА ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ВИЧ-БОЛЬНЫХ НА ФОНЕ ПРОВОДИМОЙ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ**

**Исаков И.В.**

*Краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД, Красноярск, Россия*

Патогенез ВИЧ-инфекции характеризуется хронической иммунологической активацией, которая может быть оценена путем определения концентрации растворимых молекул и экспрессии активационных антигенов на поверхности иммунокомпетентных клеток (С.М. Tsoukas et al., 2004). Многочисленные исследования показали, что возрастание уровней некоторых маркеров активации ассоциировано с неблагоприятным прогнозом течения ВИЧ-инфекции. Однако, причины данной ассоциации остаются не ясными.

**Целью** данной работы являлась оценка экспрессии маркеров активации HLA-DR, CD28, CD38, CD57 на лимфоцитах периферической крови у ВИЧ-больных до начала и на фоне проводимой высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ).

В исследовании принимала участие группа ВИЧ-инфицированных пациентов (n=41) в возрасте от 18 до 30 лет, требующих начала проведения ВААРТ. Контрольную группу составили 30 относительно здоровых лиц аналогичного возраста. С целью оценки экспрессии маркеров активации использовали двухцветные реагенты CD3/HLA-DR, CD8/HLA-DR, CD8/CD28, CD8/CD38, CD57/CD8 (BD, USA). Измерения проводили на проточном лазерном цитометре FACS Calibur (BD, USA). Учитывали процент всех лимфоцитов в гейте, несущих активационный маркер, а также измеряли количество клеток, позитивных по двум исследуемым рецепторам. Исследование проводили до начала лечения и через 4, 12 и 24 недели проводимой ВААРТ. Всем пациентам определяли вирусную нагрузку и количество CD4-клеток.

Исследование активационного статуса лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов, не получавших ВА-

АРТ, в сравнении с относительно здоровыми донорами показало значительное увеличение относительного и абсолютного количества CD3<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $p < 0,001$ ). В то же время в данной группе больных отмечается снижение общего количества лимфоцитов, несущих CD28-антиген ( $p < 0,001$ ), а также CD57<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-клеток ( $p < 0,05$ ). Корреляционный анализ данных показал наличие корреляции между вирусной нагрузкой и относительным содержанием CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> и CD57<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $r = -0,60$  и  $r = 0,44$ ,  $p < 0,05$ , соответственно), а также между количеством CD4<sup>+</sup>-клеток и относительным содержанием CD57<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов ( $r = 0,53$ ,  $p < 0,05$ ).

Динамические наблюдения за уровнем маркеров активации на фоне проводимой ВААПТ показали достоверное снижение CD8<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> клеток через 4 недели ( $p < 0,05$ ). В то же время установлено, что снижение общего количества HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>-клеток после 24 недель ВААПТ сочеталось с достоверным повышением абсолютного количества CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов.

Таким образом, проведенное исследование показало, что на фоне проводимой ВААПТ происходит изменение фенотипического спектра CD8-лимфоцитов, которое определяется уменьшением количества клеток, несущих CD38 и HLA-DR-антигены. Данные, полученные при обследовании ВИЧ-больных до начала лечения, свидетельствуют о наличии корреляционных связей между уровнем вирусной нагрузки и относительным содержанием CD8<sup>+</sup>/CD38<sup>+</sup> и CD57<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов.

### ПОЛИМОРФИЗМ С-33Т И С-590Т В ГЕНЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 ПРИ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

**Казначеев В. А., Гервазиев Ю.**

*НИИ Вакцин и сывороток имени Мечникова РАМН, Москва, Россия*

**Введение.** Бронхиальная астма (БА), как и другие аллергические заболевания, является генетически сложным, хроническим воспалительным заболеванием, ассоциированным с повышенным уровнем IgE. Интерлейкин 4 (IL-4) является определяющим фактором в развитии иммунологических механизмов аллергии и воспаления и играет центральную роль в регуляции иммунного ответа, активируя дифференцировку Th0 в Th2-субпопуляцию. Некоторые исследователи связывают ген IL-4 и близлежащие маркеры, расположенные на хромосоме 5q с увеличенным уровнем общего IgE.

**Целью исследования** было выявить связь между полиморфизмами С-33Т и С-590Т в гене IL-4, и увеличенным уровнем общего IgE и сывороточного IL-4 у больных атопической БА и в группе здоровых.

**Материалы и методы.** Полиморфизмы в промоторе гена IL-4 С-33Т и С-590Т исследовали на популяции 109 неродственных больных атопической БА, русских по национальности и 74 здоровых неродственных русских жителей Москвы. Для выявления связи изучаемого полиморфизма с БА были оценены уровни общего IgE и сывороточного IL-4 в твердофазном методе ИФА с использованием коммерческих наборов. Исследуемый сайт С-33Т анализировали с помощью ПЦР-метода полиморфизма длин рестрикционных фрагментов с использованием фермента BsoMAI; сайт С-590Т анализировали с помощью фермента BstUI.

**Результаты и обсуждение:** Уровень сывороточного IgE был увеличен в группе пациентов с БА – Me (25%; 75%)=390 (88;800) кЕ/л в сравнении с контрольной группой – Me(25%;75%)=78(25,5;191)кЕ/л. Концентрация сывороточного IL-4 отражает сходные результаты: 20 (0;68) pкг/mL и 0 (0;10) pкг/mL, соответственно. В обоих случаях различия были достоверны ( $P < 0,001$ ).

1. Полиморфизм С-33Т. Частота мутантного аллеля Т была 0,74 в опытной группе и 0,21 в контрольной; полиморфизм ассоциирован с развитием бронхиальной астмы ( $P < 0,001$ ). В обеих группах концентрация сывороточного IL-4 зависела от генотипа с вероятностью  $P < 0,001$  в опытной и  $P < 0,004$  в контрольной; наличие Т аллеля содействовало увеличению IL-4. Внутригрупповое сравнение выявило, что среди пациентов с БА величина этого параметра не сильно различается между СТ и ТТ (мутантный тип) носителями генотипа ( $P = 0,5$ ); среди здоровых людей этот параметр не отличался у носителей СТ и СС (дикий тип) аллелей ( $P > 0,05$ ). Влияние полиморфизма на уровень сывороточного IgE у больных БА было достоверно различимо ( $P < 0,001$ ) в отличие от здоровых ( $P > 0,15$ ). Среди пациентов с БА этот параметр отличался во всех трех генотипных подгруппах: наличие Т аллеля содействовало увеличению IgE.

2. Полиморфизм С-590Т. Частота мутантного аллеля Т была 0,51 в опытной группе и 0,49 – в контрольной; полиморфизм не был ассоциирован с развитием бронхиальной астмы ( $P = 0,19$ ). В группе БА отмечается повышенная гетерозиготность, которая составила 68,8%. В группе больных БА отмечается зависимость концентрации IgE и IL-4 от генотипа с вероятностью  $P = 0,003$  для IgE и  $P < 0,001$  для IL-4, соответственно; наличие Т аллеля содействовало увеличению как IL-4, так и IgE. Внутригрупповое сравнение выявило, что среди пациентов с БА и в контрольной группе величина этого параметра в заметной степени варьирует. Так сравнение попарно генотипов СТ-ТТ и СС-ТТ выявило зависимость с вероятностью  $P = 0,015$  и  $P = 0,000$  в группе больных БА, в то время как в группе контролей такой зависимости обнаружено не было ( $P = 0,864$  и  $P = 0,590$  соответственно). Влияние полиморфизма на уровень сывороточного IgE у больных БА было достоверно различимо ( $P = 0,001$ ) в отличие от здоровых ( $P > 0,25$ ). Среди пациентов с БА этот параметр отличался во всех трех генотипных подгруппах: наличие Т аллеля содействовало увеличению IgE.

3. Как при исследовании полиморфизма С-33Т, так и при изучении полиморфизма С-590Т уровень общего IgE не зависел от концентрации IL-4; исследуемый полиморфизм не влиял на тяжесть течения БА.

Среди жителей Москвы, русских по национальности частота Т аллеля в транзиции С-33Т в промоторе IL-4 более соответствовала частоте, оцененной в европейской популяции, чем частоте в австралийской, японской или индийской популяции. При оценке частоты транзиции С-590Т было выявлено соответствие с данными, полученными на английских и австралийских популяциях в большей степени, нежели с данными, полученными японскими и американскими исследователями. В обеих группах больных БА уровень общего IgE зависел от наличия полиморфизма и не зависел от концентрации IL-4, хотя полиморфизмы (С-33Т и С-590Т) в промоторной зоне гена IL-4 должны в первую очередь модулировать экспрессию IL-4. Возможно, продукция IgE зависит не только от уровня IL-4, но и от содержания оппозитного цитокина IFN $\gamma$ .

## ПРОДУКЦИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 1 И 2 У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ТОНЗИЛИТАМИ

**Камалов З.С.**

*Институт иммунологии АН РУз,  
Ташкент, Узбекистан*

Хронические тонзиллиты у детей являются до конца нерешенной и актуальной проблемой. Они занимают значительное место среди патологии ЛОР-органов, отличаются длительным течением и оказывают существенное влияние на другие органы и системы организма. Поэтому данная проблема имеет важное значение для практической медицины.

**Целью исследования** явилось изучение продукции ИЛ-1 и ИЛ-2 при хронических тонзиллитах у часто болеющих детей (ЧБД) в возрасте от 4 до 14 лет.

Объектом исследования явились дети, больные хроническим тонзиллитом (ХТ), госпитализированные в клинику или состоящие на учете в НИИ Педиатрии и в ЛОР отделение клиники ТашПМИ. Всего обследовано 45 ЧБД (I группа – дети 4-6 лет и II группа – дети 7-14 лет). В качестве контрольных значений использованы данные исследования у 288 практически здоровых детей. Контрольная группа по своей возрастно-половой характеристике была репрезентативна обследованным группам больных.

Продукцию ИЛ-1 исследовали по системе Herman и Ralson (1986). Продукцию ИЛ-2 определяли по методу Ortaldo et al. (1984).

Исследованиями установлено, что у детей контрольной группы от 4 до 6 лет жизни индекс стимуляции (ИС) по продукции интерлейкинов 1 и 2 составил, соответственно,  $3,3 \pm 0,18$  и  $3,6 \pm 0,11$ . У практически здоровых детей от 7 до 14 лет ИС по продукции ИЛ-1 и ИЛ-2, соответственно, составил  $2,1 \pm 0,23$  и  $2,7 \pm 0,14$ .

При изучении продукции ИЛ-1 у детей от 4 до 6 лет, болеющих ХТ, выявлено значительное снижение продукции этого монокина, ИС у них составлял  $1,3 \pm 0,13$  ( $P < 0,001$ ) при контроле  $3,3 \pm 0,18$ , а ИС по продукции ИЛ-2 –  $1,9 \pm 0,16$  ( $P < 0,05$ ) при контроле  $3,6 \pm 0,11$ .

У ЧБД с 7 до 14 лет установлено снижение продукции ИЛ-1, при этом индекс стимуляции составлял  $1,4 \pm 0,13$  ( $P < 0,05$ ) при контроле  $2,1 \pm 0,23$ . При определении продукции ИЛ-2 у детей II группы при ХТ выявили также снижение продукции этого лимфокина, индекс стимуляции составил  $2,1 \pm 0,10$  при контроле  $2,7 \pm 0,14$ .

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что у ЧБД с ХТ резко снижена продукция интерлейкинов 1 и 2, что необходимо учитывать при дальнейшей разработке методов целенаправленной иммунокоррекции при этой патологии.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНАЦИИ «ПНЕВМО 23» СРЕДИ ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ ПОЧЕК

**Квасова М.А., Костинов М.П., Лукушкина Е.Ф., Тарасова А.А., Фоголева А.А.**

*Нижегородская государственная медицинская академия, Нижегородская областная детская клиническая больница, Нижний Новгород, НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН, Москва, Россия*

Пневмококк, являясь частым возбудителем ОРЗ у детей, для нефрологических больных, особенно при хронической почечной недостаточности (ХПН) и нефротичес-

ком синдроме, представляет опасность тяжелого осложненного течения инфекции с развитием пневмоний, перитонитов, сепсиса с летальными исходами. Кроме того, дети с хроническими заболеваниями почек в силу частых госпитализаций подвергаются повышенному риску инфекционных заболеваний и нуждаются в вакцинопрофилактике в первую очередь.

Исходя из этого, перед нами была поставлена цель – оценить эффект вакцинации «Пневмо 23» (Авентис Пастер, Франция) у нефрологических больных. В задачи исследования входило изучить и сравнить заболеваемость нефрологических пациентов острыми респираторными инфекциями, их осложненного течения – отитами, синуситами, бронхитами, пневмониями за предшествующий год и за год после вакцинации. Эти же показатели изучались в группе невакцинированных детей с заболеваниями почек.

**Методы.** Нами была оценена эффективность вакцинации «Пневмо 23» детей с ХПН – 28 человек и с гломерулонефритами – 57 детей, в контрольную группу неприпитых вошли 16 пациентов с ХПН и 34 с гломерулонефритами. За всеми детьми проводилось клиническое наблюдение в течение одного года.

**Полученные результаты.** Наблюдалось снижение всех случаев ОРЗ в 2,4 раза, потребность в назначении антибиотиков при лечении респираторных инфекций уменьшилась в 4,75 раза ( $p < 0,05$ ). Длительность течения ОРЗ и антибиотикотерапии сократилась в 2,1 и в 2,6 раза, соответственно. Среди осложненного течения ОРЗ количество синуситов уменьшилось в 2 раза, отитов в 5,5 раз, бронхитов в 2,6 раза, пневмоний за год не зарегистрировано (за год, предшествующий вакцинации – 5 случаев). Доля обострений хронического гломерулонефрита, связанных с инфекцией, сократилась с 87,5% до 50%.

При сравнении результатов по заболеваемости ОРЗ в основной и контрольной группах индекс эффективности вакцинации составил 2,13, коэффициент эффективности – 53,1%.

Мы предлагали родителям детей оценить эффект вакцинации: 32,8% опрошенных отметили выраженный эффект, 54,1% – хороший, 13,1% не наблюдали разницы. Надо отметить, что в последней группе в основном находились дети, болеющие редко, 1-2 раза в год.

**Выводы.** Таким образом, наше исследование подтвердило хорошую профилактическую эффективность «Пневмо 23» среди детей с заболеваниями почек, заключавшуюся в значительном снижении случаев ОРЗ в году и уменьшении их длительности, в сокращении потребности в антибиотикотерапии, что позволяет рекомендовать данную вакцину для более широкого использования среди нефрологических больных.

## МАКРОФАГИ И МЕДИАТОРЫ ТКАНЕВОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

**Киселева Е.П.**

*НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, Россия*

В ишемизированных или поврежденных тканях создается особое микроокружение вследствие развития гипоксии и гипогликемии, что приводит к снижению рН, увеличению концентрации лактата и аденозина. Наиболее важным фактором является гипоксия, на которую клетки немедленно реагируют, переходя на анаэробный метаболизм. Макрофаги

попадают в условия гипоксии сразу же, как только покидают кровяное русло и мигрируют в рану, опухоль или очаг воспаления. В них усиливается экспрессия ряда индуцированных гипоксией генов, к которым относится синтез VEGF, TNF $\alpha$ , GM-CSF, IL-1, IL-6, iNOS. Влияние гипогликемии и снижения рН на функции макрофагов изучено мало. Закисление среды развивается за счет продукции клетками лактата, являющегося конечным продуктом гликолиза, а также вследствие отщепления фосфатов от АТФ, выделяющихся из поврежденных тканей. Освободившийся аденозин и лактат в настоящее время рассматривают в качестве медиаторов тканевой гипоксии. Лактат сигнализирует о развитии гипоксии или тканевого повреждения и стимулирует продукцию ангиогенных факторов макрофагами и синтез коллагена фибробластами. Кроме того, лактат является еще и важным медиатором воспаления. Повышение уровня содержания лактата в циркуляции описано при ряде состояний, таких как ранозаживление, сепсис, опухолевый рост, что предполагает возможность системного действия лактата. Имеются данные о том, что лактат стимулирует продукцию TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, VEGF макрофагами (Crowter et. al., 2001). Задачей исследования было изучение влияния лактата на функциональную активность перитонеальных макрофагов интактных мышей *in vitro*, а также оценка системного влияния лактата на макрофаги в организме мышей-опухоленосителей. В макрофагах оценивали продукцию нитроксид и супероксид анионов, активность 5'-нуклеотидазы и пиноцитоз нейтрального красного. Кроме того, мышам подкожно инокулировали 10<sup>5</sup> живых клеток сингенной перевиваемой гепатомы 22а. Через определенные интервалы времени после инокуляции опухолевых клеток мышей убивали и оценивали функциональную активность макрофагов и уровень содержания лактата в сыворотке крови. Культивирование макрофагов в присутствии 6,5 мМ лактата вызывало стимуляцию продукции нитритов, супероксид анионов и пиноцитоза, а также снижение активности 5'-нуклеотидазы, что соответствует фенотипу «классически» активированного макрофага. Дальнейшей задачей явилось изучение роли лактата в качестве системного активатора макрофагов у мышей с гепатомой, для чего продукцию нитритов перитонеальными макрофагами сопоставляли с уровнем содержания лактата в циркуляции в динамике опухолевого роста. Продукция нитроксид анионов имела три пика повышения и не коррелировала с уровнем содержания лактата в сыворотке крови, который снижался на 7 сут и был повышен на 35 сут роста опухоли. Уровень содержания лактата не повышался в значительных количествах при росте гепатомы и не оказывал системного действия на макрофаги. Вместе с тем, стимулирующая роль лактата *in vitro* не вызывает сомнения и указывает на его возможную роль в качестве локально действующего медиатора внутри опухолевого узла, что однако требует специального исследования.

Работа была поддержана грантами РФФИ № 03-04-49186 и НШ-540.2003.4.

### ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ФЛОРЫ СРЕДНЕАЗИАТСКОГО РЕГИОНА

**Кличева Г.Х.**

*Второй Ташкентский Государственный медицинский институт, Ташкент, Узбекистан*

Целью работы явилось изучение влияния ряда флаваноидов на пролиферативные свойства Т- и В- лимфо-

цитов крыс в системе *in vitro*. Эксперименты проведены на крысах породы «Вистар» массой тела 150-180 г. У животных выделяли лимфоциты селезенки. Для активации Т-лимфоцитов использовали митоген ФГА, а для В-лимфоцитов – PWM. Пролиферативную активность лимфоцитов оценивали по включению <sup>3</sup>H-тимидина в ДНК клеток в последние 24 часа культивирования.

Иммуномодулирующий эффект препаратов выражали индексом активности (ИА) – отношением уровня пролиферации лимфоцитов в присутствии препаратов к величине ответа лимфоцитов, культивируемых в ростовой среде (контроль). Всего исследовано 24 вещества.

Установлено, по эффекту на пролиферацию Т-лимфоцитов селезенки крыс на митоген ФГА все изученные вещества можно разделить на 3 группы: стимулирующие, супрессирующие и не влияющие на пролиферативную активность Т-клеток. Выраженный стимулирующий эффект в отношении популяции Т-лимфоцитов обнаружен у вещества из группы изофлавинов – фармонетина в минимальной дозе 10<sup>-7</sup>: ИА равен 18,1. С повышением дозы вещества (10<sup>-6</sup> и 10<sup>-5</sup>) его пролиферативная активность снижается (ИА=3 и 2,9).

Из группы флаванолов в 3-5 раза повышали пролиферативную активность галонгин, кварцетин и хаплозид Е. Причем обнаружена прямая зависимость эффекта вещества от его дозы. Следует отметить, что у одних веществ (кварцетин) с повышением дозы наблюдалась утрата их стимулирующих свойств, а у других, наоборот, (хаплозид Е) повышением активности. У вещества галонгин максимальный стимулирующий эффект (ИА=5,6) в отношении Т-лимфоцитов проявлялся при дозе 10<sup>-6</sup>. При дозах выше и ниже указанной происходило ослабление пролиферативной активности вещества. У 10-и из 14-ти веществ группы флаваноидов обнаружены свойства стимулировать способность Т-лимфоцитов отвечать на митоген ФГА усилением синтеза ДНК. Однако по активности они уступают веществам, входящих в группы флаванолов и изофлавинов (ИА= 1,2- 2,8). Установлено, что некоторые из исследованных веществ обладают свойством угнетать пролиферативную активность Т-клеток. Так, сильный супрессивный эффект обнаружен у препарата рутин (ИА=0,12-0,16), хаплозида С, сисотрина. Полученные данные свидетельствуют о том, что исследованные вещества обладают иммуномодулирующими свойствами.

### ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «СУПЕРЛИМФ» НА ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МАКРОФАГОВ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С МИОМОЙ МАТКИ

**Колганова И.А., Мальшикина А.И., Посисеева Л.В., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С.**

*ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Минздрава России», Иваново, Россия*

Миома матки занимает одно из первых мест в структуре гинекологической заболеваемости после воспалительных процессов и частота данного заболевания продолжает возрастать. Работами последних лет показано, что развитие миомы матки сопровождается значительными иммунными нарушениями. Полученные данные свидетельствуют о том, что в основе механизмов развития миомы матки лежит усиление процессов пролиферации и роста клеток, обусловленное, прежде всего, нарушени-

ем иммунных реакций на локальном уровне, а именно – в эндометрии. В связи с этим особую актуальность приобретает разработка новых подходов к лечению данного заболевания, основанных на возможности локальной коррекции иммунных нарушений.

**Целью** данного исследования было оценить *in vitro* влияние иммуномодулятора «Суперлимф» на показатели функциональной активности эндометриальных макрофагов женщин с миомой матки различных темпов роста. Материалом для исследования служили биоптаты эндометрия 8 женщин с миомой матки стабильно малых размеров и 9 женщин с быстрорастущей миомой матки. Фракцию макрофагальных клеток выделяли из эндометриальной ткани стандартным механическим безферментативным методом. Макрофаги инкубировали с препаратом Суперлимф в концентрации 1 мг/мл в течение 1 часа при 37°С, далее определяли спонтанную (НСТ) и стимулированную зимозаном (НСТз) НСТ-активность клеток и рассчитывали резервный коэффициент по формуле: НСТз-НСТ/НСТ. Показатели макрофагов, инкубировавшихся в тех же условиях в Среде 199, использовали в качестве контроля. При анализе полученных результатов было установлено, что в обеих группах женщин с миомой матки воздействие препарата Суперлимф не вызывало изменений уровня спонтанной НСТ-активности эндометриальных макрофагов, но усиливало ответ клеток на стимуляцию зимозаном, что приводило к достоверным повышениям значений резервного коэффициента. Следует отметить, что в группе женщин с быстрорастущей миомой матки влияние Суперлимфа на функциональный резерв фагоцитов был более выражен. Известно, что снижение резерва функциональной активности фагоцитов свидетельствует о неспособности клеток развивать адекватный ответ на дополнительную стимуляцию и часто имеет место при хронических воспалительных процессах. В литературе имеются сведения о том, что локальная хроническая инфекция может быть одним из триггерных механизмов, лежащих в основе иммунных нарушений при миоме матки. Таким образом, стимулирующее воздействие препарата Суперлимф на уровень функционального резерва фагоцитарных клеток эндометрия без дополнительного воздействия на спонтанную активацию фагоцитов может усиливать противoinфекционный локальный ответ у женщин с миомой матки. Полученные результаты свидетельствуют о возможности разработки новых методов медикаментозного лечения пациенток с миомой матки, основанных на применении иммуномодуляторов.

#### **АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ (TNF $\alpha$ , LTA, IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-6, IL-1RN, IL-10) С РАЗВИТИЕМ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ.**

**Корытина Г.Ф., Янбаева Д. Г.,  
Ахмадишина Л.З., Данилко К.В., Викторова Т.В.**

*Институт биохимии и генетики УНЦ РАН,  
Уфа, Россия*

Распространенность хронических болезней органов дыхания неуклонно растет во всем мире, что связано с ростом антропогенного загрязнения окружающей среды. Особая роль в патогенезе хронических заболеваний дыхательной системы принадлежит воспалению. Под влиянием различных факторов риска (курение, атмосферные и бытовые загрязнители, инфекции) активируются и уча-

ствуют в воспалительной реакции практически все клеточные элементы респираторной системы. Активированные клетки выделяют большие количества воспалительных медиаторов, среди которых ключевую роль играют цитокины. Цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов, участвующих в формировании и регуляции защитных реакций организма. Условно все цитокины делят на про- и противовоспалительные. К первым относят преимущественно фактор некроза опухоли (TNF $\alpha$ ), лимфотоксин  $\alpha$  (LT $\alpha$ ), IL-1, IL-6, IL-8, а также некоторые хемокины. Преимущественно противовоспалительными функциями обладают интерлейкины 4, 10 и 13 (IL-4, IL-10, IL-13), трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ). Дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов в пользу последних может приводить к нарушению адекватного течения воспалительного ответа с развитием хронического воспаления. Известно, что интенсивность синтеза цитокинов может быть генетически обусловлена. На сегодняшний день описан полиморфизм генов многих цитокинов, отмечено влияние различных вариантов генов на свойства и функционирование белковых продуктов их экспрессии.

С целью выявления ассоциации полиморфных вариантов в генах про- и противовоспалительных цитокинов с развитием хронических заболеваний дыхательной системы проведен анализ полиморфных вариантов генов провоспалительных ((-308 G/A) TNF $\alpha$ , (+252A/G) LT $\alpha$ , (-511 T/C, +3953 T/C) IL-1 $\beta$ , (-251A/T) IL-8, (-174G/C) IL6)) и противовоспалительных ((VNTR intron 2) IL-1RN, (-592A/C, -627 C/A) IL-10) цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) (n=300), у детей с хроническим бронхолегочными заболеваниями (ХБЛЗ) – хронический бронхит и рецидивирующая пневмония (n=180) и у здоровых индивидов (n=230), проживающих в г. Уфе (Республика Башкортостан).

**Результаты:** 1. Показано достоверное увеличение частоты гаплотипа G-G полиморфных локусов (-308 G/A) и (+252A/G) сцепленных генов TNF $\alpha$  и LTA у больных ХОБЛ (21,46% против 14,67% в контроле; ( $\chi^2=6,19$ , p=0,013). Аналогичное увеличение частоты данного гаплотипа выявлено в группе детей больных ХБЛЗ (19,82%), однако различия при сравнении с контрольной группой не достигали статистического уровня значимости ( $\chi^2=3,27$ , p=0,07).

2. В группе больных с ХБЛЗ статистически достоверно увеличена частота гаплотипа T-C-4 полиморфных локусов (-511 T/C), (+3953 T/C) гена IL-1 $\beta$  и VNTR 2 интрона гена IL1RN ( $\chi^2=9,49$ , p=0,003). Только в группе больных ХОБЛ частота редкого генотипа 2/2 VNTR 2 интрона гена IL-1RN достигала 9% против 3,5% в контрольной группе ( $\chi^2=4,65$ , p=0,03).

3. Статистически достоверных различий в распределении частот генотипов и аллелей полиморфных локусов (-251A/T) и (-174G/C) генов IL-8 и IL-6 между группами не выявлено.

4. Анализ распределения частот гаплотипов полиморфных локусов (-592A/C, -627 C/A) промоторной области гена IL-10 показал, что в группах больных ХОБЛ и ХБЛЗ статистически достоверно увеличена частота гаплотипа C-A (21,35% и 21,7%, соответственно), тогда как в группе здоровых индивидов данный гаплотип встречается с частотой 14,4% ( $\chi^2=6,39$ , p=0,012 и  $\chi^2=6,29$ , p=0,012, соответственно).

**Выводы.** При анализе полиморфных вариантов генов про- и противовоспалительных цитокинов в группах

больных хроническими заболеваниями дыхательной системы выявлены генотипы и гаплотипы, связанные с повышенным риском развития патологии органов дыхания у взрослых и детей. Установлено, что полиморфные варианты генов TNF $\alpha$ , LT $\alpha$ , IL-1RN и IL-10 являются важной составной частью генетической структуры подверженности ХОБЛ. Сверхэкспрессия провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 $\beta$ , в сочетании с дефицитом противовоспалительных факторов (IL-10) является важным компонентом развития и прогрессирования хронического воспалительного процесса в органах дыхания в детском возрасте.

### **ВЛИЯНИЕ РОНКОЛЕЙКИНА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС ГРАНУЛОЦИТОВ И АГРАНУЛОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ОККЛЮЗИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

**Косаев Д.В., Гасанов И.А.**

*НИИ Клинической медицины  
им. акад. М.А.Топчибашева, Государственный  
Медицинский Университет, Баку, Азербайджан*

Остается неизученной эффективность ронколейкина в комплексном лечении больных с хроническими окклюзиями артерий нижних конечностей. В частности, нет сведений о влиянии препарата на морфо-функциональное состояние и метаболический статус лейкоцитов у рассматриваемой патологии больных.

**Цель исследования:** сравнительное цитохимическое изучение влияния ронколейкина на энергоснабжение и внутриклеточный синтез в сегментоядерных лейкоцитах, лимфоцитах и моноцитах периферической крови у больных с хронической окклюзией артерий нижних конечностей.

**Материалы и методы.** В контингент исследования был включен 61 больной с окклюзией артерий нижних конечностей, вызванной атеросклерозом (22), атеросклерозом на фоне сахарного диабета (20) и тромбангитом (19). 31 больных получили консервативное лечение без ронколейкина (группа сравнения). 30 пациентам, наряду с обычным лечением были назначены 2 внутривенные инъекции ронколейкина по 0,5 мг (500000 МЕ) через 72 ч. (основная клиническая группа). В обеих клинических группах до и после завершения лечения были взяты образцы периферической крови из локтевой вены. В мазках, окрашенных модифицированными методами Браше, Ходжкисса-Мак-Мануса, Вакштайна-Майзель и по Гасанову с постановкой контрольных проб, визуально-полуколичественно (в баллах) и цитофотометрически (по оптической плотности) изучены содержание гликогена (Г), рибонуклеопротеидов (РНП), макроэргических нуклеотидтрифосфатов (НкТФ) и активность аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы). Цифровые данные обработаны методами статистики для параметрических и непараметрических критериев.

**Основные результаты.** До лечения у больных обеих клинических групп зафиксированы невысокое содержание Г, РНП, НкТФ и низкая активность АТФ-азы (0,0-1,0 б.) в зрелых гранулоцитах и агранулоцитах. В группе сравнения к концу курса консервативного лечения содержание указанных субстратов в сегментоядерных лейкоцитах – почти без изменений, в моноцитах и лимфоцитах – с недостоверным нарастанием преимущественно

но в лимфоцитах ( $p > 0,1$ ). АТФ-аза остается ингибированной и ее потенциал лишь в моноцитах превышает 1,0 б. В основной клинической группе после инъекций ронколейкина в мазках отмечено учащение полиморфизма лимфоцитов и моноцитов без деформации и формирования тромбо-лейкоцитарных агрегатов. Содержание Г – по сравнению с предыдущей группой, без достоверных изменений, с тенденцией уменьшения ( $p > 0,1$ ). РНП и НкТФ – повышены ( $p < 0,05$ ) в моноцитах и лимфоцитах. Параллельно с некоторым снижением содержания Г и увеличением – НкТФ, усилен потенциал АТФ-азы до  $2,5 \pm 0,15$  б. ( $p < 0,02$ ) практически во всех трех типах лейкоцитов. Подобное сочетание количественных показателей основного энергетического сырья – Г с параметрами НкТФ и АТФ-азы в изученных популяциях, а также учащение клеточного полиморфизма рассматриваются нами как проявление усиления внутриклеточных процессов синтеза (РНП), выработки и утилизации энергии (Г, НкТФ, АТФ-аза) в лейкоцитах периферической крови у больных основной клинической группы.

**Заключение.** 2-х кратные внутривенные инъекции ронколейкина по 500000 МЕ на фоне консервативного лечения у больных с хронической окклюзией артерий нижних конечностей улучшает энергоснабжение и усиливает внутриклеточный синтез в гранулоцитах и агранулоцитах периферической крови. Применение препарата не приводит к аномальному полиморфизму, деформации изученных клеточных типов и не осложняется тромбо-лейкоцитарными агрегатами.

### **ДИНАМИКА МЕДИАТОРОВ СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ЦИТОКИНОТЕРАПИИ РОНКОЛЕЙКИНОМ У БОЛЬНЫХ ОБЛИТЕРИРУЮЩИМ ТРОМБАНГИТОМ**

**Косаев Д.В., Абышов Н.С.**

*НИИ Клинической медицины  
им. акад. М.А.Топчибашева, Баку, Азербайджан*

Ронколейкин является иммунотропным, цитокинсо-держивающим препаратом нового поколения, включение которого в программу комплексного лечения больных характеризуется быстрым детоксикационным и иммунокорригирующим действием и позволяет значительно повысить эффективность проводимой терапии, усиливая процесс репарации и заживления раны, сокращая сроки госпитализации (Останин А.А. и соавт., 2002; Козлов В.К., 2002). Недостаточно изучена эффективность применения ронколейкина у больных облитерирующим тромбангитом (ОТ) и его влияние на медиаторы системной воспалительной реакции у этих больных.

**Цель:** изучить влияние рекомбинантного интерлейкина-2 (Ронколейкина) на содержание медиаторов системного воспаления (СВ) у больных ОТ.

**Материалы и методы.** Цитокиноterapia проводилась рекомбинантным препаратом интерлейкина-2 человека – «Ронколейкином» (номер государственной регистрации Р№000122/01-2000; производство ООО «БИОТЕХ», Санкт-Петербург). Ронколейкин использован в комплексном лечении 9 больных (основная группа) ОТ в возрасте от 23 до 45 лет с 3 – 4 степенями хронической ишемии по Фонтейну-Покровскому. Ронколейкин вводили внутривенно дважды через 72 часа в дозе 0,5 мг (500000МЕ). Контрольную группу составили 22 больных с ОТ с 3 – 4 степенями хронической

ТАБЛИЦА. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕДИАТОРОВ СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ

Воспалительные медиаторы	Группа больных	Группа сравнения (n=14)	Контрольная группа (n=22)		Основная группа (n=9)	
			до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Серомукоиды (ед.)		223,6±4,8	286,4±4,7	267,9±4,3	291,4±3,9	234,2±4,5
Сиаловые кислоты (ед.)		221,8±3,6	291,2±5,1	273,7±5,2	289,7±4,8	232,9±5,1
Циркулирующие иммунные комплексы (%)		78,3±3,2	116,7±3,9	109,4±3,1	117,2±4,2	83,6±3,9
С-реактивный белок		Отриц.	у 20 б-х положит.	у 17 б-х положит.	у 8 б-х положит.	у 2 б-х положит.

ишемии, в комплексном лечении которых ронколейкин не был применен. Возраст больных, продолжительность заболевания, уровень окклюзии артерий и сроки последнего обострения в основной и контрольной группах существенно не отличались. Группу сравнения составили 14 практически здоровых лиц. Исследовано содержание серомукоидов (СМ), сиаловой кислоты (СК), С-реактивного белка (СРБ) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в периферической крови при обращении больных в клинику и по завершению курса лечения.

**Результаты.** Содержание воспалительных медиаторов у практически здоровых лиц и у больных контрольной и основной групп до и после лечения приведено в таблице.

При поступлении в клинику у больных основной и контрольной групп, в отличие от здоровых лиц, выявлено значительное увеличение содержания СРБ, СМ, СК и ЦИК. В контрольной группе отмечалось лишь умеренное снижение ( $p>0,1$ ) уровня СРБ, СМ и СК. При цитокино-терапии отмечено значительное снижение ( $p<0,05$ ) воспалительных медиаторов по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, цитокино-терапия ронколейкином у больных ОТ является патогенетически обоснованной, так как снижает уровень медиаторов СВ, корригирует иммунную систему у больных ОТ, что приводит к стиханию воспалительного процесса и улучшению клинического течения заболевания.

### ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОГО И ЛОКАЛЬНОГО СИНТЕЗА IFN $\gamma$ ПРИ НЕОСЛОЖНЕННОМ РАЗВИТИИ ПЛОДА И ПРИ ЗАДЕРЖКЕ ЕГО РАЗВИТИЯ

**Кудряшова А.В., Сотникова Н.Ю.**

*ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова МЗ РФ», Иваново, Россия*

Сочетание уникальных свойств интерферонов, иммунорегуляторное действие и способность ингибировать рост, определяет особый интерес к ним исследователей механизмов регуляции процессов репродукции. Известно, что основные эффекты их действия связаны с патологией гестационного процесса, в том числе и с патологией развития плода.

**Целью работы** было оценить особенности синтеза IFN $\gamma$  мононуклеарами периферической крови и децидуальной оболочки плаценты, при неосложненном развитии и при синдроме задержки развития плода (СЗРП).

Оценивалась концентрация IFN $\gamma$  в сыворотке периферической крови и в экстрактах децидуальной ткани, уровень экспрессии mRNA в лимфоцитах и моноцитах/макрофагах, а также содержание клеток, продуцирующих IFN $\gamma$  (IFN $\gamma$ +). Исследования проводились в 3 триместре, материалом для исследований служили периферическая венозная кровь и зрелая плацента. Методы исследования включали: проточную цитометрию, ИФА и RT-PCR в реальном масштабе времени.

Проведенный анализ показал, что в периферической крови женщин, родивших детей с СЗРП, содержание IFN $\gamma$  не отличалось от его уровня при неосложненной беременности. По данным RT-PCR анализа существенные различия в экспрессии mRNA IFN $\gamma$  периферическими моноцитами в двух сравниваемых группах отсутствовали, однако отмечалась слабо выраженная активация синтеза mRNA IFN $\gamma$  лимфоцитами периферической крови. Результаты проточной цитометрии хорошо согласовались с приведенными выше данными. Так, при СЗРП в крови нами не было отмечено изменений в содержании IFN $\gamma$  моноцитов, но было выявлено достоверное повышение уровня NK с фенотипом CD16+IFN $\gamma$ +

В децидуальной оболочке плаценты при СЗРП было выявлено более чем двукратное снижение уровня IFN $\gamma$  в экстрактах децидуальной ткани. Результаты RT-PCR анализа свидетельствуют о том, что экспрессия mRNA IFN $\gamma$  децидуальными лимфоцитами при данной патологии была снижена, тогда как экспрессия mRNA IFN $\gamma$  децидуальными макрофагами при СЗРП достоверно превышала таковую при физиологическом развитии плода. Следует отметить, что при СЗРП отмечалось снижение содержания mRNA IFN $\gamma$  и в клетках самой децидуальной ткани. В то же время количество макрофагов, внутриклеточно синтезирующих IFN $\gamma$ , в децидуальной ткани было одинаковым при СЗРП и физиологическом развитии плода, однако задержка развития плода на локальном уровне сопровождалась уменьшением пулов CD16+IFN $\gamma$ + и CD56+IFN $\gamma$ NK, а также CD4+IFN $\gamma$  лимфоцитов.

Можно предположить, что нарушение синтеза IFN $\gamma$  при СЗРП скорее всего обусловлено нарушением функции клеток с цитотоксической активностью. Снижение уровня NK и Th1, продуцирующих IFN $\gamma$ , при СЗРП может свидетельствовать о том, что IFN $\gamma$  является не только эмбриотоксическим фактором, но и фактором, обеспечивающим нормальное развитие плода.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4.

**ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ – СПУТНИКИ МАЛООБЪЕМНОЙ ГЕМОПЕРФУЗИИ**

**Кузнецов С.И., Шкрейдер А.В.**

*ГОУ ДПО Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург, Россия*

Цитокиновая сеть является продуктом и участником сложного функционального комплекса, который включает клетки-продуценты, различные цитокины и их блокаторы, а также клетки-мишени с разнообразными рецепторными структурами. Этот единый функциональный комплекс обладает многочисленными прямыми и обратными связями как на уровне продукции цитокинов, так и на уровне проявления их действия. Цитокиновый комплекс функционирует с высокой степенью надежности благодаря значительному перекрытию и дублированию эффектов цитокинов. Индукция любого цитокина (или группы цитокинов) в каком-либо регионе организма внесет разбалансировку (она может быть скомпенсирована либо нет в зависимости от силы индуктивного воздействия) в работу всей цитокиновой сети и по принципу «мобилей» обязательно отразится на всех ее звеньях и компонентах во всем организме.

Цель настоящего исследования состояла в анализе изменения системного цитокинового профиля после проведения однократной процедуры малообъемной гемоперфузии. Суть процедуры сводится к следующему. У здоровых волонтеров пунктировали локтевую вену и через коммуникационную систему медленно забирали кровь в объеме 30-50 мл в специальную колонку с гемоконтактным препаратом. После ротации колонки кровь также медленно возвращали в гемоциркуляцию в ту же вену с использованием той же коммуникационной системы. Процедура эксфузии-ротации-инфузии занимала 5-10 мин. В венозной крови до начала процедуры методом иммуноферментного анализа регистрировали ряд цитокинов и некоторые белки острой фазы воспаления. Спустя 1 час после завершения процедуры малообъемной гемоперфузии делали забор крови в гепарин из локтевой вены другой руки, получали плазму и анализировали ее по тем же показателям, что и в пробе до процедуры. Среди цитокинов определяли IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ . В группу острофазных реактантов вошли С-реактивный белок (СРБ), а также компоненты комплемента С3, С4 и С5, которые в настоящее время (наряду с фактором В и С4в-связывающим белком) рассматриваются как белки острой фазы воспаления.

Анализ предварительных результатов показал, что цитокиновая сеть заметно реагирует на однократную малообъемную гемоперфузию в венозном варианте выполнения. Единственный (из исследованных) цитокин, который не отреагировал на контактную процедуру, был IL-6. Соотношение концентраций этого цитокина в системе после/до процедуры составило 1,01, т.е. его количество в кровотоке осталось на прежнем уровне. Остальные цитокины вели себя иначе. Максимально отреагировал IL-1 $\beta$ ; его соотношение равнялось 1,80. Далее по убывающей: TNF $\alpha$  – 1,47; IL-8 – 1,24; IFN $\gamma$  – 1,20. Из реактантов острой фазы заметно отреагировал только один белок – С5; соотношение концентраций равнялось 1,13. Концентрация остальных исследованных белков сохранилась практически без изменений: С4 – 1,06; СРБ – 1,02; С3 – 1,00.

Таким образом, однократное воздействие на кровь в виде малообъемной гемоперфузии приводит к увеличению концентрации в системном кровотоке через 60 мин провоспалительных цитокинов, чего нельзя сказать о реактантах острой фазы воспаления, которые, по всей видимости, являются более инерционной системой ответа на возмущающее воздействие. Очевидно, что цитокиновая сеть отреагировала индукцией и других цитокинов, однако утверждать об этом наверняка пока не представляется возможным.

**ТЕРАПИЯ РЕЦИДИВОВ ИНФЕКЦИОННОГО МОНОНУКЛЕОЗА У ДЕТЕЙ**

**Левина А.С., Железникова Г.Ф., Иванова В.В., Монахова Н.Е.**

*НИИ детских инфекций, Санкт-Петербург, Россия*

У 25% детей, перенесших острый инфекционный мононуклеоз (ИМ), формируется рецидивирующее течение инфекции, что требует поиска эффективных способов лечения заболевания в периоде рецидива.

**Цель** настоящей работы – сравнить эффективность 2-х схем иммуномодулирующей терапии при рецидивах ИМ. Дети (от 4 до 12 лет) с рецидивом ИМ получили виферон (ВФ) (n=16) или лейкинферон с человеческим лейкоцитарным интерфероном (ЛФ+ЧЛИ) (n=15).

Клиническая эффективность была достоверно выше в группе детей, получивших ЛФ+ЧЛИ. Сокращалась продолжительность основных симптомов заболевания, таких как затруднение носового дыхания (15,2 $\pm$ 1,2 дня vs 21,2 $\pm$ 2,4, p<0,05), гепатомегалия (17,8 $\pm$ 3,1 vs 28,5 $\pm$ 3,6, p<0,05) и спленомегалия (11,6 $\pm$ 2,1 vs 15,6 $\pm$ 2,3), периода интоксикации (8,5 $\pm$ 0,9 vs 13,4 $\pm$ 1,5, p<0,05) и налетов в зева (4,2 $\pm$ 1,2 vs 8,1 $\pm$ 1,2, p<0,05). В группе ЛФ+ЧЛИ рецидивы в дальнейшем (наблюдение в течение 1 года) отмечались у 13,3% детей, тогда как в группе ВФ рецидивы повторялись у 37,5% детей. Причем 5 детей (33%) в группе ЛФ+ЧЛИ до этого получали лечение ВФ без эффекта. После курса ВФ у 56% детей отмечались заболевания бактериальной природы, такие как синусит, аденоидит, тонзиллит, фурункулез, тогда как в группе детей, получивших ЧЛИ и ЛФ, только у 26,7% детей зафиксированы подобные заболевания. Через 1 месяц после выписки из стационара при оценке иммунного статуса детей, леченных ВФ, наблюдали нейтрофилез, мобилизацию в кровь Т-лимфоцитов CD3 $^+$  и CD4 $^+$  с соотношением CD4/CD8 до 6,2 $\pm$ 1,2 (против 3,1 $\pm$ 0,6 у детей, получивших курс ЛФ+ЧЛИ, p<0,05, при норме 2,2 $\pm$ 0,3). У детей, леченных ЛФ+ЧЛИ, было значительно выше, чем в группе ВФ, содержание CD8 $^+$  Т-лимфоцитов (13,8 $\pm$ 1,9% vs 10 $\pm$ 0,75% при норме 21,2 $\pm$ 1,8%), ЕК CD16 (18,7 $\pm$ 1,7% vs 14,1 $\pm$ 1,5%, p<0,05 при норме 15,5 $\pm$ 1,8%) и CD95 $^+$  активированных и готовых к апоптозу лимфоцитов (26,3 $\pm$ 1,4% vs 21,6 $\pm$ 1,8%, p<0,05 при норме 22,2 $\pm$ 1,6%). У детей, леченных ВФ, через 1 месяц после выписки из стационара обнаружили активацию гуморальных механизмов защиты, проявляющуюся нарастанием в крови уровня IgA (1,4 $\pm$ 0,23 г/л vs 0,93 $\pm$ 0,19 г/л при норме 1,18 $\pm$ 0,11 г/л) и IgG (9,7 $\pm$ 0,6 г/л vs 7 $\pm$ 0,6 г/л, p<0,05 при норме 9,38 $\pm$ 0,5 г/л).

Таким образом, терапия с использованием ЛФ+ЧЛИ была более эффективна по сравнению с курсом ВФ, что вероятно обусловлено высокой противовирусной активностью препарата ЧЛИ, иммуномодулирующим и миелостимулирующим действием ЛФ.

## ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛИКОПИДА У ДЛИТЕЛЬНО РАБОТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТАКРИЛАТОВ

**Литовская А.В., Шипова Е.Е., Шмакова Т.В., Букина К.Л.**

*НИИ гигиены и профпатологии,  
Нижний Новгород, Россия*

Метилметакрилат (ММА) – важнейший компонент при производстве оргстекла, который относится к поли(мет)акрилатам – основным группам смол и пластмасс. Оказывает раздражающее, токсическое, канцерогенное и тератогенное действие, способствует развитию хронической профессиональной интоксикации, что клинически проявляется сочетанными изменениями со стороны нервной, сердечно-сосудистой, эндокринной систем, нарушением функции печени и желудка, репродуктивной функции женщин. Иммуногенность ММА установлена в эксперименте по способности индуцировать выработку IgG-антител и развитие ГЗТ. Нарушения иммунитета различной выраженности обнаружены у работающих в контакте с ММА, в том числе, практически здоровых.

**Целью исследования** явилось изучение иммунокорригирующего влияния ликопида на показатели иммунитета у лиц, длительно подвергающихся воздействию ММА на производстве при превышении его ПДК в воздухе рабочей зоны в 1,5 – 12 раз.

В динамике наблюдения обследованы 23 работника (21 женщина и 2 мужчин) в возрасте от 40 до 58 лет ( $48,30 \pm 0,99$ ) со стажем работы от 4 до 33 лет ( $15,54 \pm 1,60$ ). Проводилось изучение иммунофенотипа лимфоцитов, уровня цитокинов (IL-2, IL-4, IFN $\gamma$ ), иммуноглобулинов IgM, IgG, IgA, IgE, ЦИК, активности фагоцитоза нейтрофилов крови, в слюне – содержания IgM, IgG, IgA и лизоцима. Оценка показателей иммунитета осуществлялась дважды – до назначения ликопида и через 30 дней после окончания курса терапии (по 1 мг в сутки в течение 10 дней). Группой сравнения служили лица того же возраста, не работающие в контакте с вредными факторами.

У работников производства оргстекла при фоновом обследовании выявлены снижение относительного содержания CD19 $^{+}$  – и CD25 $^{+}$  – лимфоцитов, продукции IgA и лизоцима наряду с повышением концентрации ЦИК и IgG. Содержание CD4 $^{+}$  – клеток имело лишь тенденцию к понижению, а существенные изменения уровня цитокинов определялись только в отношении IFN $\gamma$  (достоверное увеличение). При этом статистически значимое снижение CD4 $^{+}$  – лимфоцитов отмечалось у лиц с максимальным стажем (более 20 лет) по сравнению с менее стажированными работниками. В группе длительно работающих наблюдалось также усиление экспрессии активационных маркеров (HLA-DR), угнетение бактерицидной функции нейтрофилов. В то же время, при анализе изученных параметров в зависимости от возраста обследованных установлены по ряду позиций иные закономерности.

Повторное иммунологическое обследование позволило обнаружить склонность к возрастанию CD4 $^{+}$  – клеток, что привело к существенному увеличению ИРИ; значимо повышение CD19 $^{+}$  – лимфоцитов; тенденции к возрастанию IgA, IgG, лизоцима сыворотки и к понижению – ЦИК, IFN $\gamma$ . Вместе с тем, определялись изменения и других показателей, которые при первоначальном тестировании статистически значимо не отличались от группы сравнения: установлено уменьшение клеток, несущих дифференцировочный антиген CD16, а также снижение

фагоцитарной активности нейтрофилов (по значениям фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса и резерва фагоцитоза в НСТ-тесте). Надо подчеркнуть, что и при наличии положительной динамики ряда параметров иммунитета они продолжали существенно отличаться от значений группы сравнения – это касалось сниженных величин CD19 $^{+}$  – и CD25 $^{+}$  – лимфоцитов, активности лизоцима и повышенной продукции IFN $\gamma$ .

Таким образом, применение ликопида у работающих в контакте с ММА позволило продемонстрировать выраженный иммуномодулирующий эффект препарата в отношении различных показателей иммунитета. Установлены особенности иммунного ответа при длительном воздействии химического фактора.

## ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ IFN $\alpha$ И IFN $\gamma$ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН С РАЗЛИЧНЫМ ХАРАКТЕРОМ ТЕЧЕНИЯ И ИСХОДА БЕРЕМЕННОСТИ

**Лукина Н.С., Кудряшова А.В., Панова И.А., Сотникова Н.Ю.**

*ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» МЗ РФ, Иваново, Россия*

Ранняя диагностика и прогнозирование осложнений беременности и родов в современном акушерстве имеет большое значение в связи с ее значимостью для своевременной и эффективной их коррекции. Система интерферонов является важнейшим звеном врожденного иммунитета организма. Без участия интерферонов невозможно развитие полноценного иммунного ответа. В литературе подчеркивается особая роль локальных иммунных факторов в регуляции взаимоотношений в системе «мать-плацента-плод». Установлен эмбриотоксический эффект IFN $\gamma$ . Показано, что уровень интерферонов меняется при развитии осложнений беременности. Так, некоторые исследователи отмечали, что у беременных со смешанной инфекцией уровень IFN $\alpha$  был выше, чем при моноинфекции или в контрольной группе, а содержание IFN $\gamma$  было пониженным у женщин с токсоплазмозом.

Целью исследования было оценить значимость изменения некоторых параметров интерферонового статуса у женщин с различными осложнениями беременности, состоящих на диспансерном наблюдении в женской консультации № 9 г. Иваново.

Уровень IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$  в сыворотке периферической крови определяли методом твердофазного ИФА на аппарате «Multiscan EX» (Labsystem, Финляндия).

При ретроспективном анализе осложнений и исходов беременности были выявлены следующие группы: женщины с физиологически протекавшей на всем протяжении беременности (ФБ), с угрозой невынашивания (УН), в этой группе выделились подгруппы женщин, беременность которых закончилась самопроизвольным выкидышем (СВ) и преждевременными родами (ПР), гестозом и группа беременных с внутриутробным инфицированием плода (ВУИ). Нами выявлено повышение содержания сывороточного IFN $\alpha$  в группе женщин с УН по сравнению с показателями группы женщин с физиологически протекавшей беременностью, причем у женщин с СВ этот показатель был значительно выше. Также высокий уровень этого цитокина был обнаружен в группах с ВУИ и гестозом. Самое высокое содержание IFN $\gamma$  наблю-

далось у женщин с ПР, несколько меньше у женщин с СВ, гестозом и ВУИ.

Таким образом, изменение сывороточного содержания  $IFN\alpha$  и  $IFN\gamma$  уже в ранние сроки беременности при развитии осложнений ее течения свидетельствует о возможности использования этих показателей для разработки прогностических критериев развития некоторых осложнений и исходов беременности и перинатальной патологии.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4.

### УСИЛЕНИЕ ИММУНИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ КОРЕВОЙ ВАКЦИНЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ПОМОЩЬЮ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА МП-2

Ляшенко В.А., Александер С.К., Юминова Н.В.

ГУ НИИ вирусных препаратов  
им. О.Г. Анджанаридзе РАМН,  
Москва, Россия

В проведенных опытах была испытана способность белых нелинейных крыс или морских свинок отвечать на однократную или двукратную иммунизацию живыми вирусными вакцинами – коревой и паротитной. Вакцины вводили в мышцу бедра, кровь для исследования получали, перерезая пучок шейных сосудов. Содержание антител в сыворотке животных определяли в реакции РТГА (торможение агглютикации эритроцитов, вызванной одним из вирусных антигенов), в реакции ИФА и в реакции нейтрализации цитолитического действия вирусных *in vitro* (РН). Кровь у животных брали через 7, 14, 28 дней после однократной иммунизации, через 7 или более дней – после двукратной. Наиболее значимые результаты исследования заключались в следующем: однократная иммунизация белых крыс комбинированной вакциной корь-паротит вызывала синтез антител, специфичных только к вирусу паротита. Синтез антител к вирусу кори возникал только после двукратного применения комбинированной вакцины корь-паротит.

Совершенно иным был результат иммунизации живой коревой вакциной морских свинок (самок весом около 200 г). Результатом однократной иммунизации в этом случае было развитие длительного синтеза коревых антител, нарастающего до 28 или даже 56 дня опыта. Нарастание титра коревых антител было показано в трех тестах параллельно – в РТГА, ИФА и реакции нейтрализации вируса *in vitro*. Результаты, полученные в различных тестах оказались очень близки. Таким образом, была разработана модель длительного иммунного ответа на коревую вакцину у морских свинок. Можно предположить, что вирус коревой вакцины длительно сохраняется или даже размножается в организме этих животных. Первый этап работы по исследованию влияния вируса кори на иммунную систему у животных был завершен. Переход ко второму этапу включал попытку воздействия иммуномодулятора МП-2 на действие живой коревой вакцины *in vivo*. Ранее было показано, что МП-2 частично отменяет неблагоприятное воздействие ЖКВ на лимфоциты человека *in vitro* (возвращает им способность отвечать бласттрансформацией на воздействие фитогемагглютинина). Следующая группа опытов включала одновременное воздействие ЖКВ и МП-2 на морских свинок. Препараты вводили внутримышечно, используя обычную дозу ЖКВ с добавлением МП2 в дозе 0,1 мг/кг или 0,02 мг/кг. Основным результатом проведенной серии заключался в том, что

МП-2 в том или ином варианте достоверно стимулировал образование коревых антител морскими свинками. Титр коревых антител во всех случаях был определен тремя методами: РТГА с эритроцитами обезьян, ИФА на планшетах с лиофилизированной культурой вируса и реакцией нейтрализации вируса *in vitro* (влияние антител на уровень поражения клеток перевиваемой культуры Vero). Во всех системах уровень антител в случае введения МП-2 был выше на 14-ый день опыта. Таким образом, препарат МП-2, с одной стороны, отменял иммунодепрессивное действие вируса коревой вакцины, проявляющееся *in vitro*, с другой – усиливал иммунизирующую способность той же вакцины в опытах на животных. Возможно, оба наблюдаемых эффекта связаны между собой.

Показана способность ЖКВ снижать уровень иммунного ответа морских свинок на живую вакцину против эпидемического паротита (ЖПВ) при совместном введении названных вакцин. Подтверждено умеренное иммунодепрессивное действие ЖКВ, которое предполагается нейтрализовать иммуномодулятором МП-2.

### ФЕНОТИП ЛИМФОЦИТОВ С ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ГЕСТОЗОМ И ВОЗМОЖНОСТИ ЦИТОКИНОТЕРАПИИ

Мамалыга И.Н., Сотникова Н.Ю., Панова И.А.,  
Коряковская Н.Г.

ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства  
им. В.Н. Городкова МЗ РФ», Иваново, Россия

Проведенные исследования иммунологических параметров периферической крови женщин с гестозом свидетельствуют о том, что гестоз сопровождается выраженными изменениями популяционного состава иммунокомпетентных клеток, продукции цитокинов, угнетением показателей гуморального звена и значительной активацией клеток фагоцитарного ряда. Изучение иммунных нарушений в патогенезе гестоза позволило сформировать представление о развитии гестоза как проявлении иммунной дезадаптации. Это является основанием для поиска эффективных методов иммунотерапии гестоза. Перспективным направлением в этой области является цитокиноотерапия. Сильной стороной применения цитокиноотерапии является физиологичность и в то же время своеобразность действия цитокинов на патогенез различных заболеваний.

Целью нашего исследования было установить особенности влияния комплексного цитокинового препарата «Суперлимф» на фенотип лимфоцитов с цитотоксической активностью *in vitro* у беременных женщин с гестозом.

Материалом для исследования служили лимфоциты периферической крови, полученные от 10 беременных женщин с поздним гестозом и 6 женщин с физиологической беременностью III триместра. Выделение лимфоцитов из периферической крови осуществлялось стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколла-верографина 1,078. Для оценки экспрессии поверхностных CD-маркеров, лимфоциты периферической крови использовали в конечной концентрации  $2 \times 10^6$  кл / мл. Клетки инкубировали с комплексным цитокиновым препаратом «Суперлимф» в концентрации 1 мкг/мл в течение 60 мин. С помощью моноклональных антител (CALTAG LABORATORIES, Burlingame, CA) методом проточной цитофлюориметрии

оценивали относительное содержание CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, а также уровень экспрессии ими активационных молекул CD 69. Контролем служили соответствующие показатели клеток, инкубированных в Среде 199 без добавления препарата «Суперлимф». Оценивали экспрессию определяемых маркеров до и после инкубации. Сравнительный анализ иммунологических параметров женщин с физиологической беременностью III триместра и женщин с поздним гестозом показал, что в крови женщин с гестозом достоверно был снижен уровень активационных молекул CD69 (4,6±0,4% при гестозе и 6,3±0,6 при физиологической беременности  $p < 0,05$ ). У женщин с гестозом под влиянием комплексного цитокинового препарата «Суперлимф» достоверно повышался уровень экспрессии CD69 в популяциях CD16<sup>+</sup> и CD56<sup>+</sup> клеток (2,5±0,2% до инкубации и 4,1±0,5% после инкубации с препаратом «Суперлимф»  $p < 0,02$  и 2,0±0,4% до инкубации и 3,6±0,6% после инкубации с препаратом «Суперлимф»,  $p < 0,05$ , соответственно), тогда как у женщин с физиологической беременностью уровень экспрессии активационных молекул CD69<sup>+</sup> повышался только на поверхности CD56<sup>+</sup> клеток (2,9±0,5% до инкубации и 6,0±1,0% после инкубации с препаратом «Суперлимф»  $p < 0,05$ ). Таким образом, в результате проведенного исследования выявлена способность препарата «Суперлимф» модулировать активность ЕК, что открывает новые возможности терапии гестоза. (Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4).

#### **ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ПРЕДРАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И РАКЕ ГОРТАНИ**

**Махов В.А.**

*Государственный институт усовершенствования врачей, Новокузнецк, Россия*

В структуре злокачественных новообразований ЛОР-органов рак гортани занимает первое место (Пачес А.И., 2000). Его доля среди злокачественных опухолей верхних дыхательных путей составляет 65-70% (Вержицкий Г.В., 1986; Терещенко И.В. и соавт., 1994; Кицманюк З.Д. и соавт., 1998).

Несмотря на постоянное совершенствование хирургического и лучевого метода лечения рака гортани, сколько-нибудь определенно снизить показатели летальности не удалось. При этом существенные успехи в лечении, как правило, достигнуты только на ранних стадиях заболевания (Кицманюк З.Д. и соавт., 1998).

По данным ряда авторов, рак гортани выявляется в III-IV стадиях в 65-68% случаев (Огольцова Е.С., 1984; Ольшанский В.О. и соавт., 1990; Пачес А.И., 1997, 2000; Rzewnicki I. et al., 2002). Это указывает на недостаточность ранней диагностики рака гортани.

Одним из решения данной проблемы является поиск новых онкомаркеров, на роль которых, в значительной мере, претендуют пептиды кооперации иммунной системы – интерлейкины.

Остановимся на двух интерлейкинах, которые играют одну из лидирующих ролей в онкогенезе – это провоспалительные цитокины – интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) и интерлейкин-6 (IL-6).

Наличие IL-1 – обязательное условие формирования практически всех этапов иммунологического ответа, в

первую очередь благодаря способности активировать антигенпрезентирующие клетки и CD4<sup>+</sup> -лимфоциты, влиять на дифференцировку В-лимфоцитов и др. IL-1 активирует естественные киллеры, участвует в регуляции продукции интерлейкина (IL) 2 (IL-2), IL-4, IL-6, IL-8, GM-CSF и других цитокинов. При этом активными ингибиторами продукции IL-1 являются факторы роста (TGF), интерферон – гамма (IFN $\gamma$ ) (Berhinmaer S.A., 2001), интерлейкин-4 (IL-4), интерлейкин-10 (IL-10), интерлейкин-12 (IL-12), интерлейкин-19 (IL-19), фактор некроза опухоли – альфа (TNF $\alpha$ ) (Dinarello C.A., 1998).

Значительное число работ посвящено и изучению роли в опухолевом процессе другого провоспалительного цитокина – интерлейкина-6 (IL-6). Подобно IL-1, IL-6 наряду с выраженными провоспалительными обладает и иммуномодулирующими свойствами (Rohn W. et al., 1999). Из последних следует отметить участие в индукции иммунологического ответа, способность к регуляции дифференцировки В-лимфоцитов и усиление антителообразования, модуляцию противоопухолевой активности макрофагов вместе с IL-1.

**Целью** настоящей работы было изучить возможность использования определения концентрации IL-1 и IL-6 сыворотки крови для дифференциальной диагностики рака и предрака гортани.

**Материалы и методы.** Первую (основную) группу составили 40 больных с клинически достоверным диагнозом рак гортани (РГ) находившиеся в клинике ГКБ № 1 г. Новокузнецка. При гистологической верификации диагноза были получены следующие данные: высокодифференцированный рак выявлен у 37 пациентов (92,5%), высокодифференцированный с участками умеренной дифференцировки у 2 больных (5%), низкодифференцированный рак у 1 больного (2,5%). Все наблюдения относились к плоскоклеточному раку. Обследование данной группы больных проводили до какого либо лечения.

Вторую группу (группу сравнения) включили пациенты с предраковыми заболеваниями гортани (ПРГ) – 31 пациент. Возраст больных варьировался в широких пределах – от 23 до 75 лет, при этом средний возраст обследованных составил 47±2 года (M±m). Данную группу составили пациенты с хроническим гиперпластическим ларингитом, лейкокератозом гортани и папилломами гортани. Давность заболевания, по анамнестическим данным, варьировалась от 3 месяцев до 3 лет.

Определение концентрации интерлейкинов в сыворотке крови выполнялось твердофазным иммуноферментным методом на тест-системах «ProCon IL-1 $\beta$ » и «ProCon IL-6» (Протеиновый контур-Тест, Санкт-Петербург, Россия) по инструкции изготовителя. Статистические методы: по парное межгрупповое сравнение показателей производилось по U-критерию Манна-Уитни с использованием пакета SPSS 12 (SPSS Lab., США).

Концентрация IL-1-бета в крови больных раком гортани до лечения (M±m) составляет 18±2 пг/мл (CI 95% 13 – 23), у пациентов с предраковыми заболеваниями гортани 35±5 пг/мл (CI 95% 24 – 46). При этом значение IL-1-бета статистически значимо различалось во всех группах ( $p < 0,05$ ).

Концентрация IL-6 в крови больных раком гортани составляет 65±4 (CI 95% 57 – 74) пг/мл, у пациентов с предраком гортани 40±3 (CI 95% 33 – 48) пг/мл. Значение IL-6 статистически значимо различалось во всех группах ( $p < 0,05$ ).

Для оценки диагностической чувствительности, т.е. способности метода распознать заболевание (в данном случае отдифференцировать рак от предрака), и диагностической специфичности т.е. дать отрицательный результат при отсутствии заболевания, произведен соответствующий расчет показателей.

Оптимальное соотношение чувствительности и специфичности метода (чувствительность 81%, специфичность 78%) определяется при точках раздела для IL-6 в 40 пг/мл, а для IL-1 $\beta$  18 пг/мл.

По нашему мнению представленные данные свидетельствуют о диагностических возможностях использования определения концентрации IL-6 и IL-1-бета в комплексной диагностике новообразований гортани.

## СОСТОЯНИЕ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАРОДОНТИТОМ

**Меленберг Т.В.**

*ММУ «Стоматологическая поликлиника № 2», Самара, Россия*

Согласно эпидемиологическим данным воспалительные заболевания пародонта, такие как гингивит и пародонтит, являются самыми распространенными, поражено более 80% населения, и служат причиной потери совершенно здоровых зубов, не имеющих кариозных поражений (ВОЗ, 1980; Л.М.Михалева, В.Д.Шаповалов, Т.Г.Бархина, 2004 и др.). Многочисленные публикации ученых (Б.В.Пинегин и соавт., 1998; Р.М.Хаитов, 2000; T.L.Wagner, 1999 и др.) свидетельствуют о значительном росте хронических заболеваний, обусловленных приобретенной вторичной иммунной недостаточностью, причины которой до конца не выяснены. Безуспешность консервативной терапии воспалительных заболеваний пародонта, неэффективность профилактических мероприятий указывает на необходимость проведения иммунологического анализа (Г.Г.Автандилов, 2004).

**Цель** проводимого исследования: изучить состояние местного иммунитета полости рта у больных хроническим пародонтитом.

### Задачи:

1. Оценить изменения про- и противовоспалительных цитокинов у больных хроническим пародонтитом;
2. Проанализировать характер изменения уровня иммуноглобулинов разных классов в зависимости от степени тяжести процесса.

**Материалы и методы исследования:** изучено содержание цитокинов: IL-1, IL-4, TNF $\alpha$  и IgA, IgG, sIgA в ротовой жидкости больных хроническим пародонтитом. Все пациенты – 92 человека разделены на три группы по степени тяжести пародонтита. Контрольную группу составили 11 человек без клинических проявлений заболеваний пародонта и сопутствующих хронических заболеваний.

**Основные результаты.** Проведенное нами исследование позволило установить, что у пациентов с хроническим пародонтитом повышено, по сравнению с контролем, содержание провоспалительных цитокинов IL-1 в 2,25 раза, IFN $\alpha$  в 4 раза, а противовоспалительного – IL – 4 напротив снижено в 2,8 раза. Причем достоверные изменения показателей между группами отсутствуют. У всех больных в ротовой жидкости отмечено достоверное повышение уровня IgG, уровень IgA также повышен, но не

имеет достоверных отличий между группами по степени тяжести заболевания. Содержание sIgA достоверно снижено у пациентов при тяжелом течении пародонтита, при легкой и средней степенях снижение незначительно.

Таким образом, развитие хронического пародонтита сопровождается изменениями местных иммунных механизмов защиты ротовой полости, проявляющимися в изменении содержания в ротовой жидкости про- и противовоспалительных цитокинов, а также иммуноглобулинов. Это подтверждает, что изучение роли иммунопатологических механизмов в формировании хронического воспаления тканей пародонта и разработка клинико-иммунологических критериев для назначения иммуномодуляторов являются актуальными в настоящее время направлениями.

## ВЛИЯНИЕ TNF $\alpha$ , MEKK1 И ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ C-JUN НА ПРОТЯЖЕННУЮ 5'-РЕГУЛЯТОРНУЮ ОБЛАСТЬ ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА А1 ЧЕЛОВЕКА

**Могиленко Д.А.<sup>1,2</sup>, Лапиков И.А.<sup>1,2</sup>, Диге Э.Б.<sup>1</sup>, Ефремов А.М.<sup>1,2</sup>, Орлов С.В.<sup>1,2</sup>, Перевозчиков А.П.<sup>1,2</sup>**

*<sup>1</sup>НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия*

Показано, что аполипопротеин А1 (апо А1) человека, ассоциированный с липопротеидами высокой плотности (ЛПВП), является негативным белком острой фазы воспаления. В ряде работ продемонстрировано подавление экспрессии генетических конструкций, содержащих промотор гена апо А1, при действии провоспалительных цитокинов, таких как TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ . Существует представление о способности апо А1 человека к модуляции развития процесса воспаления, путем ингибирования продукции цитокинов моноцитами. В связи с вышеизложенным, представляет интерес изучение экспрессии гена апо А1 человека в условиях, моделирующих воспаление.

**Целью работы** является изучить действие TNF $\alpha$ , а также MEKK1 и фактора транскрипции c-Jun на различные делеционные варианты протяженной (-2500...+173) промоторной области гена апо А1 человека на модели клеток гепатомы человека (HepG2).

В ходе исследования использовались методы генной инженерии (создание генетических конструкций), метод задержки в геле, метод кальций-фосфатной преципитации, метод измерения активности люциферазы в клеточных лизатах.

Методами генной инженерии были получены следующие делеционные варианты протяженной 5'-регуляторной области гена апо А1 человека, сцепленные с геном люциферазы: pALT (-2500...+173), pA1Stu (-2500...+72), pA1Xba (-2106...+173), pA1XbaStu (-2106...+72), pA1Sma (-256...+173), pA1SmaStu (-256...+72). Добавление TNF $\alpha$  в концентрации 100 нг/мл к клеткам HepG2, трансфецированным перечисленными генетическими конструкциями, приводит к подавлению экспрессии в 2 раза в случае pALT, в 7,7 раз – pA1Xba, в 4,2 раз – pA1Sma, в 5 раз – pA1SmaStu, в 7,6 раз – pA1Stu, соответственно.

Охарактеризованы потенциальные Ap1-подобные цис-элементы, находящиеся в дистальной части 5'-регуляторной области и в составе первого интрона гена апо А1 человека: две идентичные последовательности TGAGGTCT (координаты -2171... -2164 и +99...+106 со-

ответственно относительно точки инициации транскрипции). Показано взаимодействие последовательности TGAGGTCT с ядерными белками клеток гепатомы человека (HepG2). Удаление участка первого интрона гена апо А1 (+72...+173) приводит к стимуляции экспрессии таких генетических конструкций в 15-20 раз в клетках HepG2 в сравнении с генетической конструкцией, содержащей полноразмерную 5'-регуляторную область гена апо А-1 – pALT. В клетках HepG2 происходит подавление уровня экспрессии генетических конструкций с делециями по дистальным районам 5'-регуляторной области в 30-50 раз при действии MEKK1 и в 1.5-2 раза при действии c-Jun. В то же время, при действии MEKK1 происходит подавление уровня экспрессии генетической конструкции, содержащей полноразмерную 5'-регуляторную область гена апо А-1 в 500 и более раз и в 2 раза при действии c-Jun в клетках HepG2.

Полученные данные подтверждают угнетающее действие TNF $\alpha$  на промотор гена апо А1 человека и демонстрируют сложный характер регуляторных влияний дистальных участков 5'-регуляторной области и первого интрона гена апо А1 человека на экспрессию гена апо А1 человека при действии TNF $\alpha$ , MEKK1 и c-Jun.

### ИММУНОСУПРЕССИВНАЯ АКТИВНОСТЬ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ СТРУКТУРОЙ ЕГО БЕЛКОВОЙ ЧАСТИ

**Молдогазиева Н.Т., Терентьев А.А., Казимирский А.Н., Тагирова А.К.**

*Российский государственный медицинский университет, Москва, Россия*

На различных типах иммунокомпетентных клеток показано, что альфа-фетопротеин (АФП), основной онкофетальный белок млекопитающих, обладает иммуносупрессивным действием. Однако до сих пор нет единого мнения относительно того, является ли эта активность АФП свойством самой белковой молекулы или же определяется наличием в его составе небелковых компонентов. По мнению ряда исследователей, иммуносупрессивная активность альфа-фетопротеина зависит от наличия в его составе низкомолекулярных лигандов или молекулярной микрогетерогенности, обусловленной различиями в углеводном составе альфа-фетопротеинов, синтезируемых в различных тканях.

**Цель исследования** – изучить иммуномодулирующие свойства участка полипептидной цепи АФП человека LDSYQCT (а.о. 14-20), для которого предсказано наличие биологической активности и показать, что иммуносупрессивная активность АФП определяется структурой его белковой части.

**Материалы и методы.** Методом химического синтеза на твердой фазе был получен синтетический пептид, имеющий состав LDSYQC(асм)Т, где асм – ацетамидометильная группа, необходимая для защиты сульфгидрильной группы цистеина от окисления. Иммуномодулирующие свойства гептапептида LDSYQC(асм)Т изучали в реакции бласттрансформации лимфоцитов периферической крови человека. Экспрессию поверхностных активационных антигенов лимфоцитов определяли с помощью моноклональных антител в реакции непрямой иммунофлуоресценции. Для построения трехмерной (3D) модели АФП на основе гомологии с альбумином применяли программу MODELLER с использованием в

качестве шаблона структуру 1GNI, взятую из базы данных PDB.

**Основные результаты.** В концентрациях  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  и  $10^{-9}$  М гептапептид умеренно стимулировал пролиферацию неактивированных лимфоцитов и проявлял выраженное ингибирующее действие на пролиферацию лимфоцитов, активированных ФГА. Гептапептид дозо-зависимо стимулировал спонтанную пролиферацию лимфоцитов с максимальным эффектом (в 2,2 раза) при концентрации 10 мкг/мл. Ингибирование пролиферации лимфоцитов, активированных ФГА, было выявлено при всех вышеуказанных концентрациях пептида и составило около 40%. Вероятно, в условиях *in vivo* пептид подавляет повышенную пролиферативную активность лимфоцитов, наблюдаемую при аутоиммунных заболеваниях, не влияя на нормально пролиферирующие клетки. В культуре клеток больных инфекционно-аллергическим миокардитом с естественно активированными лимфоцитами гептапептид достоверно понижает экспрессию позднего активационного антигена HLA-DR и индуцирует экспрессию Fas-антигена CD95, пониженную в период обострения заболевания. При этом пептид достоверно не влияет на экспрессию ранних активационных антигенов CD25 и CD71. Увеличение количества CD95+ лимфоцитов свидетельствует в пользу предположения о том, что гептапептид LDSYQCT может индуцировать апоптоз, так как этот процесс зависит от Fas/FasL клеточного взаимодействия.

Основываясь на наличии достаточно высокой степени сходства (39% идентичности) между аминокислотными последовательностями АФП и сывороточного альбумина, для которого трехмерная (3D) структура установлена с помощью рентгеноструктурного анализа, нами была предпринята попытка компьютерного построения модели пространственной структуры АФП с помощью метода молекулярного моделирования на основе гомологии с альбумином. После оптимизации полученной структуры и ее оценки был проведен анализ модели, включая определение расположения биологически активных участков, который выявил, что в трехмерной структуре АФП гептапептид LDSYQCT располагается близко к поверхности молекулы.

**Заключение.** Таким образом, фрагмент полипептидной цепи альфа-фетопротеина человека LDSYQCT (а.о. 14-20), также как и интактная молекула, обладает иммуносупрессивными свойствами. Следовательно, этот фрагмент может рассматриваться как биологически активный участок, ответственный за иммуносупрессивную активность АФП. Тем самым, нами подтверждено, что иммуномодулирующие свойства АФП определяются структурой его белковой части и проявляются независимо от наличия лигандов или углеводных компонентов.

### ЦИТОКИНЫ В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ФЕРТИЛЬНОСТИ ЖЕНЩИН

**Мурзакматов М.А., Абашинов В.Г., Давыдова Н.И., Ильин А.Б.**

*Военно-медицинская академия, Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины МЧС России, Санкт-Петербург, Россия*

Иммунная система, наряду с нервной и эндокринной системами осуществляет регуляцию репродуктивного процесса. Комплекс этих воздействий на клетки-мишени опосредуется как через рецепторно-лигандные связи, так

и участием дистантных факторов – гормонов, реализующих свое влияние в том числе через медиаторы межклеточных взаимодействий – цитокины. Роль цитокинов в сложных и динамических процессах в эндометрии перимплантационного периода, в функционировании трофобласта и плаценты в настоящее время привлекает внимание специалистов разных профилей.

**Целью исследования** явилось изучение продукции цитокинов – интерлейкина-6 (IL-6), фактора некроза опухоли –  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), интерферона- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) биоптатами эндометрия, полученными в секреторной фазе менструального цикла – в период наибольшей «восприимчивости» эндометрия к имплантации эмбриона.

Обследовано 28 женщин с нарушениями фертильности, из них -18 с трубной формой бесплодия (I гр.) и 10 женщин с бесплодием «неясной» этиологии (II гр.). Материал для исследования получали путем аспирационной биопсии эндометрия в секреторной фазе менструального цикла, предполагаемого периода имплантации бластоцисты (19 – 24 дни менструального цикла).

Методом иммуноферментного анализа в суточных супернатантах биоптатов эндометрия определяли продукцию IL-6, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ .

Результаты исследования показали, что продукция IL-6 клетками эндометрия превышала уровень 50 пг/мл у 82,1% женщин, страдающих бесплодием (у 23 женщин из 28), при этом достоверных различий величин этого показателя в группе женщин с трубной формой бесплодия и женщин с бесплодием неясного генеза выявлено не было.

Высокий уровень продукции IFN $\gamma$  (более 50 пг/мл) клетками эндометрия был выявлен у 42,8% (12) женщин с бесплодием, из них у 50% пациенток I и у 30% – II групп. Высокий уровень продукции TNF $\alpha$  наблюдался только у 39,2% (11) обследованных женщин, из них у 38,9% пациенток I и у 40% – II групп. Достоверных различий продукции цитокинов IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  клетками эндометрия между сравниваемыми группами не выявлено.

У женщин с нарушением фертильности отчетливо выражена тенденция к ( $p>0,05$ ) к увеличению продукции IL-6 клетками эндометрия в секреторной фазе менструального цикла, тогда как повышенный уровень продукции IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  клетками эндометрия наблюдался не более чем у половины обследованных женщин. Повышенный уровень продукции провоспалительных цитокинов клетками эндометрия косвенно свидетельствует о наличии воспалительного процесса, который может обусловить отсутствие адекватных реакций эндометрия на гормональную стимуляцию вследствие нарушения экспрессии и функции его рецепторов.

### **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ РИБОМУНИЛА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПНЕВМОНИИ**

**Мусаходжаева Д.А., Шамсиев Ф.М.,  
Мирсалихова Н.Х., Азизова Н.Д.**

*Институт иммунологии АН РУз, НИИ Педиатрии  
МЗ РУз, Ташкент, Узбекистан*

Пневмония представляет собой полиэтиологическое заболевание, причиной которого, с одной стороны, могут быть патогенные и условно-патогенные микроорганизмы (стрептококки, гемофильная палочка, клебсиеллы, грибки рода *Candida*, аденовирусы, миксо- и коронавирусы),

с другой стороны – это всегда сниженная иммунореактивность больного.

Целью исследования было изучение влияния Рибомунила на клинико-иммунологическое состояние больных хронической пневмонией. Под нашим наблюдением находились 40 детей с хронической пневмонией в возрасте от 8 до 15 лет. Анализ анамнестических данных показал, что из всех больных хронической пневмонией 95% перенесли острую пневмонию на первом году жизни. При рентгенологическом исследовании у всех больных с хронической пневмонией в фазе обострения были выявлены очаговые и инфильтративные пневмонические тени, которые являлись очень лабильным компонентом заболевания. Пневмонические фокусы локализовались преимущественно вокруг бронхов, у части больных наблюдалась инфильтрация сегментов и целых долей легких, зачастую в нижних отделах легких. Популяционный состав лимфоцитов и экспрессию ими активационных маркеров оценивали до и после лечения с помощью моноклональных антител (ЗАО «Сорбент-сервис», Москва, Россия). Продукция цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-8 определялась с использованием тест-систем, разработанных ТОО «Цитокин» (С.-Петербург). В комплексное лечение был включен препарат Рибомунил, который обладает как вакцинальным эффектом против наиболее частых возбудителей инфекций дыхательных путей, так и неспецифическим иммуностимулирующим эффектом. Обследование проводилось до и после лечения, а также через 6 месяцев.

Исследование иммунного статуса проводили до лечения и в конце лечения, через 6 месяцев (CD3 $^+$ , CD4 $^+$ , CD8 $^+$ , CD16 $^+$ , CD20 $^+$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IgG, IgA, IgM, ФАН). У всех больных детей при поступлении в стационар выявлено достоверное ( $P<0,001$ ) уменьшение количества CD3 $^+$ , CD4 $^+$ - и CD8 $^+$  клеток. Фагоцитарная активность была снижена по сравнению с контрольной группой. Количество CD16 было достоверно повышенным. Концентрация иммуноглобулина G и A была снижена, а M – повышена ( $P<0,05$ ). Анализ уровня провоспалительных цитокинов у больных детей показал их повышенную экспрессию в сыворотке крови. Так, в среднем на группу уровень IL-1 $\beta$  составил  $924\pm 18,6$  пг/мл и был достоверно выше показателей контрольной группы –  $184\pm 12,5$  пг/мл ( $P<0,01$ ). Полученные данные позволяют думать о наличии определенной зависимости уровня продукции IL-1 $\beta$  от характера инфекционного процесса, о чем свидетельствует более высокий уровень его секреции в группе больных. IL-8 выполняет роль индуктора воспалительной реакции, стимулирует адгезивные свойства нейтрофилов. По нашим данным концентрация продукции IL-8 в группе больных в 3,5 раза выше ( $426\pm 87$  пг/мл), чем в контроле –  $126\pm 13,9$  пг/мл ( $P<0,001$ ). Через 6 месяцев после начала приема Рибомунила анализ иммунологических исследований выявил достоверное увеличение содержания CD3 $^+$ , CD4 $^+$  и CD8 $^+$ -лимфоцитов ( $P<0,001$ ). Концентрация IgG и IgA в сыворотке больных детей и фагоцитарная активность нормализовалась по сравнению с данными до лечения ( $P<0,001$ ). Продукция IL-1 $\beta$  и IL-8 достоверно снизилась ( $P<0,001$ ). Следовательно, применение Рибомунила при хронической пневмонии способствует восстановлению нарушенных функций иммунной системы путем повышения активности иммунорегуляторных субпопуляций T- лимфоцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов.

## SINGLE MOLECULE IMAGING AND ANALYSIS OF THE INTERLEUKIN-4, -13 AND -5 RECEPTORS. HI-END FLUORESCENCE MICROSCOPY AND NANOTECHNOLOGY IN IMMUNOLOGY

Noskov Andrey, Harms Gregory S.

Universität Würzburg, Würzburg, Germany

**Rationale.** Cytokines and their receptor systems are primary regulators of growth, development and function of effector cells of the immune system. Cytokine networks also characterized by extremely high complexity of action which is strongly underlined by the two facts: 1) That almost all cytokines are pleiotropic effectors. Means that one particular cytokine is showing multiple biological activities. 2) Cytokine actions are redundant; several cytokines can perform the same function.

How could one ligand cause so many and sometimes opposite effects? The precise ligand-receptor signalling molecular mechanisms are partially understood. We know that one ligand can bind different receptor combinations. However, X-ray or NMR analysis and conventional methods of molecular biology do not allow us to see individual ligand-receptor combinations and consequent signalling at one time. There are many different combinations occurring in a single cell at any given time. And these techniques suggest averaged and rather artificial models of receptor-ligand interaction. Single-molecule microscopy – the ground-breaking technique recently developed by Prof. Dr. Harms is the unique approach having the potential to fill this gap and provide exclusive insights on protein-protein interactions *in vivo*. Only this technique is able to pinpoint the individual combinations at one time for the true complete, *in vivo* picture.

**Methods and results.** Single-Molecule Fluorescence Microscopy uses ultra sensitive CCD-detectors to trace the position of a membrane receptor labelled with a single fluorescent molecule or nanoparticle. For the visualization we have specifically labelled components of receptor systems for IL-4, IL-13, and IL-5. Along with fluorescence dyes, the superior fluorescence Quantum dots were implemented for the visualization and resolution of the micro-localization, local stoichiometric and diffusion pattern of receptors *in vivo* on appropriate cellular systems (including TF-1, HL-60, and eosinophilic cells).

**Conclusions.** The initiation and course of molecular events for IL-4, -13 and -5 systems have been observed for the first time with level of resolution down to single molecule *in vivo*. Such observation and understanding the activation kinetics, diffusion, binding stoichiometry, and colocalization of single receptors *in vivo* shed a light on how the individual cytokines initiate discrete signalling cascades and regulate distinct aspects of immune system work.

## ВИЗУАЛИЗАЦИЯ И АНАЛИЗ ЕДИНИЧНЫХ МОЛЕКУЛ РЕЦЕПТОРОВ IL-4, IL-13 И IL-5. HI-END ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ И НАНОТЕХНОЛОГИИ В ИММУНОЛОГИИ

Носков Андрей, Хармс Грегори С.

Университет Вюрцбург, Вюрцбург, Германия

**Цели.** Цитокины и их рецепторные системы являются непосредственными регуляторами роста, развития и

функционирования эффекторных клеток иммунной системы. Цитокиновые сети характеризуются очень высокой комплексностью действия, что определяется, в частности, двумя фактами: 1) практически все цитокины являются плейотропными эффекторами – индивидуальный цитокин имеет ряд активностей; 2) действия цитокинов редандны – несколько различных цитокинов могут выполнять одну и ту же функцию.

Как один лиганд может вызывать такое число подчас противоположных эффектов? Молекулярные механизмы лиганд-рецептор взаимодействия изучены лишь частично. Мы знаем, что один лиганд может связываться с различными комбинациями рецепторов. Однако рентгеноструктурный или ЯМР анализ и традиционные методы молекулярной биологии не позволяют одновременно визуализировать индивидуальные комбинации лиганд-рецептор или различных рецепторов и инициацию соответствующего сигнального каскада одновременно. На поверхности клетки одновременно присутствует множество различных комбинаций лиганд-рецептор, рецептор-рецептор. Стандартные методы предлагают усредненные и достаточно искусственные модели взаимодействия между ними. Микроскопия единичных молекул – передовая технология, разработанная проф. Хармсом, является уникальным подходом, способным восполнить этот пробел и полноценно охарактеризовать взаимодействия протеинов *in vivo*.

**Методы и результаты.** Флюоресцентная микроскопия единичных молекул использует ультрачувствительные CCD-детекторы для определения позиции мембранного рецептора, меченого единичной флюоресцентной молекулой или наночастицей. Для визуализации компоненты рецепторной системы для IL-4, IL-13 и IL-5 были специфично помечены флюоресцентными красителями, а также превосходящими их по фотофизическим характеристикам флюоресцентными Квантовыми Точками. На подходящих клеточных системах (включая TF-1, HL-60 и эозинофилы) были охарактеризованы микро-локализация, локальная стехиометрия и диффузионный паттерн рецепторов *in vivo*.

**Выводы.** Впервые было проведено наблюдение инициации и протекания молекулярных процессов в системах IL-4, IL-13 и IL-5 с разрешением до единичной молекулы *in vivo*. Это позволяет оценивать кинетику активации, диффузии, стехиометрии и колокализации единичных рецепторов *in vivo* и проливает свет на то, как индивидуальные цитокины иницируют отдельные сигнальные каскады и регулируют различные аспекты работы иммунной системы.

## РЕГУЛЯЦИЯ ЛЕПТИНОМ ФАГОЦИТАРНОЙ И СЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЖЕНЩИН

Орлова Е.Г., Ширшев С.В.

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

Лептин является пептидным гормоном, который синтезируется, главным образом, адипоцитами. Основная биологическая роль лептина связана с регуляцией энергетического баланса организма и ограничением избыточного накопления жировой массы. Содержание лептина в плазме крови прямо коррелирует с количеством жировой ткани, а также варьирует в зависимости от изменения кон-

центрации некоторых гормонов и цитокинов. Так уровень лептина значительно нарастает во время беременности, особенно во II триместре. Участие лептина в регуляции иммунных реакций определяется его непосредственным влиянием на клетки иммунной системы, которые экспрессируют специфические рецепторы. Анализ литературы убедительно показывает, что лептин является провоспалительным гормоном, который способствует преобладанию клеточно-опосредованного иммунного ответа. Однако роль лептина в регуляции иммунных реакций при беременности остается практически не изученной.

**Цель** настоящей работы – исследовать влияние лептина в дозах (10 и 35 нг/мл), сопоставимых с концентрацией гормона в I-III триместрах беременности, на фагоцитарную активность и продукцию цитокинов фракционированными моноцитами женщин в модели *in vitro*.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили фракционированные моноциты периферической крови человека. Суспензию мононуклеаров получали центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина (1,077 г/см<sup>3</sup>) с последующим выделением моноцитов путем адгезии на чашках Петри. Влияние лептина (10 и 35 нг/мл) на поглотительную активность моноцитов оценивали в отношении формализированных эритроцитов барана (ФЭБ) и опсонизированных ФЭБ (опФЭБ). Выделенные моноциты (10<sup>6</sup>) преинкубировали с лептином 60 мин при 37<sup>o</sup>C. Затем часть клеток забирали и смешивали с равным количеством объектов фагоцитоза (10<sup>7</sup>). Для исследования механизмов модулирующих эффектов гормона на поглотительную функцию моноцитов за 5 минут до внесения объектов фагоцитоза в суспензию добавляли блокатор scavenger-рецепторов (Poly I:C) или блокатор рецепторов к C3b-компоненту комплемента (C3b-компонент комплемента). В оставшуюся часть суспензии вносили ЛПС (100 нг/мл) и культивировали 18 ч при 37<sup>o</sup>C в условиях 5% CO<sub>2</sub>. После собирали супернатанты и оценивали продукцию цитокинов (IL-1β; IFNα) иммуноферментным методом. Достоверность различий оценивали с помощью парного *t*-критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что лептин в дозах, сопоставимых с концентрацией гормона в I-III триместрах беременности, стимулировал фагоцитарную активность моноцитов в отношении различных объектов фагоцитоза, при этом статистически достоверных дозозависимых эффектов гормона выявлено не было. Показана способность лептина модулировать как опсонин-зависимые, так и опсонин-независимые механизмы фагоцитоза моноцитов, причем наибольший стимулирующий эффект обнаружен в отношении опсонин-зависимого поглощения объектов фагоцитоза. Блокада рецепторов к C3b-компоненту комплемента отменяла активирующий эффект гормона на фагоцитоз моноцитами опФЭБ, что свидетельствует об участии гормона в регуляции комплемент-зависимого фагоцитоза. Полученные результаты согласуются с литературными данными о том, что лептин усиливает экспрессию CD11b на моноцитах. Известно, что поглощение моноцитами ФЭБ происходит, главным образом, при участии scavenger-рецепторов. В нашем исследовании блокада scavenger-рецепторов также отменяла стимулирующее действие лептина на фагоцитарную активность моноцитов в отношении ФЭБ. По-видимому, эффекты гормона реализуются благодаря усилению экспрессии молекул, необходимых для адгезии объектов фагоцитоза. При оценке модуляции лептином секретор-

ной функции моноцитов установлено, что лептин стимулировал секрецию IL-1β моноцитами, и дозозависимо угнетал продукцию IFNα моноцитами.

Таким образом, лептин выступает важным регулятором функциональной активности моноцитов периферической крови во время беременности.

### **ИЗМЕНЕНИЕ БАЛАНСА ЦИТОКИНОВ И КОРТИЗОЛА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПОСТРАДАВШИХ С ЗАКРЫТОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ КАК МАРКЕР РАННЕГО ПРОГНОЗА ОТДАЛЕННЫХ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ**

**Осипова И.В., Пивоварова Л.П., Логинова М.П., Арискина О.Б.**

*ГУ Санкт-Петербургский НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, Россия*

После закрытой черепно-мозговой травмы легкой степени тяжести (ЛЗЧМТ) восстановление церебральных функций происходит только в 30%, неврологические последствия встречаются почти в 50% случаев, прогрессирующее течение посттравматического процесса наблюдается до 20% случаев.

Известно, что интегративный ответ нейроиммунноэндокринной системы на травму отражает степень тяжести повреждения мозга и направленность течения травматической болезни головного мозга.

**Цель и задачи.** Исследование содержания интерлейкина-1β (IL-1β), рецепторного антагониста интерлейкина-1 (IL-1ra), интерлейкина-6 (IL-6) и кортизола как маркеров нейроиммунноэндокринных взаимодействий у пострадавших с ЛЗЧМТ в зависимости от типа течения посттравматического периода (прогрессирующего или регрессирующего).

**Материалы и методы.** Проведен иммунологический мониторинг 75 человек с ЛЗЧМТ при поступлении, на 3, 10, 30 сутки и через год после травмы. Содержание цитокинов и кортизола исследовали в сыворотке крови ИФА-методом (ООО «Цитокин», ООО «Алкор Био»). Средний возраст пострадавших 32±9 лет, без соматической и неврологической патологии в анамнезе до травмы. При клинико-инструментальном обследовании через год после травмы у 58% пострадавших был диагностирован посттравматический синдром (ПТС), где доминирующими были синдром вегетативной дисфункции, посттравматическая церебрастения. У 42% пострадавших посттравматический период проходил без последствий (БП).

Было выявлено, что при поступлении соотношение содержания IL-1β, IL-6 и кортизола у пострадавших в обеих группах было одинаковым. Однако, начиная с 3 суток после травмы, соотношение цитокинов и кортизола менялось в зависимости от типа течения посттравматического периода. Так, в группе с ПТС, начиная с 3 суток после травмы и до 30 суток, наблюдалось увеличение содержания цитокинов (в среднем на 60-80% от нормы) при нормальных значениях кортизола. Через год после травмы содержание IL-1β и кортизола было в пределах контрольных значений при сохранении высокого содержания IL-6 (в среднем в 2 раза выше нормы). У пострадавших из группы БП в те же сроки наблюдения изменение содержания цитокинов происходило при более высоких уровнях кортизола. Через год у этих пациентов наблюда-

лось снижение содержания как IL-1 $\beta$ , так и IL-6 до нормальных величин.

При сравнении содержания IL-1 $\beta$  и IL-1 $\alpha$  было отмечено, что в группе БП содержание IL-1 $\alpha$  значительно превышало содержание IL-1 $\beta$  в течение всего наблюдаемого периода, в том числе и через год после травмы, что соответствовало соотношению этих цитокинов в контрольной группе. У пострадавших с ПТС отмечалось обратное соотношение IL-1 $\beta$  и его антагониста. При расчете отношения показателей IL-1 $\beta$  / IL-1 $\alpha$  у каждого больного оказалось, что при его значении меньше единицы (0,1 – 0,3) наблюдалось регрессионное течение процесса, при значении больше единицы (1,1-2,6) существовал высокий риск развития прогрессивного типа течения посттравматического периода.

Таким образом, нарушение баланса цитокинов и кортизола в сыворотке крови у пострадавших с ЗЧМТ легкой степени тяжести в раннем периоде после травмы предопределяет прогрессивное течение посттравматического периода.

### **ЦИТОКИНОВАЯ ТЕРАПИЯ РЕКОМБИНАНТНЫМ ИНТЕРЛЕЙКИНОМ–2 У ДЕТЕЙ С СОЧЕТАННОЙ МИННО-ВЗРЫВНОЙ ТРАВМОЙ В УСЛОВИЯХ ТЕРРОРИСТИЧЕСКОГО АКТА**

**Павленко В.Л., Зотова В.В., Женило В.М., Бортникова О.Г.**

*Областная детская больница, РостГМУ, Ростов-на-Дону, Россия*

В современных условиях оказание своевременной специализированной помощи детям имеет чрезвычайно важное значение. Исследование цитокинового и иммунного статуса у детей с сочетанной травмой, находящихся в состоянии хронического стресса, является определяющим в разработке программы их лечения.

**Целью исследования** явилась оптимизация лечения пострадавших с сочетанной минно-взрывной травмой, основанного на изучении их цитокинового и иммунного статуса.

Под нашим наблюдением находилось 8 детей в возрасте от 7 до 15 лет, получивших минно-взрывную травму. Все дети в течение 3 дней до ранения находились в состоянии хронического стресса. Контрольную группу составили 10 практически здоровых детей. Цитокиновый статус определяли методом Fast Immune. Показатели клеточного иммунитета – методом проточной цитометрии с помощью моноклональных антител фирмы Becton Dickinson.

При исследовании спонтанной и индуцированной экспрессии про-(TNF $\alpha$ , IL-1) и противовоспалительных (IL-2, IL-4) цитокинов, молекулы адгезии ICAM-1 (CD54) и IFN $\gamma$  было установлено резкое снижение экспрессии рецепторов исследуемых цитокинов. При изучении показателей клеточного иммунитета зарегистрировано значительное снижение показателей Т-клеточного иммунитета (CD3 $^+$ , CD4 $^+$ , Th1, Th2). Количество CD8 $^+$  и CD16 $^+$  лимфоцитов не претерпело достоверных изменений. Следует отметить увеличение числа CD19 $^+$  клеток и активированных HLA-DR $^+$  лимфоцитов. У больных отмечалась гипогаммаглобулинемия и снижение содержания ЦИК. Фагоцитарная активность нейтрофилов оказалась сниженной в два раза по сравнению с контролем.

В связи с резким угнетением показателей цитокинового и иммунного статуса, в комплексную программу ле-

чения больных с сочетанной травмой был включен рекомбинантный IL-2 (Ронколейкин). После первой инъекции Ронколейкина (в возрастной дозировке) у больных отмечалось усиление экспрессии молекулы межклеточного взаимодействия ICAM-1. Причем, CD54 $^+$  коэкспрессировали преимущественно лимфоциты (CD3 $^+$ CD54 $^+$  – 19%; CD14 $^+$ CD54 $^+$  – 7,6%). Отмечено увеличение числа активированных лимфоцитов.

После проведения полного курса лечения Ронколейкином (три инъекции) у больных отмечалось увеличение индуцированной экспрессии TNF $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-4, IFN $\gamma$ , хотя экспрессия рецепторов исследуемых цитокинов не достигла показателей здоровых детей. При исследовании иммунного статуса также отмечена положительная динамика (увеличение числа CD3 $^+$ , CD4 $^+$ , Th1, Th2 лимфоцитов, снижение числа CD19 $^+$  и HLA-DR $^+$  клеток).

Таким образом, у больных сочетанной травмой, находящихся в состоянии хронического стресса, отмечается резкое угнетение экспрессии цитокинов и показателей Т-клеточного иммунитета. Введение Ронколейкина в комплексную программу лечения способствует восстановлению иммунного и цитокинового статуса и профилактирует развитие вторичных осложнений.

### **ВОЗМОЖНОСТЬ ДОПРИВИВОЧНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ ТИМОГЕН ДЕТЕЙ ГРУППЫ РИСКА**

**Петленко С.В., Начарова Е.П., Харит С.М.\***

*Военно-медицинская академия, НИИ детских инфекций\*, Санкт-Петербург, Россия*

Вакцинация детей группы риска представляет серьезную проблему. Нарушения в иммунной системе этой категории лиц препятствуют формированию у них полноценного поствакцинального иммунного ответа. Высокая смертность от инфекционных заболеваний заставляет по-новому взглянуть на тактику их вакцинации.

**Целью исследования** было изучение состояния иммунной системы, а также возможные пути коррекции выявленных нарушений у детей группы риска перед плановой коревой вакцинацией с целью повышения ее эффективности и безопасности.

Под нашим наблюдением находилось 35 детей, подлежащих плановой коревой вакцинации и по наличию соматической патологии отнесенных к группе риска развития иммунологической недостаточности. Подтвержденный диагноз ВИЧ-инфекции имели 6 детей. 16 обследованных имели контакт по ВИЧ и HSV-инфекции. Поливалентной аллергией страдали 4 ребенка, различные формы неврологической патологии были у 3 детей, а 6 детей отнесены к категории часто длительно болеющих. Спектр иммунологических исследований включал определение субпопуляционной структуры иммунокомпетентных клеток, оценку их функциональной активности, состояние гуморального иммунитета и факторов неспецифической защиты.

Исследование исходного состояния иммунитета детей группы риска выявило снижение содержания лимфоцитов CD3 $^+$ , нарушение соотношения регуляторных клонов (CD4 $^+$ /CD8 $^+$ ), повышение количества клеток с фенотипами CD25 и CD56, пониженную функциональную активность Т-системы, а также гипои иммуноглобулинемию А и G. Выявленные изменения соответствовали комби-

формами хронической патологии. Использование «Тимогена» безопасно у детей с неврологической патологией, поливалентной аллергией, детей, рожденных от матерей инфицированных ВИЧ и HCV, а также у детей с подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекции. Применение иммуномодулятора «Тимоген» для проведения допрививочной иммунокоррекции позволит повысить эффективность и безопасность иммунопрофилактики с использованием живых вакцин у детей групп риска.

### ИММУНОКОРРИГИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ УФОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА В ПЕРИОД ОСТРОЙ ОЖОГОВОЙ ТОКСЕМИИ

Расулов Б.Х., Рискиев Б.Д., \*Мусаходжаева Д.А.

Ташкентский медицинский институт МЗ РУз;

\*Институт иммунологии АН РУз,

Ташкент, Узбекистан

Ожоги – один из широко распространенных видов травматизма. Общая летальность у обожженных в странах Азии и Африки составляет от 18 до 26%, при этом наиболее частой причиной смерти обожженных являются инфекционные осложнения. Термическая травма на фоне сахарного диабета (СД) относится к категории наиболее тяжелых. Больные СД в значительно большей степени подвержены различным инфекциям. Несмотря на достигнутые успехи в области комбустиологии, лечение этих пострадавших представляет значительные трудности. Острая ожоговая токсемия характеризуется появлением в крови: медиаторов повреждения и воспаления, молекул средней массы, циркулирующих иммунных комплексов. В связи с многофакторностью ожоговой токсемии все большее применение находят экстракорпоральные методы детоксикации (УФОК) в сочетании с общепринятой терапией.

**Целью работы** явилось изучение фенотипических особенностей иммунокомпетентных клеток периферической крови у ожоговых больных на фоне СД до и после лечения с включением УФОК. Было обследовано 36 больных в возрасте от 19 до 47 лет. Контрольную группу составили 20 больных, получавших только общепринятую терапию. Иммунологические исследования проводили с использованием моноклональных антител серии LT (ЗАО «Сорбент-сервис», Москва). Определяли количественное содержание популяций CD3<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов и уровень сывороточных иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM) и содержание ЦИК.

Было выявлено, что у ожоговых больных на фоне СД наблюдается снижение некоторых показателей иммунной системы, в частности, количество иммунорегуляторных субпопуляций – CD8<sup>+</sup> клеток в 1,2 раза и CD4<sup>+</sup> клеток в 1,5 раза. Уровень ЦИК в крови был повышенным. В результате комплексного лечения с применением УФОК наблюдалось увеличение числа клеток, экспрессирующих маркеры CD3, CD4, CD8 и снижение количества CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов по сравнению с данными группы, получавших только традиционное лечение. Достоверно повысился уровень IgG, IgA и снизилась концентрация ЦИК. Снизилось количество В-лимфоцитов с CD20 рецептором. Обнаруженное стимулирующее влияние УФОК способствует более быстрому купированию основных клинических проявлений ожоговой токсемии и восстановлению большей части изученных параметров иммунной системы.

### ЦИТОКИНОВЫЕ РЕАКЦИИ В ПРОЦЕССЕ ХРОНИЗАЦИИ ОСТРОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В

Родина Д.В.

НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,  
Красноярск, Россия

В настоящее время уже не вызывает сомнений ключевая роль иммунной системы в развитии хронических инфекционных заболеваний. Так, именно с увеличением числа людей с функциональной недостаточностью иммунокомпетентных клеток связывают тенденцию роста хронизации таких инфекционных заболеваний, как вирусные гепатиты.

**Целью** нашего исследования явилось изучение особенностей спонтанной и индуцированной продукции фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) и  $\gamma$ -интерферона (IFN $\gamma$ ) у HBe-положительных и HBe-негативных больных острым вирусным гепатитом В в желтушный период и в период реконвалесценции. Обследовано 78 больных, диагноз устанавливался с помощью стандартных клинико-биохимических методов и верифицировался обнаружением специфических маркеров HB-вирусной инфекции – HBsAg, HBeAg, вирусной ДНК. Спонтанная и индуцированная продукция IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  оценивались иммуноферментным методом после *in vitro* инкубации цельной крови с индуктором синтеза цитокинов фитогемагглютинином (ФГА) и рекомбинантным HBsAg в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 24 часов. Исследование проводилось в три этапа. На первом этапе были обследованы пациенты инфекционного стационара и затем эти же пациенты были обследованы дважды с трехмесячным интервалом в период реконвалесценции.

В острый период вирусного гепатита В мы обнаружили наличие спонтанной продукции цитокинов *in vitro*, что может свидетельствовать о преактивации клеток иммунной системы антигеном *in vitro*. Так, инкубация с HBsAg у больных в острый период не приводит к стимуляции продукции IFN $\gamma$  и лишь незначительно повышает продукцию TNF $\alpha$  (на 93%). Такой ответ мононуклеаров на стимуляцию вирусным антигеном вероятно объясняется тем, что в острый период у всех наблюдаемых больных в крови определяется «собственный» HBsAg вируса, вызвавшего заболевание и дополнительная стимуляция неэффективна. Инкубация с ФГА повышает продукцию IFN $\gamma$  на 202%, а TNF $\alpha$  на 337%. При обследовании больных через три месяца установлено, что спонтанная продукция IFN $\gamma$  составила 47 пг/мл, TNF $\alpha$  248,4 пг/мл. Инкубация с ФГА повысила продукцию IFN $\gamma$  до 1531 пг/мл, то есть на 3157% (более чем в 30 раз), а TNF $\alpha$  до 812 пг/мл (на 227%). Инкубация с рекомбинантным HBsAg повысила продукцию IFN $\gamma$  до 63 пг/мл – на 34%, TNF $\alpha$  до 299,3 пг/мл (на 21%). Через 6 месяцев спонтанная продукция цитокинов у реконвалесцентов составила: IFN $\gamma$  32 пг/мл, TNF $\alpha$  185,9 пг/мл. Инкубация с ФГА повышала продукцию IFN $\gamma$  до 381 пг/мл – на 1090%, инкубация с HBsAg – до 40 пг/мл (на 25%). Продукция TNF $\alpha$  возростала при инкубации с ФГА до 496,3 пг/мл – на 167%, а с HBsAg – до 234,5 пг/мл (на 26%). У большинства наблюдаемых нами больных через три месяца произошла полная элиминация вируса гепатита В. Этот период характеризуется формированием специфического противовирусного клеточного и гуморального иммунитета, так что высокий уровень ответа лимфоцитов и моноцитов на стимуляцию отражает напряжение иммунной системы в процессе элими-

нации вирусного агента, и вероятно, является адекватной физиологической реакцией.

У девяти больных (12%) через три месяца от начала заболевания в крови мы определяли HBsAg и вирусную ДНК. У этих больных спонтанная продукция IFN $\gamma$  составила 37,5 пг/мл, стимулированная ФГА – 2154 пг/мл, а стимулированная HBsAg – 67,5 пг/мл. Спонтанная продукция TNF $\alpha$  у больных с персистенцией HBV-инфекции через три месяца от начала заболевания составляла 404,4 пг/мл, стимулированная ФГА – 457,4 пг/мл, а стимулированная HBsAg – 390,3 пг/мл. У тех больных, у которых произошла элиминация вирусного агента, спонтанная продукция TNF $\alpha$  составила 166,1 пг/мл, индуцированная ФГА – 929,4 пг/мл, индуцированный HBsAg – 259,0 пг/мл.

Таким образом, можно сделать вывод, что наибольшие различия между HBsAg позитивными и HBsAg негативными больными заключаются в способности моноцитов периферической крови синтезировать TNF $\alpha$ . Можно предположить, что поздняя элиминация вируса, вероятно может быть связана с патологическими изменениями в системе моноцитов- макрофагов периферической крови.

### **ПРОДУКЦИЯ ИЛ-3 МОНОНУКЛЕАРАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫХ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ**

**Розанова О.Е.**

*ГУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия*

**Введение.** Апластическая анемия (АА) является одним из самых тяжелых заболеваний системы крови, характеризуется выраженным угнетением эритро-, тромбо-, гранулопоэза и, как следствие, гипоклеточностью костного мозга и панцитопенией в периферической крови. Среди основных концепций развития депрессии кроветворения при данном заболевании, наряду с поражением стволовой клетки и дефектностью гемопоэтического микроокружения, важное место занимает гипотеза о том, что повреждение костного мозга может вызываться и поддерживаться иммунологическими механизмами. Установлено, что клетки иммунной системы способны продуцировать многие цитокины, являющиеся гемопоэтическими факторами и оказывающие влияние на все этапы кроветворения. Особое место среди них занимает ИЛ-3: во-первых, основным его продуцентом являются активированные Т-лимфоциты, во-вторых, ИЛ-3 является фактором, известным как регулятор гемопоэза на уровне стволовых и наиболее ранних предшественников кроветворных клеток. Под влиянием ИЛ-3 образуются колонии гемопоэтических клеток практически всех типов, которые производит костный мозг, в силу чего данный цитокин и получил название мультиколониестимулирующего фактора. С недостаточным синтезом именно этого цитокина в ряде случаев связывают аплазию костного мозга при АА. Учитывая это обстоятельство, целью настоящей работы явилось изучение способности клеток иммунной системы больных АА к продукции мультиколониестимулирующего фактора ИЛ-3.

**Методы исследования.** Объектом исследования служили мононуклеарные клетки периферической крови и костного мозга 36 больных тяжелой АА. Продукцию ИЛ-3 исследовали с помощью стандартного метода ИФА и ди-

агностикумов фирмы «BioSource» (США) в супернатантах мононуклеарных клеток периферической крови и костного мозга ( $2 \times 10^6$  кл/мл) после их 24-часового культивирования при 37°C без добавления стимуляторов (спонтанная) и в присутствии ФГА (индуцированная продукция).

**Результаты исследования.** Спонтанная продукция ИЛ-3 клетками периферической крови больных АА в целом, почти не отличалась от показателей нормы (1,0 пг/мл), а индуцированная продукция данного цитокина даже имела тенденцию к повышению, что нашло отражение в более высокой величине индекса стимуляции (52,1 у больных против 46,3 у здоровых). При этом спонтанная продукция ИЛ-3 клетками костного мозга больных АА хотя и была в 1,5 раза снижена по сравнению с нормальными показателями (1,25 пг/мл), однако эти изменения не являлись достоверными ( $p > 0,05$ ). Индуцированная продукция ИЛ-3 мононуклеарами костного мозга больных также не отличалась от показателей нормы и составила 78,1 пг/мл.

**Заключение.** Таким образом, анализ спонтанной продукции ИЛ-3 мононуклеарами периферической крови и костного мозга больных АА свидетельствует о том, что клетки иммунной системы при данном заболевании синтезируют вполне сопоставимое с нормой количество цитокина, а сохранная способность к его стимулированной продукции, выявленная и в периферической крови, и в костном мозге, свидетельствует о достаточно высоком реактогенном потенциале клеток больных в отношении ИЛ-3. Полученные данные позволяют считать, что депрессия кроветворения при АА не связана с недостаточным синтезом мультиколониестимулирующего фактора – ИЛ-3, а обусловлена, вероятно, другими причинами.

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ НОРМЫ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ В ПЛАЗМЕ И СЫВОРОТКЕ ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ КРОВИ НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ И АЛТАЙСКОГО КРАЯ**

**Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А., Тимофеева Н.В., Рукавишников М.Ю.**

*ЗАО «Вектор-Бест», Кольцово, Новосибирская обл., Россия*

**Введение.** Анализ литературных данных показал, что определяемое содержание цитокинов у практически здоровых людей, зависит, как от используемых наборов (разные фирмы-производители), так и от региона проживания доноров.

**Цель.** Определение уровня содержания цитокинов в сыворотках и плазме практически здоровых доноров крови Новосибирской области и Алтайского края (СПК г.Рубцовска).

**Материалы и методы.** Для определения нормы по содержанию цитокинов в сыворотках и плазме по Новосибирской области и Алтайскому краю нами были исследованы случайные выборки от 80 до 400 образцов плазмы и сыворотки практически здоровых доноров крови, представителей различных социальных групп в возрасте от 18 до 60 лет с отсутствием клинических проявлений грубой соматической патологии и отсутствием HBsAg, антител к ВИЧ, гепатитам В и С. Определение концентраций цитокинов проводили с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) на основе «sandwich» – метода твердофазного иммуноферментного анализа.

ТАБЛИЦА. КОЛИЧЕСТВО ОБРАЗЦОВ, ПРЕВЫШАЮЩИХ ПОРоговые значения концентраций цитокинов в зависимости от региона

	IL-4			IFN $\gamma$		
	к-во образцов	>20 пг/мл*, %	>50 пг/мл*, %	к-во образцов	>25 пг/мл*, %	>50 пг/мл*, %
Рубцовск	1376	4	1	752	7	4
Новосибирск	203	9	3	267	9	4
	TNF $\alpha$			IFN $\gamma$		
	к-во образцов	>2,5 пг/мл*, %	>10 пг/мл*, %	к-во образцов	>30 пг/мл*, %	>100 пг/мл*, %
Рубцовск	1630	12	2	168	72	40
Новосибирск	284	3	1	223	5	1
	IFN $\alpha$			антитела к IFN $\alpha$		
	к-во образцов	> 2,5 пг/мл*, %	>10 пг/мл*, %	к-во образцов	>30 пг/мл*, %	>100 пг/мл*, %
Рубцовск	289	5	2	256	5	1
Новосибирск	212	25	16	197	1	0
	IL-1PA					
	к-во образцов	>1000 пг/мл*, %	>2000 пг/мл*, %			
Рубцовск	350	10	4			
Новосибирск	220	10	10			

\*-% сывороток от общего количества образцов, в которых содержание данного цитокина превышает указанное значение.

- фактора некроза опухоли – альфа (чувствительность – 2 пг/мл, 0-250 пг/мл);
- гамма – интерферона (чувствительность – 5 пг/мл, 0-2000 пг/мл);
- интерлейкина-4 (чувствительность – 2 пг/мл, 0-400 пг/мл);
- интерлейкина-8 (чувствительность – 2 пг/мл, 0-250 пг/мл);
- рецепторного антагониста интерлейкина-1 (чувствительность – 20 пг/мл, 0-2500 пг/мл);
- альфа – интерферона (чувствительность – 10 пг/мл, 0-1000 пг/мл);
- аутоиммунных антител к интерферону-альфа (чувствительность – 2 нг/мл, 0-500 нг/мл)

Определение антител к различным бактериальным, грибковым или паразитарным агентам проводили с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

**Результаты.** В таблице представлены результаты исследования уровня цитокинов в сыворотках и плазме доноров СПК г. Новосибирска и Рубцовска. Для определения нормы по содержанию IL-8 были исследованы 223 образца сыворотки и плазмы доноров крови г. Новосибирска. Диапазон концентраций IL-8 составил 0 – 106 пг/мл, среднее – 2 пг/мл, в 95% образцов концентрация этого интерлейкина не превысила 30 пг/мл. Абсолютно другую картину распределения значений концентраций IL-8 наблюдали для Алтайского края. Диапазон концентраций IL-8 составил 0 – 353 пг/мл, среднее – 143 пг/мл. Как выяснилось, во всех образцах с содержанием IL-8 выше 30 пг/мл обнаружены антитела к различным бактериальным, грибковым или паразитарным агентам, таким как: *Toxoplasma gondii*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida*, *Aspergillus*, *Opisthorchis*

*felineus*, *Lambliа*, *Echinococcus granulosus*, *Toxocara canis*, *Helicobacter pylori*. Необходимо отметить, что у большинства зараженных доноров обнаружены сочетанные инвазии.

По остальным цитокинам различия в выборках по регионам меньше, чем сезонные колебания (повышенные значения для интерферонов и IL-4 в зимний и весенний периоды).

**Заключение.** На основании полученных данных и с учетом чувствительности наборов для обследованных регионов можно установить следующие нормы содержания цитокинов в плазме и сыворотке практически здоровых доноров крови: IL-4 – 0-20 пг/мл, IFN $\gamma$  0-25 пг/мл, TNF $\alpha$  – 0-2,5 пг/мл, IL-8 – 0-30 пг/мл, IFN $\alpha$  – 0-20 пг/мл, IL-1PA – 0-1000 пг/мл, антитела к IFN $\alpha$  – 15 нг/мл.

### ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

**Рябов В.В., Сулова Т.Е., Марков В.А.**

ГУ НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН, г. Томск, Россия

Сердечная недостаточность является одной из актуальных проблем в современной кардиологии. И, несмотря на очевидные достижения в понимании патогенеза и лечения этого состояния, появляется все больше фактов, свидетельствующих о неполной состоятельности существующих патофизиологических гипотез прогрессирования сердечной недостаточности.

Ремоделирование сердца после инфаркта миокарда – морфологический субстрат сердечной недостаточности – является общей компенсаторно-приспособительной ре-

ТАБЛИЦА. ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Сроки ОИМ	1-е сут.	3-и сут.	7-е сут.	14-е сут.	21-е сут.
TNF $\alpha$	345,0 (25,2; 429,4)	166,8 (20,0; 451,0)	109,8 (19,4; 441,0)	71,8 (4,6; 224,0)	82,5 (9,1; 210,0)
IL-1 $\beta$	438,0 (4,8; 1270)	414,8 (5,7; 234,1)	228,4 (45,8; 556,6)	181,7 (6,5; 242,8)	337,0 (6,6; 810,5)

акцией в ответ на повреждение миокарда, направленной на поддержание основной функции левого желудочка – насосной. Вместе с тем, значение иммунной системы в этой компенсаторно-приспособительной реакции не ясно. Однако, возможно, что именно разнообразие степени выраженности реакций иммунной системы в ответ на деструктивные изменения сердца обуславливает неполную состоятельность нейрогуморальной теории.

**Цель исследования:** оценить динамику содержания провоспалительных цитокинов интерлейкина 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) и фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) у больных острым инфарктом миокарда, а также определить связь с параметрами ремоделирования левого желудочка.

**Материал и методы.** В исследование включено 44 больных с острым передним трансмуральным инфарктом миокарда (ОИМ), средний возраст 58,2 $\pm$ 13,7 лет. Всем больным при поступлении была выполнена эффективная экстренная реперфузионная терапия (стрептокиназа 1,5 млн Ед), среднее время реканализации инфарктсвязанной коронарной артерии составило 5,1 $\pm$ 2,0 ч. Оценивали клиническое течение ОИМ, выполняли эхокардиографию (ультразвуковая система Acuson 128 XP) в день поступления и на 21-е сутки болезни. Заборы крови осуществляли в день поступления, на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки ОИМ. Содержание в плазме крови IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  определяли иммуноферментным методом.

**Результаты.** Динамика содержания цитокинов (пг/мл) представлена в таблице.

У больных ОИМ максимальное содержание провоспалительных цитокинов наблюдается в 1-е сутки болезни, однако динамика их изменения была разной. В подострую стадию ОИМ содержание TNF $\alpha$  значительно снижается, в то время как изменение уровня IL-1 $\beta$  носит нелинейный характер – снижение к 14-ым суткам ОИМ и последующим его повышением на 3-й неделе болезни. Нами установлены корреляционные связи между содержанием IL-1 $\beta$  и частотой сердечных сокращений в 1-е сутки ОИМ (R=0,7, p<0,00001), наличием постинфарктной стенокардии и уровнем TNF $\alpha$  (R=0,5, p<0,001), величиной конечно-диастолического объема левого желудочка и содержанием TNF $\alpha$  (R=0,4, p=0,04).

Таким образом, полученные данные позволяют предположить возможность участия системы цитокинов в процессах ремоделирования левого желудочка.

## ИММУННЫЕ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ: НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ

Серебряная Н.Б.

МАПО, Санкт-Петербург, Россия

Вирусы группы герпеса – наиболее распространенные инфекционные агенты человека. Характерной чертой всех герпесвирусных инфекций является то, что вслед за начальной фазой инфекции устанавливается латентное носительство с потенциальной возможностью реактивации инфекции. При первичной инфекции вирус простого гер-

песа (HSV) инфицирует эпителиальные клетки кожи или слизистой, что приводит к формированию характерного везикулярного повреждения. Чувствительность к инфицированию HSV связывают и с активностью клеток врожденного иммунитета: интраэпителиальных  $\gamma$ Т-лимфоцитов и НК-клеток. Важная роль НК-клеток в контроле над герпесвирусами связана с наличием особого генного локуса (*Cmv1*), расположенного вблизи от локуса НК-клеточных рецепторов, и ответственного за прямое распознавание вирусного пептида. В жидкости герпетического пузырька очень высока концентрация интерферонов, которые секретируются плазматическими дендритными клетками (DC) в ответ на HSV инфекцию. DC модулируют активность клеток врожденного иммунитета – НК и NKT. В свою очередь NKT клетки создают условия для эффективного праймирования цитотоксических лимфоцитов дендритными клетками.

Формирующиеся в эпителии вирусные частицы инфицируют миелоидные, лимфоидные клетки и через локальные нервные окончания попадают в аксоны, а затем и ядра нейронов дорсальных ганглиев. Период репликации HSV в нейронах обычно короток, после чего, как правило, устанавливается латентная инфекция, которая сохраняется пожизненно. Исход литической инфекции в ганглии связан и ассоциирован по времени с инфильтрацией CD8 $^+$  Т-лимфоцитами. При этом нейроны начинают экспрессировать молекулы MHC 1 класса, что не является для них характерным. Контроль за инфекционным процессом в ганглии достигается за счет продукции значительного количества цитокинов (IFN $\gamma$ ).

После реактивации из латентной фазы инфекции вирусные частицы перемещаются по аксонам в эпителиальные клетки. Антитела и интерфероны I и II типов способны ингибировать передачу вирусных частиц от нейронов к кератиноцитам. Участок кожно-слизистого воспаления инфильтрируется НК-клетками и CD4 $^+$  Т-лимфоцитами. Последние обладают высокой цитотоксичностью и распознают белки вирусной оболочки в контексте молекул MHC II класса на кератиноцитах. Позднее основной популяцией клеток инфильтрата становятся CD8 $^+$  Т-лимфоциты. Цитотоксическая активность вирусспецифических лимфоцитов коррелирует с вирусным клиренсом. Приведенные данные свидетельствуют, что для успешного контроля над герпесвирусной инфекцией необходима эффективная работа всех звеньев естественно и адаптивного иммунитета.

Однако герпесвирусы обладают обширным набором свойств, помогающим им ускользать от иммунного ответа: (1) гликопротеиды HSV gB и gD имеют эпитопы, нейтрализующие антитела; (2) гликопротеид gC связывается с рецептором к комплементу, блокируя C1q, C3 и C5; (3) gE и gI формируют вирусный FcR, препятствующий антителозависимой цитотоксичности; (5) в инфицированных DC тормозится созревание и экспрессия костимуляторных молекул, вплоть до дегградации CD83; (6) HSV ингибирует экспрессию молекул MHC I и II класса; (7) описано несколько способов уклонения HSV от действия интерферонов I типа; (8) Т-лимфоциты, инфици-

рованные HSV, становятся объектом «братоубийства» со стороны HSV-специфичных CTL. Таким образом, развитие рецидивов заболевания связано с иммунной дисфункцией и в свою очередь создает условия для ее дальнейшего развития.

Для достижения контроля над инфекцией используются иммуномодулирующие препараты с противовирусной активностью. Концепция нового препарата «Алокин альфа» состоит в том, что иммунная система «примитивных» животных обладает цитокиноподобными пептидами (аллокинами), имеющими выраженное противовирусное действие и способными взаимодействовать с клетками человека. Аллокины способны восполнить относительную «эволюционную недостаточность» противовирусной резистентности, повысить противовирусную активность NK-клеток и продукцию IFN I и II типов. Активность Аллокина альфа направлена на усиление распознавания вирусных антигенов клетками-эффекторами системы естественного иммунитета, ответственными за элиминацию вируса. Высокая клиническая эффективность Аллокина альфа показана у 80-90% больных, которая проявляется в снижении тяжести и сроков рецидивов герпетической инфекции, а также значительным увеличением межрецидивного периода.

#### **КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭНДОГЕННЫХ УВЕИТОВ ЦИКЛОСПОРИНОМ**

**Слепова О.С., Катаргина Л.А., Быковская Г.Н., Старикова А.В., Кричевская Г.И.**

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

Активное внедрение в практику лечения аутоиммунных и неинфекционных увеитов циклоспорина А (ЦС) требует адекватного подхода к определению показаний для его назначения и контроля за лечением.

**Цель.** Определить иммунологические показания и противопоказания к назначению ЦС и рациональную тактику иммуномониторинга при лечении эндогенных увеитов.

**Материалы и методы.** Лечение ЦС проведено 12 детям и подросткам (возраст от 5 до 16 лет) с хроническими увеитами, резистентным к традиционной терапии (кортикостероиды, метотрексат, НПВС и др.). Давность увеита варьировала от 6 мес. до 3-х лет. ЦС-Гексал, или Сандимун, назначали в дозе 2,5 – 5 мг/кг веса в сутки. Длительность лечения составила от 3 до 14 мес. Иммунологическое обследование включало: оценку активности инфекционного процесса и состояние противои инфекционного (клеточного и гуморального) иммунитета по отношению к возбудителям офтальмотропных инфекций (герпес, цитомегаловирус, туберкулез, токсоплазмоз); исследование провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ), сывороточных иммуноглобулинов, пролиферативной активности Т-лимфоцитов (РБТЛ с ФГА), аутоиммунных реакций к антигенам тканей глаза.

**Результаты.** Лечение было эффективным у 10 из 12 больных. В 1 случае препарат был отменен в связи с индивидуальной непереносимостью (возрастание уровня креатинина в крови), и у 1 пациента отмечено обострение увеита с появлением герпетических высыпаний на губах, в связи с чем препарат был отменен.

Ни у кого из больных мы не наблюдали снижения пролиферативной активности Т-клеток или значительного

ослабления специфического клеточного или гуморального иммунитета к возбудителям хронических инфекций. Признаков активизации вирусов группы герпеса (ВПГ I, II типа, ЦМВ), судя по стабильному отсутствию антител к сверххранним вирусным антигенам, как до назначения, так и на фоне ЦС-терапии, не наблюдалось.

На фоне лечения ЦС, спустя 1-3 мес. после его назначения, отмечалось явное снижение или полное подавление продукции провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IL-6, а также IFN $\gamma$ . Через 4-6 мес. они фактически не выявлялись, в том числе, и в случае кратковременного снижения дозы препарата (1 большой) или спустя 3 мес. после его отмены (1 большой).

ЦС вызывал снижение в сыворотке крови уровней IgG и, особенно, – IgA, которое у некоторых больных сохранялось и после отмены препарата (3 мес. – срок наблюдения). Содержание IgM на фоне ЦС терапии, напротив, повышалось, особенно у больных с исходно высокими уровнями IgM. Возможно, с этим было связано и периодическое усиление гуморального иммунного ответа IgM-класса на S-антиген сетчатки, наблюдавшееся у отдельных больных как до, так и на фоне ЦС. У большинства пациентов, особенно с явной положительной динамикой, аутоантитела к антигенам глаза (сетчатки, хрусталика, роговицы) спустя месяц и более (8 мес. – срок наблюдения) в сыворотке не обнаруживались, а в слезе выявлялись редко и в низких титрах. Существенно, что в случае отмены ЦС у больных, сенсибилизированных S-антигеном сетчатки или хрусталиком, отмечалось усиление гуморального иммунного ответа на эти аутоантитела (IgM+IgG), что коррелировало с обострением увеита (2 человека).

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных с неинфекционными увеитами применение ЦС (в указанных дозах) позволяет купировать воспалительный процесс. Положительный клинический эффект наблюдался начиная с 3-4-х недель до 2,5-3-х мес. после назначения препарата и закреплялся при последующем применении в течение 8-15 мес. (срок наблюдения). Клинический эффект коррелировал с ослаблением продукции провоспалительных цитокинов и подавлением системных и местных аутоиммунных реакций при сохранении нормальной пролиферативной активности Т-клеток и противоинфекционного иммунитета к возбудителям офтальмотропных инфекций. Снижение дозы ЦС и, особенно, бесконтрольная отмена препарата сопровождалась усугублением аутоиммунных реакций и прогрессированием заболевания.

#### **АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА МИЕЛОПИД И ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

**Снимщикова И.А., Анцупова В.С., Ререкин И.А., Лялюхина Е.И., Пехото О.К., Колчева О.В.**

*Медицинский институт Орловского государственного университета, Орел, Россия*

В последние годы показана высокая клиническая эффективность локального применения препаратов иммунорегуляторных пептидов при лечении различных бактериальных инфекций, в том числе при острых и хронических заболеваниях гениталий. Проведенными нами ранее экспериментальными исследованиями установлено, что препарат миелопид (комплекс свиных пептидов костномозгового происхождения) обладает антибактериальным дей-

ствием в отношении *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, при этом не было выявлено достоверных различий при использовании миелопида в дозах 1500 и 3000 мкг/мл. Основываясь на полученных данных, а также клинической эффективности применения топической иммунокоррекции (ТИ) препаратом миелопид в комплексном лечении хронических сальпингофоритов, вагинозов и др., нами проведен сравнительный анализ показателей исхода указанных заболеваний на фоне ТИ в зависимости от характера бактериальной микрофлоры, вызвавшей патологический процесс. Так, у больных острыми воспалительными заболеваниями гениталий установлена следующая закономерность: при выделении из цервикального канала или брюшной полости кокковой флоры (стафилококка, стрептококка) быстрое купирование клинических признаков заболевания на фоне ТИ и сокращение сроков лечения на 4-5 дней наблюдалось у 73% больных. При обнаружении некокковой флоры (синегнойная палочка, ее ассоциации с грамотрицательными возбудителями) клиническое выздоровление, то есть исчезновение болей, уменьшение размеров придатков матки и их болезненности при бимануальном исследовании, изменение характера патологических выделений из половых путей до слизистых белей зарегистрировано у 39,5% пациентов. Кроме того, результатами проведенных исследований установлено, что применение топической иммунокоррекции препаратом миелопид при хронических сальпингофоритах, осложненных кандидозным вагинозом, в режиме монотерапии позволяет снизить стоимость лечения одного больного в 1,55 раза по сравнению с традиционной терапией.

Таким образом, полученные данные об антибактериальной активности препарата подтверждают высокой клинической и фармакоэкономической эффективностью топической иммунокоррекции с использованием миелопида, позволяющей сократить сроки лечения больных с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий и снизить стоимость лечения.

#### **ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ К *G. LAMBLIA* ПРИ МИКСТИНФЕКЦИИ**

**Снопков В.Н., Бейсембаева Г.А., Снопкова В.А., Локтионов В.Р., Алмагамбетов К.Х.**

*Карагандинская государственная медицинская академия, Областная клиническая больница, Областной центр крови, Республиканская коллекция микроорганизмов МОН РК, Астана, Казахстан*

**Введение.** Вирусно – бактериальные инфекции и паразитарные инвазии являются одним из этиопатогенетических звеньев аллерго-, иммуно- и соматической патологии.

**Целью** проводимого исследования являлось определение вариантов иммунного ответа при кожной и респираторной формах аллергопатологии, ВИДС (с рецидивирующими воспалительными процессами) у 224 пациентов, инфицированных в 100% герпесвирусами (ВПГ, ЦМВ и ВЭБ), *S.aureus* (в 45,0±6,4%), *G. Lamblia* с измененным микробиоценозом слизистых глотки и кишечника (в 100%) и повышение эффективности лечения за счет комплексного подхода, направленного на повышение их

иммунологической реактивности. Изученные показатели функционально – метаболической активности нейтрофилов в НСТ –тесте у больных с аллерго – и иммунопатологией снижены (ИС – 0,25±0,01; 0,28±0,02, в контроле 0,81±0,02) и коррелируют с показателями местного иммунитета гастроинтестинальной системы (sIgA, лизоцима), дисбиотическими изменениями в кишечнике. Анализ результатов серологического обследования с *G. Lamblia* в ИФА с использованием тест – систем «Вектор – Бест» показал серопозитивность в 94,7±2,4%, при этом слабоположительный результат по К – позитивности был выявлен у 64 (28,6±2,1%), положительный у 84 (37,5±2,5%), резко положительный у 64 (28,6±2,1%).

Этиотропная антипротозойная, антибактериальная терапия проводилась у 100 пациентов на фоне индивидуализированной иммунокоррекции или у 20 детей (5-13 лет) только после восстановления иммунологической реактивности, которую мы осуществляли при помощи препаратов адсорбированного стафилококкового анатоксина, виферона, неовира, липоида, полиоксидония, кипферона, лохеина, кальция пантотената, вобэнзима с пробиотическими препаратами и лекарственными средствами на основе отечественных субстанций. Иммуномодуляторы назначали в комплексной терапии одновременно с противогрибковыми, противопротозойными или противовирусными средствами. При этом в роли иммунокорректора может выступать IFN $\gamma$ , отменяющий стимуляцию синтеза и продукции провоспалительных цитокинов энтерокитами под влиянием антигенов *G. Lamblia*.

**Результаты.** Такой алгоритм позволил получить положительный клинический и иммуно – микроэкологический эффект у 92,5% пациентов. Иммуномодуляторы можно применять в виде монотерапии при проведении иммунореабилитационных мероприятий, используя местные фитопрепараты.

#### **АНАЛИЗ СИНТЕЗА IL-1 $\beta$ И ЕГО РЕЦЕПТОРОВ НА СИСТЕМНОМ И ЛОКАЛЬНОМ УРОВНЯХ ПРИ НЕОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ**

**Сотникова Н.Ю., Манис С.С., Борзова Н.Ю., Кудряшова А.В.**

*ГУ «Ивановский НИИ материнства и детства им.В.Н.Городкова МЗ РФ», Иваново, Россия*

IL-1 $\beta$  является важнейшим цитокином, контролирующим процессы дифференцировки и функциональной активности многих клеток иммунной системы. Роль IL-1 $\beta$  при беременности велика, но особенно важной становится в момент родов. Кроме того, обладая выраженным дистантным действием, IL-1 $\beta$  способен осуществлять взаимосвязь различных систем организма, в связи с чем изучение его синтеза при беременности представляется особенно актуальным. Эффекты IL-1 $\beta$  реализуются через рецепторы 2-х типов. Известно, что IL-1RI участвует в трансдукции активационного сигнала, а IL-1RII предположительно, наоборот оказывает негативное регулирующее воздействие на синтез цитокина. Однако, несмотря на то, что эффект IL-1 $\beta$  связан с рецепцией, синтез рецепторов 1 и 2 типа для IL-1 $\beta$  при беременности изучен недостаточно. Целью работы было изучение системного и локального синтеза IL-1 $\beta$  и его рецепторов IL-1RI (CD121a), IL-1RII (CD121b) при неосложненном течении беременности. Исследование проводили методом RT-PCR в реальном

масштабе времени с использованием праймеров и зондов ООО «ГеноТехнология» (Москва) на приборе iCycler (BIO-RAD, USA). Сравнительный анализ содержания mRNA IL-1 $\beta$  и его рецепторов проводился в лизатах лимфоцитов и моноцитов периферической крови, лимфоцитов и макрофагов (ДО) плаценты. По нашим данным, синтез IL-1RI и IL-1RII периферическими моноцитами многократно превышал синтез рецепторов периферическими лимфоцитами. В децидуальной оболочке зрелой плаценты лимфоциты в большей степени синтезировали IL-1RI, а макрофаги – IL-1RII. При сравнении синтеза рецепторов в аналогичных клеточных популяциях крови и плаценты мы установили, что лимфоциты ДО в 3,5 раза сильнее синтезируют IL-1RI, чем лимфоциты крови, но достоверно слабее осуществляют синтез mRNA IL-1RII. По данным содержания mRNA макрофаги ДО не только менее интенсивно, чем моноциты крови осуществляют синтез самого IL-1 $\beta$ , но и его рецепторов 1 типа. Однако для них был характерен более высокий уровень mRNA IL-1RII, чем для моноцитов периферической крови. Известно, что IL-1RI обеспечивает трансдукцию сигнала, а IL-1RII – является рецептором-ловушкой, не обладающим сигнальной проводящей функцией. В связи с этим можно предположить, что в периферической крови во время беременности IL-1 $\beta$  является фактором противoinфекционной защиты, опосредуя свое действие в основном через активацию клеток макрофагального ряда. В то время как в ДО биологические эффекты IL-1 $\beta$  связаны, скорее всего, с активацией лимфоцитов и индукцией синтеза цитокинов, участвующих в родовом акте. Возможно, усиленный синтез mRNA IL-1RII макрофагами ДО в конце гестационного периода является фактором, ограничивающим чрезмерное развитие воспалительной реакции, которая может возникнуть во время родового акта. Дальнейший анализ соотношения синтеза IL-1 $\beta$  и его рецепторов различного типа позволит лучше понять роль этого цитокина при беременности.

Работа поддержана грантом Президента РФ НШ-2245.2003.4.

#### **ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ ПРИ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ФОРМАХ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ В ПРОЦЕССЕ ХИМИОТЕРАПИИ**

**Суркова Л.К., Шпаковская Н.С., Яковлева Л.Ф., Будник О.А.**

*НИИ пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Беларусь*

С целью оценки динамики цитокинов в сыворотке крови больных распространенными формами туберкулеза легких в процессе химиотерапии нами обследовано 37 больных (мужчин – 27, женщин – 10) в начале и через 2-2,5, 3-4 и 5-7 месяцев лечения. Из них было 24 больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) микобактерий туберкулеза (МБТ) к антибактериальным препаратам (I группа) и 13 больных с лекарственной чувствительностью (ЛЧ) МБТ (II группа). Среди больных МЛУ туберкулезом было 16 мужчин и 8 женщин в возрасте 50-59 лет. Инфильтративный туберкулез в фазе распада и обсеменения был у 14, фиброзно-кавернозный туберкулез (ФКТ) – у 8, диссеминированный – у 2 больных. В группе больных ЛЧ-туберкулезом легких мужчин было 10, женщин – 3. Инфильтративный туберкулез был у 10 человек, ФКТ – у 2, диссеминированный – у 1. В I группе больных в процессе лечения не отмечалась рентгенологическая динамика в 25% наблюдений, отрицательная динамика и прогрессирование было в 16,6% случаев, во II группе обследованных больных не отмечалось рентгенологической динамики в 38,5% случаев. Контрольную группу составили 22 здоровых доноров. Содержание IFN $\gamma$ , IL-4, TNF $\alpha$  и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) в сыворотке крови оценивали методом ИФА с помощью тест-систем ООО «Цитокин» (С.-Петербург).

В процессе химиотерапии больных туберкулезом с МЛУ МБТ содержание IFN $\gamma$  в 83,3% наблюдений было низким, а в группе с ЛЧ МБТ – в 100%. Индивидуальные колебания уровня IFN $\gamma$  в процессе лечения в группе с МЛУ носили разнонаправленный характер с небольшими изменениями: в сторону уменьшения – в 33,3%, в сторону увеличения – в 26,7%, практически без изменений – в 40,0%. Среднегрупповые значения IL-4 существенно не изменились в процессе химиотерапии в обеих группах больных, хотя и наблюдалась некоторая тенденция к снижению в группе с МЛУ МБТ и некоторое повышение в группе с ЛЧ МБТ. Различий достоверных в сравнении с группой здоровых не выявлено. Индивидуальные значения его колебались к 3-4 месяцам в пределах от 0,8 до 44,0 пг/мл в группе с МЛУ и от 12,5 до 20,0 пг/мл в группе с ЛЧ МБТ. В зависимости от клинико-рентгенологической динамики процесса изменений содержания IL-4 не отмечалось. Содержание TNF $\alpha$  в сыворотке крови в процессе химиотерапии практически у всех больных не изменялось, оставаясь несколько ниже, чем в референтной группе ( $p > 0,05$ ), различий в зависимости от лекарственной устойчивости МБТ не определялось. Однако, при индивидуальном анализе показателя увеличение его в процессе лечения отмечалось в 42,9% случаев, уменьшение – в 28,6%, без изменения – в 28,6%. В процессе химиотерапии больных туберкулезом легких уровень Г-КСФ оставался прежним и был значительно ниже, чем в группе здоровых доноров (достоверность не выявлена в связи с высоким колебанием показателя – от 75,0 до 745 пг/мл) в обеих группах.

Следовательно, традиционная химиотерапия больных распространенными формами туберкулеза легких с бактериовыделением не оказывала существенного влияния на восстановление баланса цитокинов крови: среднегрупповые значения TNF $\alpha$ , IL-4, IFN $\gamma$ , Г-КСФ оставались сниженными, незначительные увеличения секреции TNF $\alpha$  у 42,9% больных, IFN $\gamma$  – у 26,7%, Г-КСФ у 40% больных коррелировали с отсутствием или отрицательной рентгенологической динамикой процесса в легких.

С целью оценки уровня цитокинов в сыворотке крови больных распространенными формами туберкулеза легких исследовано содержание IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , гранулоцитарного колониестиму-

#### **ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ФОРМАМИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ МБТ**

**Суркова Л.К., Шпаковская Н.С., Яковлева Л.Ф., Белько А.Ф., Будник О.А.**

*НИИ пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Беларусь*

С целью оценки уровня цитокинов в сыворотке крови больных распространенными формами туберкулеза легких исследовано содержание IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , гранулоцитарного колониестиму-

лирующего фактора (Г-КСФ) методом ИФА с помощью тест-систем ООО «Цитокин» (С.-Петербург) у 59 больных туберкулезом легких и у 22 здоровых доноров (контрольная группа). Среди больных туберкулезом у 21 выделены микобактерий туберкулеза (МБТ) с лекарственной чувствительностью (ЛЧ) к АБП, у 5 – МБТ не выделялись, а у 33 человек был лекарственно-резистентный (ЛР) туберкулез, из них у 24 – множественный (МЛР), у 9 – полирезистентный. Среди больных ЛР туберкулезом было 21 мужчин и 12 женщин в возрасте 50-59 лет. Инфильтративный туберкулез в фазе распада и обсеменения был у 16, фиброзно-кавернозный туберкулез (ФКТ) – у 15, диссеминированный – у 2 больных. В группе больных ЛЧ-туберкулезом легких мужчин было 16 и женщин – 5. Инфильтративный туберкулез был у 17, ФКТ – у 2, диссеминированный – у 2 больных.

Содержание ИЛ-4 имело некоторую тенденцию к повышению в группе больных туберкулезом с МЛР МБТ и к снижению в группе с ЛЧ МБТ. Уровень ИFN $\gamma$  имел выраженную тенденцию к снижению во всех группах, однако больше в группе с МЛР МБТ (в среднем в 2 раза ниже, чем в референтной группе здоровых). Фактор некроза опухолей (TNF $\alpha$ ) был несколько снижен во всех группах больных туберкулезом в сравнении с группой здоровых лиц, хотя достоверных различий не выявлено. Отмечалось снижение Г-КСФ в сыворотке крови у всех больных туберкулезом; различий в зависимости от МЛР и ЛЧ МБТ не получено. Результаты определения ИЛ-8 показали значительное увеличение его у больных туберкулезом с ЛЧ МБТ в сравнении с группой больных с МЛР МБТ. Содержание ИЛ-1 $\alpha$  было повышено во всех группах больных в сравнении с контрольной группой более значительно при МЛР МБТ ( $p < 0,001$ ), чем при ЛЧ МБТ ( $p < 0,05$ ). В группах больных с МЛР отмечалось снижение ИЛ-1 $\beta$  ( $p < 0,05$  в сравнении со здоровыми лицами), а при ЛЧ МБТ – повышение, при этом среднее содержание его составило при МЛР туберкулезе  $6,96 \pm 2,5$  пг/мл, в группе с ЛЧ –  $73,3 \pm 27,2$  ( $p < 0,05$ ).

Следовательно, у больных туберкулезом легких с бактериовыделением, секреция TNF $\alpha$ , ИЛ-8, ИЛ-1 $\beta$  носила разнонаправленный характер: содержание TNF $\alpha$  имело тенденцию к снижению вне зависимости от ЛР МБТ, ИЛ-1 $\beta$  – к увеличению; в то же время выявлено достоверное различие уровня ИЛ-8. При МЛР МБТ он имел незначительную тенденцию к увеличению и достоверно был выше в группе с ЛЧ ( $p < 0,05$ ), превышая в несколько раз значения в группе здоровых лиц ( $p < 0,05$ ); продукция ИЛ-1 $\beta$  была угнетена при МЛР туберкулезе ( $p < 0,05$ ), а при ЛЧ МБТ превышала уровень секреции в референтной группе ( $p < 0,05$ ). Содержание лимфокина Th1 типа ИFN $\gamma$  имело выраженную тенденцию к снижению во всех группах больных туберкулезом, достоверных различий в зависимости от ЛР не выявлено, хотя значения его были ниже при МЛР. Уровень лимфокина Th2 типа (ИЛ-4) значительно не отличался в исследуемых группах, но был несколько выше при МЛР в отличие от ЛЧ туберкулеза. Уровень Г-КСФ был одинаково более низким у больных обеих групп в сравнении с группой здоровых лиц. Выявленные нарушения баланса цитокинов при туберкулезе легких являются одной из причин неспособности организма больного на полноценный запуск специфического иммунного ответа и репаративных процессов.

## ОБОСНОВАНИЕ ИММУНОКОРРЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ ИБС ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И ВНУТРИОРТАЛЬНОЙ КОНТРУЛЬСАЦИИ

**Сускова В.С., Емец В.И., Сусков С.И., Ермакова Л.П., Шальнев Б.И., Темнова В.В.**

*НИИ трансплантологии и искусственных органов  
МЗ РФ, Москва, Россия*

Расширение показаний к применению хирургического лечения ИБС у больных пожилого возраста в условиях искусственного кровообращения (ИК) и широкое использование механической поддержки кровообращения, прежде всего внутриаортальной контрпульсации (ВАКП), требует разработки систематизированного подхода к ведению этой категории больных на всех этапах до- и послеоперационного периода.

**Целью исследований** явилась оценка влияния ИК и ВАКП на состояние иммунной системы у больных ИБС пожилого возраста, для определения показаний к коррекции иммунных нарушений в послеоперационном периоде.

**Материал и методы.** Всего обследовано 124 больных ИБС в возрасте от 65 до 80 лет ( $M = 72 \pm 5$  лет). Среди них 36 больных (28%) после аорто-коронарного шунтирования (АКШ) без ВАКП и 26 больных (22%) после АКШ с подключением ВАКП. 35 больных (27%) ИБС ФК III-IV и 27 больных (23%) с компенсированной ИБС без АКШ служили группой сравнения. В ходе иммунологического обследования с использованием стандартных методов до и после операции в условиях ИК и ВАКП проведено 616 развернутых анализов иммунного статуса. Определяли, также, число Т-клеток с фенотипом CD38<sup>+</sup> (ранних мигрантов из тимуса), CD3<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup> («наивных» Т-лимфоцитов), клеток с корецепцией CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, характерных для недостаточности функции тимуса при старении.

**Результаты.** Собственный анализ показателей основных звеньев иммунной системы у лиц 65-80 лет с ремиссией сопутствующих заболеваний и ИБС подтвердил снижение числа и соотношения иммунорегуляторных субпопуляций тимусного происхождения, числа ранних мигрантов Т-лимфоцитов с фенотипом CD38<sup>+</sup> и снижение репаративных процессов в тимусе, появления Т-лимфоцитов с корецепторами CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, характерных для пожилого возраста, недостаточность цитотоксического потенциала и антибактериального/антитоксического потенциала нейтрофилов и усиление активационно-индуцированного апоптоза иммунокомпетентных клеток. При иммунологическом обследовании у больных ИБС старше 65 лет с нарастающей сердечной недостаточностью на этапе дооперационной подготовки выявлены нарушения, которые повторяют характер возрастного иммунодефицита, наблюдающегося у лиц пожилого возраста. Учитывая наличие возрастного иммунодефицита, характерной чертой которого является снижение репаративно-восстановительной функции тимуса, иммунокоррекция должна проводиться иммуномодуляторами заместительного типа, в первую очередь, препаратами гормонов тимуса. В раннем послеоперационном периоде у больных ИБС старшего возраста выявлена четкая зависимость восстановительного периода после АКШ в условиях ИК от исходного состояния иммунной системы. При исходном иммунодефиците к 10 ч. после ИК – критическому сроку лимфопении, отмечается двукратное снижение тимоцитов (CD3<sup>+</sup> и CD38<sup>+</sup> кл) при одновременном повышении готовности клеток к апоптозу (>CD95<sup>+</sup> кл), что может служить прогнозом медленного восстановления кле-

точного иммунитета и показанием к иммунокоррекции в ранние сроки после ИК. Подключение ВАКП при умеренно выраженной иммунной недостаточности у больных ИБС старше 60 лет, так же как и у больных ИБС среднего возраста уменьшает Т-клеточный иммунодефицит, восстанавливая миграцию Т-лимфоцитов из тимуса, иммунорегуляторный баланс, функцию моноцитарно-макрофагальной системы – ключевых субпопуляций в формировании антигенспецифического иммунного ответа. При выраженном исходном иммунодефиците и длительном ВАКП (8-22 сут) у больных старше 60 лет отмечается медленное восстановление клеточной и функциональной недостаточности Т-звена, в том числе связанного со старением, а также цитотоксического и антибактериального потенциала, требующее проведения иммунокоррекции.

**Выводы.** Выявленные различия иммунного реагирования у больных ИБС пожилого и среднего возраста после ИК и ВАКП определяют разный подход к иммунокоррекции с учетом возрастных различий и служат обоснованием для использования препаратов гормонов тимуса и цитокинов в качестве заместительной иммунотерапии у лиц пожилого возраста.

**ЗНАЧЕНИЕ ЦИТОКИНОВ – МЕДИАТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ АКТИВНОГО УВЕИТА**

**Теплинская Л.Е., Филочкина Н.С., Матовосова К.С.**

*МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва; Смоленская областная клиническая больница, Смоленск, Россия*

Исследования последних лет показали, что независимо от этиологии ведущее значение в патогенезе увеитов принадлежит иммунологическим факторам. Особая роль отводится медиаторам воспаления – цитокинам в системной циркуляции и месте внедрения возбудителя в регуляции воспалительного процесса. В связи с этим представляется важным изучение содержания и роли цитокинов сыворотки крови и слезной жидкости у больных увеитами.

**Цель** – изучение роли системного и локального цитокинового статуса в иммунопатогенезе активного увеита.

**Материал и методы.** Обследована сыворотка крови 83 и слезная жидкость 48 больных увеитами. Концентрации IgG, А, М определяли методом Манчини, IgE – твердофазным иммуноферментным методом. Цитокины IL-1β, TNFα, IL-4 определяли методом ИФА (Pro Con «Протеиновый контур», г. Санкт –Петербург).

**Результаты.** Изменения системного цитокинового статуса выражались гиперпродукцией цитокинов, регулирующих воспаление:

- провоспалительных – IL-1β, TNFα у 87,9% и 72,3% (p<0,0001, p<0,0001) больных соответственно;
- противовоспалительного IL-4 у 69,7% больных (p<0,001).

В слезе больного глаза установлена локальная гиперсекреция IL-1β в 97,9%, TNFα в 100% и IL-4 в 97,9%.

В парном (здоровом) глазу повышенные концентрации цитокинов отмечались также с высокой частотой, и средние уровни были выше контрольных, но достоверно ниже показателей больного глаза (p<0,001, p<0,001, p<0,01 соответственно), что говорит о синергизме иммунного ответа глаза, как парного органа.

Нами установлены прямые корреляционные связи между цитокинами TNFα и IL-4 и Ig классов А и Е. Так-

же зафиксированы корреляционные связи локального иммунного ответа с клинической симптоматикой увеитов, что свидетельствует об опосредованности провоспалительными цитокинами IL-1β и TNFα таких признаков воспалительной реакции, как болевой симптом и клеточная реакция в передней камере. Гиперпродукция IgM отражает клинические изменения в радужке. Связей между IL-4 и клиническими параметрами не обнаружено, что соответствует биологическим свойствам этого цитокина.

**Заключение.** Картина корреляционных связей позволяет говорить о задействованности и сложных взаимоотношениях гуморального и цитокинового звеньев системного и местного иммунитета, опосредующих воспалительную реакцию и клиническую симптоматику активного увеита.

**ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ОТВЕТ ЛИМФОЦИТОВ IN VITRO У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ ПРИ ДОБАВЛЕНИИ МП-3**

**Тетерева Е.А., Плаван В.В., Чумакова Е.А.**

*Ростовский государственный медицинский университет, НИИ клинической иммунологии, Ростов-на-Дону, Россия*

Эндогенные костномозговые медиаторы (миелопептиды) являются важными факторами регуляции иммунных реакций. В настоящее время выделено шесть индивидуальных миелопептидов (МП), каждый из которых характеризуется различным эффектом и механизмом действия (А.А. Михайлова, 2001 г). Так, МП-3 – пептид, стимулирующий активность макрофагов. В этой связи представляет интерес проанализировать действие МП-3 на иммунокомпетентные клетки, выделенные у часто болеющих детей (ЧБД).

**Целью работы** явилось исследование влияния МП-3 *in vitro* на пролиферативный ответ лимфоцитов периферической крови, индуцированный ФГА у ЧБД. Обследовано 10 человек, болеющих частыми ОРВИ (не менее 6 раз в год) в возрасте от 9 до 12 лет. Лимфоциты выделяли в градиенте фиколл-верографина. Оценку функциональной активности лимфоцитов осуществляли с помощью реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) с универсальным митогеном ФГА в субоптимальной концентрации (2,5 мкг/мл) и МП-3 (100 мкг) с расчетом индекса стимуляции (ИС).

**Результаты исследования** показали, что лимфоциты, выделенные у ЧБД, при добавлении *in vitro* МП-3 обладают повышенной пролиферативной активностью (ИС РБТЛ<sub>МП-3</sub> = 2,96±0,48). Применение МП-3 в присутствии субоптимальной концентрации ФГА *in vitro* оказывает стимулирующий эффект на бласттрансформацию лимфоцитов (ИС РБТЛ<sub>МП-3+ФГА</sub> = 82±26).

ТАБЛИЦА. ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ОТВЕТ ЛИМФОЦИТОВ IN VITRO У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ МП-3

Условия культивации	Включение [H3], тимидина, имп/мин
Спонтанная	212,75±49
Стимулированная МП-3	583,50±85,5
Стимулированная МП-3 ± ФГА (2,5 мкг/мл)	16897±3993
Стимулированная ФГА (2,5 мкг/мл)	10284±2695

Таким образом, МП-3 оказывает стимулирующий эффект на пролиферативный ответ лимфоцитов, выраженный в большей степени в присутствии ФГА в субоптимальной концентрации.

### ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКА

**Тимофеев И.В., Тимофеева Н.В.\*., Рябичева Т.Г.\*., Вараксин Н.А.\*., Неклюдов В.В., Перминова Н.Г.**

*\*ЗАО «Вектор-Бест», Кольцово, Новосибирская обл.; Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Россия*

По данным ВОЗ, злокачественные опухоли женской половой сферы составляют 24% всех опухолей у женщин, из них до 20% приходится на опухоли яичников. Увеличение заболеваемости и смертности от рака яичников наблюдается во многих странах, в частности в Сингапуре, Японии, Англии, Испании и России. Процент запущенных случаев рака яичника по статистике стран СНГ составляет 66-88%. Рост этой патологии в последнее десятилетие дает основание предполагать связь этого процесса с ухудшением экологии и, вероятно, с генетической предрасположенностью.

**Цель исследований** – сравнительная оценка цитокинового статуса больных раком яичника (III стадия с развитием мультирезистентности к проводимой химиотерапии), как исходного (спонтанная продукция цитокинов в сыворотке крови), так и после перорального применения иммуномодулирующих препаратов.

**Материалы и методы.** Для изучения цитокинового профиля использовали сыворотки крови больных и здоровых доноров, полученные по обычной методике, а также моноцитарную фракцию крови, выделенную из гепаринизированной крови в градиенте плотности фиколл-верографин (плотность 1,077) методом *Voium* (1968). В работе использовали иммуноферментные тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест» для определения фактора некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ), гамма- и альфа-интерферонов (IFN $\gamma$ , IFN $\alpha$ ), аутоиммунных антител к альфа-интерферону (а/альфа-IFN), рецепторного антагониста IL-1 (IL-1РА), IL-4 и IL-8. Эти системы обеспечивают количественное определение концентрации цитокинов в образцах сыворотки и биологических жидкостях в непрямом иммуноферментном анализе (сэндвич вариант). Тестирование образцов на содержание исследуемых цитокинов проводили в соответствии с инструкцией к набору.

**Результаты исследования** показали, что уровни сывороточного IL-4 (51,1 пг/мл); IL-8 (13,6 пг/мл) и IFN $\alpha$  (61,4 пг/мл) при данной патологии превышали таковые в сыворотках крови здоровых доноров (0–20 пг/мл, 0–10 пг/мл и 5–45 пг/мл, соответственно). Уровни сывороточного IFN $\gamma$  (0 пг/мл) и IL-1РА (591,3 пг/мл) не превышали уровня аналогичных значений здоровых доноров (0–25 пг/мл, 50–1000 пг/мл, соответственно). При этом следует отметить, что в сыворотке крови выявлено наличие ауто-антител к лейкоцитарному интерферону, и уровень TNF $\alpha$  был 0 пг/мл, т.е. на минимальном нормативном значении. После 10-дневного курса перорального применения (2 раза в день) пробиотического препарата Ветом-1.1 на основе штамма *B.subtilis*, в сыворотке крови больных наблюдали заметное снижение показателей IL-4 (до 1,7 пг/мл), IL-8 (до 0 пг/мл) и IFN $\alpha$  (до 7,5 пг/мл) до нормативных показателей. В тоже время концентрации TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  после

приема пробиотика оставались неизменными – 0 пг/мл. Немаловажно, что после приема данного иммуномодулирующего препарата в сыворотке крови пациентов с раком яичников резко возросло количество IL-1РА (1167 пг/мл), что превышало аналогичные показатели здоровых доноров (1000 пг/мл). Через 10 дней после приема препарата также отмечали снижение титров антител к IFN $\alpha$ . Характерно, что уровни TNF $\alpha$  в сыворотке крови здоровых доноров, принимающих этот препарат по аналогичной схеме, возрастали в 7–10 раз на 3–7 день исследований.

**В заключение** следует отметить, что цитокиновый профиль сыворотки крови является информативным показателем состояния иммунореактивности пациентов с раком яичника, и открывает возможности для целенаправленного применения специфических и неспецифических иммуномодуляторов с целью поддержания иммунного статуса пациентов и повышения качества жизни.

### ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ДЕТЕЙ

**Топтыгина А.П., Солдатенкова Н.А., Пухальский А.Л.\*., Алешкин В.А.**

*МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского МЗ РФ;*

*\*Медико-генетический научный центр РАМН, Москва, Россия*

Полионный иммуномодулятор полиоксидоний широко используется как высокоэффективный препарат для коррекции вторичных иммунодефицитов с нарушением макрофагального и Т-клеточного звена, а также в качестве неспецифического компонента некоторых ассоциированных вакцин (гриппол и ряда алерговакцин). Представляло интерес исследовать, как влияет совместное введение полиоксидония на вакцинацию живой вирусной вакциной приорикс. В исследовании приняли участие 50 детей в возрасте от 1 до 2 лет – 26 мальчиков и 24 девочки, впервые вакцинированных вакциной приорикс, содержащей живые вакцинные штаммы вирусов кори, краснухи и паротита. До вакцинации, через 1 и 4 недели после проводили забор крови из локтевой вены в количестве 5 мл. В сыворотке крови методом ИФА определяли количество интерферона гамма, интерлейкина (IL)-4 и IL-10 и фактора некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа), а также специфические IgM и IgG-антитела к трем компонентам вакцины и распределение специфических IgG-антител по субклассам. Контрольную группу составили 29 детей. Детям основной группы (21 чел) одновременно с вакциной вводили в/м 3 мг полиоксидония (возрастная доза). Работа была одобрена этической комиссией МНИ-ИЭМ им. Г.Н. Габричевского, родители подписывали информированное согласие на участие детей в программе исследований. Было показано, что в результате вакцинации 14 детей контрольной группы (48,3%) ответили сдвигом цитокинового профиля в сторону Th1, тогда как 15 детей (51,7%) – в сторону Th2. В то же время, в основной группе только 7 (33,3%) детей ответили сдвигом в сторону Th1 и 14 (66,7%) – в сторону Th2. При исследовании баланса про- и противовоспалительных цитокинов (ФНО-альфа /IL-10) было обнаружено, что 21 из 29 детей контрольной группы (72,4%) отвечает на вакцинацию с преимуществом IL-10, и только 8 детей (27,6%) – с преимуществом ФНО-альфа. В то же время, в основной группе, напротив 7 детей (33,3%) ответили на вакцинацию с

преимуществом IL-10, а 14 (66,7%) – с преимуществом ФНО-альфа. Все дети до прививки были серонегативны, через 4 недели у всех детей была обнаружена сероконверсия в отношении трех компонентов вакцины. Было также показано, что антителный ответ у детей контрольной группы был значимо выше на все три компонента вакцины в том случае, если дети отвечали дифференцировкой в сторону Th2, нежели у тех, кто ответил по Th1-типу. Интересно, что в основной группе антителный ответ на все три компонента вакцины был значимо выше, нежели в контрольной. Увеличение уровня антителного ответа ассоциировалось с повышением специфических IgG1, IgG3 и IgG4 субклассов и никогда с IgG2.

Полученные результаты не позволяют сделать однозначный вывод относительно целесообразности использования полиоксидония при вакцинации вакциной приорикс, так как неясно, следует ли рассматривать в качестве благоприятных изменений повышение уровня ФНО-альфа и переключение иммунного ответа в сторону Th2.

### СОДЕРЖАНИЕ АЦЕТИЛХОЛИНА И ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

**Трубицына И.Е., Царегородцева Т.М., Чикунова Б.З., Серова Т.И., Клишина М.В., Губина А.А.**

*ЦНИИ гастроэнтерологии, Москва, Россия*

В развитии и течении язвенной болезни желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ЯБ ДК) важная роль принадлежит нарушениям функциональной активности иммунной системы, связанными с тонусом вегетативной нервной системы (ВНС).

**Цель.** Сравнительное комплексное изучение содержания цитокинов (ЦК) и ацетилхолина (Ах) при ЯБЖ и ДК в зависимости от активности заболевания.

**Материал и методы.** В сыворотке крови определяли содержание Ах методом Nestrin, цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IF $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) исследовали иммуноферментным методом у 119 больных (36 женщин и 63 мужчины) с язвенной болезнью (ЯБ) двенадцатиперстной кишки (ДК) и желудка (Ж), возраст больных от 20 до 70 лет. Пациентов, обследовали при поступлении в стационар (4-6сутки с начала заболевания) и перед выпиской. Проводили морфологические исследования, окраска гематоксилином+эозином. Диагноз подтвержден данными клинического, лабораторных и инструментальных методов обследования. Контрольная группа включала 15 клинически здоровых лиц.

**Результаты и обсуждение.** Содержание Ах снижено у 73% пациентов при ЯБ Ж и в 25% при ЯБ ДК. В случае длительного анамнеза заболевания и объема проводимого ранее лечения концентрация Ах снижена в 74% и при ЯБ Ж и ДК. У больных с острыми эрозиями слизистой оболочки желудка повышено содержание Ах в 95%. Содержание цитокинов в периферической крови при ЯБ были в пределах 30 – 2400 пг/мл. Повышение концентрации цитокинов от 70 до 2400 пг/мл имело место при обострениях ЯБ Ж и ДК. Концентрации цитокинов в сыворотке крови у этих двух групп больных соответственно составили: IL – 1 $\beta$  – 360 и 270 пг/мл, IL-2 – 410 и 340 МЕ, IL-2 P – 950 и 680 пг/мл, IL-8 – 205 и 115 пг/мл, IL-6 – 280 и 160 пг/мл, TNF $\alpha$  – 710 и 240 пг/мл, IL-4 – 590 и 365 пг/мл, IF $\gamma$  – 790 и 560

пг/мл. При ЯБ Ж повышение концентрации цитокинов в зависимости от продолжительности заболевания и частоты рецидивов имело ту же направленность, но было менее выраженным по сравнению с ЯБ ДК. Значительное увеличение содержания цитокинов в циркулирующей крови свидетельствует о выраженной системной комплексной реакции организма на локальное повреждение слизистой оболочки Ж и ДК, направленной на нейтрализацию и разрушение патогенного агента, сохранение структурной и функциональной целостности органа находится и в зависимости от тонуса парасимпатического отдела ВНС.

### КОРРЕКЦИЯ ВТОРИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА ПРИ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ С ПОМОЩЬЮ ХИТОЗАНА И ЕГО МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ

**Хабибуллаев Б.Б.**

*Институт иммунологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан*

**Целью** работы явилось изучение влияния хитозана, выделенного из куколок тутового шелкопряда и его комплексов с кобальтом, медью, никелем и марганцем на иммунный ответ к эритроцитам барана у мышей с лучевой болезнью. Для этого мышей линии BALB/c тотального облучения в дозе 4 Гр. Через 2-е суток мышей иммунизировали эритроцитами барана (ЭБ) и внутривенно вводили хитозан и его металлокомплексы в дозе 500 мкг. На 4-е сутки после антигенного стимула мышей забивали и определяли число антитело-образующих клеток (АОК) в селезенке, общее количество клеток в центральных и периферических органах иммунитета, и в крови определяли титр антител к ЭБ и количество эритроцитов и лейкоцитов. Установлено, что в селезенке мышей контрольной группы образуется 4560,0 АОК. Облучение приводит к развитию лучевой болезни, при которой поражаются различные органы и системы, в частности иммунологическая реактивность организма. Об этом свидетельствует резкое угнетение способности отвечать на антигенное воздействие. Так, число АОК в селезенке облученных мышей составляет 786,7. Это в 5,8 раза меньше, чем в контроле.

Введение облученным животным хитозана в 1,8 раза повысило число АОК в селезенке (1440,0). Включение в состав хитозана металлов существенно повысило иммуностимулирующие свойства комплекса. Так, кобальтсодержащий комплекс хитозана повысил количество АОК в селезенке до 2306,7, что в 2,9 раза выше, чем у не леченых мышей.

Более выраженной стимулирующей активностью обладает комплекс с медью: количество АОК увеличилось в 3,5 раза (2746,7). При введении комплексов с никелем и марганцем иммунный ответ к ЭБ повысился в 2,5 (2000,0) и 2,8 (2210,0) раза, соответственно.

Под воздействием хитозана и его комплексов с металлами произошло существенное восстановление общего количества клеток в тимусе, костном мозге, лимфатических узлах, повысился титр антител к ЭБ, число эритроцитов и лейкоцитов в периферической крови.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что хитозан и его металлокомплексы обладают свойством корригировать вторичный иммунодефицит при лучевой болезни.

## ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНА С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ НА АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЕ У МЫШЕЙ

Харланов А.В.

*Институт иммунологии АН РУз,  
Ташкент, Узбекистан*

Взросший интерес специалистов к хитину и хитозану объясняется их выраженной биологической активностью (противомикробный, противоопухолевой, противовоспалительный, иммуномодулирующей и др.), биосовместимостью и безвредностью для организма, что открывает широкие возможности применения этих препаратов и их производных в различных областях медицины.

Для разработки препаратов хитина и хитозана целесообразно изучение механизмов действия этих препаратов прежде всего на иммунную систему организма. В настоящем экспериментальном исследовании проведено изучение влияния пяти образцов хитозана с различной степенью ацетилирования (синтезированных в Институте химии и физики полимеров РУз) на индуктивную фазу иммунного ответа к эритроцитам барана (ЭБ) и некоторые показатели периферической крови мышей.

Эксперименты выполнены на мышцах линии Balb/c весом 18-20 г. Препараты различных образцов хитозана (500 мкг/мышь) вводили животным однократно, внутривенно, в день антигенной стимуляции ( $5 \times 10^6$  ЭБ внутрибрюшинно). Количество IgM-антителопродукторов определяли на пике иммунного ответа, на 4-й день после иммунизации, в реакции локального гемолиза в геле (Jerne N.K, Nordin A.A., 1963). В ряд исследуемых образцов была включена и уксусная кислота, являющаяся растворителем хитозана.

**Результаты** проведенных экспериментов позволили установить, что уксусная кислота достоверно подавляет иммунный ответ мышей на ЭБ. Один из образцов (№ 1) хитозана незначительно снижает его, образец № 5 достоверно стимулирует, а остальные образцы (№ 2, 3, 4) препарата в 2-3 раза усиливают процесс IgM-антителообразования у мышей. Образцы № 3 и № 4 достоверно стимулируют также эритропоэз (в 1,7 и 1,5 раза). Наибольший иммуностимулирующий эффект выявлен у образца № 3 хитозана.

Полученные результаты могут послужить основой для синтеза, с учетом степени ацетилирования хитозана, новых его производных, например, металлокомплексов с наиболее эффективным из образцов хитозана, которые, возможно, окажутся более активными в плане иммуностимуляции.

## ИНТЕРФЕРОН- $\gamma$ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР ЮВЕНИЛЬНОГО РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Хулуп Г. Я., Василевский И. В., Лазарчик И. В., Русакович В. А.

*Белорусская медицинская академия  
последипломного образования, Минск, Беларусь*

**Введение.** Ювенильный ревматоидный артрит (ЮРА) – аутоиммунное мультифакториальное заболевание с полигенным типом наследования, характеризующееся разнообразными нарушениями иммунных реакций. Ряд наблюдений свидетельствует, что интерферон- $\gamma$

(IFN $\gamma$ ) усиливает аутоиммунные процессы и может быть отнесен к ключевым цитокинам в патогенезе ревматоидного артрита взрослых. IFN $\gamma$  синтезируется активированными антигенспецифическими Т-лимфоцитами (CD4<sup>+</sup> Th1 типа) и, в меньшей мере, естественными киллерами. IFN $\gamma$  активирует макрофаги, стимулирует экспрессию молекул ГКГС, активность цитотоксических лимфоцитов и естественных киллеров, участвует в переключении биосинтеза иммуноглобулинов и т.д. Вместе с тем, сведения о роли IFN $\gamma$  в патогенезе ЮРА недостаточны.

**Цель исследования** – сравнительное изучение продукции IFN $\gamma$  в сыворотке крови (СК) и синовиальной жидкости (СЖ) при различных вариантах ЮРА.

**Задачи:** 1. Изучить уровень IFN $\gamma$  в СК и СЖ у детей, больных ЮРА. 2. Провести сравнительный анализ содержания IFN $\gamma$  в СК и СЖ при различных клинических вариантах ЮРА. 3. Сопоставить содержание IFN $\gamma$  с другими иммунологическими показателями.

**Материалы и методы.** Уровень IFN $\gamma$  изучен у 44 детей (25 девочек и 14 мальчиков в возрасте от 3 до 17 лет) с различными вариантами ЮРА. У 12 пациентов диагностировали системную форму, полиартритический вариант преимущественно суставной формы (ПСФ) ЮРА имел место у 16 детей, олигоартритический – у 16. Содержание IFN $\gamma$  в СК и СЖ определяли иммуноферментным методом с использованием тест-систем, изготовленных НПО «Цитокин» (Санкт-Петербург), уровень IFN $\gamma$  выражали в пг/мл.

**Основные результаты.** Содержание IFN $\gamma$  в СК в общей выборке детей с ЮРА составило  $584,7 \pm 130,4$  пг/мл, что достоверно превышало контрольные значения ( $13,4 \pm 3,7$  пг/мл). В синовиальной жидкости среднее содержание IFN $\gamma$  ( $386,9 \pm 158,0$ ) было ниже, чем с СК, однако достоверных различий выявлено не было. Установлена достоверная положительная корреляционная связь между уровнем IFN $\gamma$  в СК и СЖ ( $r=0,79$ ;  $p<0,01$ ) больных ЮРА, свидетельствующая о сопряженности системного и локального синтеза IFN $\gamma$  при данной патологии. У больных ЮРА с ПСФ, с моно-олигоартритом уровень IFN $\gamma$  в сыворотке крови составил  $97,2 \pm 25,4$ , а в синовиальной жидкости –  $103,9 \pm 28,1$ . При ПСФ с полиартритом уровень IFN $\gamma$  в СК составил  $304,7 \pm 76,7$ , а в СЖ –  $191,1 \pm 42,8$ . Системные проявления ЮРА характеризовались высоким уровнем IFN $\gamma$  в СК ( $1550,7 \pm 334,6$ ) и СЖ ( $1681,2 \pm 749,6$ ). Концентрация IFN $\gamma$  в СК достоверно ( $p<0,05$ ) росла от ПСФ с моно-олигоартритом к полиартриту и далее к форме с системным проявлением ЮРА. В СЖ больных ЮРА отмечалась такая же тенденция. Важно отметить следующие наблюдения. Так, у 15 первичных больных ЮРА параллельно в СК и СЖ определена концентрация IFN $\gamma$ , которая зависела от формы ЮРА и принадлежности к биологическому материалу. При этом продукция IFN $\gamma$  в СК больных ЮРА ( $712,7 \pm 239,5$ ) независимо от формы заболевания значительно ( $p<0,01$ ) превышала норму. Характерно, что концентрация IFN $\gamma$  у больных ЮРА в СК нарастала от ПСФ с моно-олигоартритом ( $179 \pm 52,8$ ) к ПСФ с полиартритом ( $1002 \pm 611,6$ ) и далее при системных проявлениях ЮРА составила  $2022 \pm 390$ . Сравнение системной и локальной продукции IFN $\gamma$  при параллельном определении в одномоментно взятом материале (СК и СЖ) позволило отметить тенденцию к преобладанию концентрации IFN $\gamma$  в СК над содержанием его в СЖ ( $712,7 \pm 239,5$  и  $488,5 \pm 207,3$  соответственно). Следует подчеркнуть наличие прямых корреляционных связей между IFN $\gamma$  СК и СЖ и неопте-

рином СК и СЖ ( $r=0,65$  и  $r=0,51$ ,  $p<0,001$  и  $p<0,05$ , соответственно);  $IFN\gamma$  СК и СЖ и  $IFN\alpha$  СК и СЖ ( $r=0,68$  и  $r=0,59$ ,  $p<0,001$  и  $p<0,05$ , соответственно).

**Заключение.** Определение уровня  $IFN\gamma$  может иметь существенное значение для характеристики различных вариантов ЮРА. Содержание  $IFN\alpha$  в СК и СЖ является лабораторным иммунологическим маркером, отражающим выраженность активации клеточного иммунитета у детей, страдающих ЮРА, выявленные корреляционные взаимосвязи подчеркивают кооперативность действия ряда цитокинов при аутоиммунной патологии.

### ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ РАЗНЫХ ЧАСТОТНЫХ ДИАПАЗОНОВ НА СИСТЕМУ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА МЛЕКОПИТАЮЩИХ (МЫШЕЙ)

Черенков Д.А., Глушкова О.В., Новоселова Е.Г., Юсупов В.И., Чудновский В.М., Фесенко Е.Е.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино;  
Институт медицинской физики  
им. У.Х. Ковиллема, Владивосток, Россия

**Введение.** Среди факторов, влияющих на живые организмы, особое место занимает электромагнитное излучение (ЭМИ). В последнее время источники низкоинтенсивного ЭМИ различных диапазонов все более активно внедряются в сферу деятельности человека, включая медицину. В качестве самых чувствительных маркеров для оценки действия внешних факторов исследовали некоторые гуморальные продукты клеток иммунной системы – фактор некроза опухолей (ФНО) и стрессовые белки (белки теплового шока). Кроме того, изучали активность естественных киллерных клеток (ЕКК) в качестве субпопуляции, важной для формирования противоопухолевого иммунитета.

**Цель и задачи.** Целью данной работы явилось сравнительное исследование действия низкоинтенсивного ЭМИ разных частотных диапазонов на продукцию фактора некроза опухолей (ФНО), белков теплового шока (БТШ 70, БТШ 90, БТШ 27) иммунокомпетентными клетками, а также активность естественных киллерных клеток (ЕКК) селезенки мышей.

**Материалы и методы.** Исследовали влияние ЭМИ СВЧ (8,15 – 18 ГГц, средняя плотность потока энергии 1 мкВт/см<sup>2</sup>), ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, средняя плотность потока энергии 1 мкВт/см<sup>2</sup>), низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) ( $\lambda=633$  нм, плотность потока падающего излучения 1 мВт/см<sup>2</sup>). Облучению подвергали как целый организм, так и изолированные иммунокомпетентные клетки. В качестве объекта исследования использованы мыши-самцы NRM1. Иммунокомпетентные клетки выделяли по стандартным методикам, инкубировали в среде RPMI с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки.

Продукцию ФНО оценивали методом цитотоксического теста с использованием ФНО-чувствительной линии клеток L-929. Продукцию БТШ спленоцитами определяли методом иммуноблоттинга. Активность ЕКК измеряли радиоизотопным методом с использованием в качестве мишеней клеток К-569, меченых <sup>3</sup>H-уридином.

**Основные результаты.** Показана частотная зависимость иммуномодулирующих эффектов электромагнитных волн. Так, было обнаружено стимулирующее действие сантиметровых волн на продукцию ФНО в макро-

фагах и Т-лимфоцитах, а также на активность ЕКК – независимо от режима воздействия (однократное или пролонгированное фракционированное облучение). Применение низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ (миллиметровые волны) и, особенно, лазерного света вызывало преимущественно угнетение продукции ФНО и активности естественных киллеров. Примечательно, что такие же частотные зависимости действия электромагнитных волн были обнаружены при экспонировании клеток *in vitro*.

Было показано, что применение электромагнитных волн (независимо от частоты излучения) вызывало повышение экспрессии белка теплового шока БТШ70, как при воздействии на целый организм, так и на изолированные клетки. После действия лазерного света на кожу животных и на изолированные клетки, кроме БТШ70, экспрессировался белок из другого семейства – БТШ90.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о стрессовом воздействии НИЛИ, ЭМИ КВЧ и ЭМИ СВЧ на организм млекопитающих. При этом низкоинтенсивное излучение сантиметрового диапазона вызывает стимуляцию функциональной активности клеток иммунной системы, включая противоопухолевую резистентность.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, гранты № 04-04-97268 и 04-04-48583.

### АТОПИЧЕСКИЙ TH2-ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ ГРИППОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ И ИММУНИЗАЦИИ ГРИППОЗНЫМИ ВАКЦИНАМИ

Чиркова Т.В., Донина А.С., Григорьева Е.П., Баранцева И.Б., Найхин А.Н.

НИИ экспериментальной медицины РАМН,  
Санкт-Петербург, Россия

Одним из актуальных направлений в аллергологии является исследование роли респираторных вирусов в возникновении состояний сенсибилизации к аэроаллергенам и бронхиальной астмы. Проблема «вирус-аллергия» в полной мере относится и к противовирусной вакцинации и, в частности, к ежегодной массовой противогриппозной иммунизации инактивированными (ИГВ) и, особенно, живыми (ЖГВ) вакцинами. В последние десятилетия отмечен бурный рост сенсибилизации населения различными новыми аллергенами. В сложившихся условиях важно знать, изменяет ли гриппозная инфекция и массовая вакцинация аллергический статус населения. Недавно английскими авторами в эксперименте на животных показана способность вирусов гриппа индуцировать продукцию специфических сывороточных IgE, а также снижать и даже отменять толерантность к неинфекционным аэроаллергенам. Все это в совокупности диктовало необходимость проведения специального исследования.

**Цель исследования:** изучить влияние гриппозной инфекции и противогриппозной вакцинации на возникновение атопических иммунных реакций.

Задачи исследования: (i) в эксперименте на мышах оценить продукцию общих и специфических IgE (циркулирующих и локальных) при гриппозной инфекции и интраназальной вакцинации аттенуированным реассортантным вирусом; (ii) изучить IgE-опосредованный аллергический статус вакцинированных людей в зависимости от типа вакцин и возраста иммунизируемых; (iii) сравнить IgE-статус у вакцинированных и лиц, перенесших гриппозную инфекцию.

**Материалы и методы.** *Иммунизируемые контингенты:* люди, не страдающие клинически выраженными аллергическими заболеваниями (привитые ЖГВ 3 – 6, 18 – 27 и 65 – 89 лет; привитые сочетанно ЖГВ+ИГВ 18 – 27 и 65 – 89 лет). *Экспериментальные животные:* мыши линии Balb/c (возраст: 4 – 6 недель). *Объекты исследования:* сыворотки крови, секреты верхнего и нижнего отделов респираторного тракта, лимфоциты назоассоциированной лимфоидной ткани. *Методы исследования:* ИФА (определение локальных и циркулирующих IgG-, IgA- и IgE-антител).

**Основные результаты.** У мышей специфический IgE-иммунный ответ наблюдался только после повторной инфекции, но не после вакцинации аттенуированным реассортантным вирусом (аналог вакцинного штамма для ЖГВ). Как у иммунизированных разными способами, так и у больных гриппом людей наблюдались динамические изменения общих IgE. Однако, эти изменения не были связаны со специфическим иммунным ответом к вирусам гриппа. У людей достоверные приросты специфических IgE отмечены лишь в единичных случаях. Предвакцинальный уровень общих IgE у лиц молодого возраста превышал аналогичный показатель у пожилых в 2,2 – 3,6 раза, что свидетельствует о высокой латентной сенсибилизации данной группы населения. Не отмечено возрастных отличий в концентрациях вирус-специфических IgE.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что как неосложненная гриппозная инфекция, так и иммунизация ЖГВ не способствуют развитию патологического Th2-иммунного ответа в виде накопления общих и локальных IgE-антител. Это относится не только к людям разного возраста, не страдающим аллергическими заболеваниями, но и к лицам с высокой латентной сенсибилизацией, у которых перед иммунизацией наблюдается повышенный уровень общих IgE в сыворотке крови.

### ВЛИЯНИЕ БЕСТИМА И ЛИКОПИДА НА КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАРЕНИЯ

**Шабашова Н.В., Фролова Е.В., Симбирцев А.С.,  
Бобровская М.В., Учеваткина А.Е.**

*Медицинская Академия последипломного образования,  
Санкт-Петербург, Россия*

**Введение.** Известно, что у людей старше 40 лет начинаются гормональные изменения, предшествующие старению организма, также заканчивается инволюция тимуса и постепенно изменяется социальный статус, что оказывается дополнительным стрессорным фактором, влияющим на их здоровье. Развивается так называемый синдром «иммунного старения» с характерными изменениями иммунологических показателей и клинического состояния, что ранее представлено в наших работах.

**Задачи.** Исследовать динамику клинико-иммунологических показателей на фоне сезонной иммунопрофилактики у практически здоровых людей в возрасте 45-64 лет.

**Материалы и методы.** В течение двух лет наблюдали и обследовали 45 практически здоровых лиц в возрасте от 45 до 64 лет. Из них дважды в год весной и осенью 15 человек получали Бестим (5 инъекции через день) –

1-я группа, 15 человек – ликопид (10 дней по 1 сублингвальной таблетки) – 2-я группа. Всего они получили по 4 таких курса того или иного препарата за 2 года. Перед каждым курсом проводили исследование иммунитета. В группу сравнения вошли 15 человек того же возраста, также обследованных, но не получающих препаратов, – 3 группа. В исследование были включены лица, не страдающие тяжелыми соматическими, аллергическими, аутоиммунными и инфекционными заболеваниями, то есть практически здоровые. Каждый год весной, у всех наблюдаемых оценивали самочувствие, работоспособность, частоту заболеваемости гриппом, ОРВИ, герпесом, тонзиллитами, бронхитами. Субпопуляционный состав лимфоцитов определяли иммуноцитохимическим методом с использованием моноклональных антител фирмы DАСО. Интерфероновый статус оценивался по следующим параметрам: концентрация сывороточного интерферона (IFN), способность лимфоцитов периферической крови синтезировать IFN $\alpha$  в ответ на индукцию вирусом болезни Ньюкасла и IFN $\gamma$  в ответ на индукцию клеток ФГА. Функциональную активность нейтрофилов учитывали в НСТ-тесте, а также оценивали фагоцитоз и киллинг клеток *C.albicans*. Концентрацию IgG, IgA, IgM определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, IgE – иммуноферментным анализом («Полигност»). Результаты обрабатывали статистически по методу Стьюдента.

**Результаты.** В группе сравнения по отношению к контрольной (здоровые люди в возрасте 18-35 лет) было выявлено достоверное снижение дифференцировки Т-лимфоцитов в хелперную субпопуляцию, выработки IFN $\alpha$  и IFN $\gamma$ , бактерицидной активности нейтрофилов, повышение уровней IgE. Так как Бестим, является препаратом, влияющим на баланс Тх1 и Тх2 типа, то в 1-ую группу отобрали людей с повышенными уровнями IgE. К четвертому завершающему исследованию у них достоверно снижалось содержание IgE ( $44 \pm 24$  vs  $142 \pm 30$  ЕД/мл по сравнению с исходными показателями), повышался уровень IFN $\gamma$  ( $42,5 \pm 5,1$  vs  $27,0 \pm 4,9$  ЕД/мл), возросло относительное число естественных киллеров CD16<sup>+</sup> ( $11,3 \pm 0,6$  vs  $8,8 \pm 0,8\%$ ). Влияние ликопида, как известно, в основном направлено на восстановление активности фагоцитирующих клеток, поэтому во 2 группу отобрали людей со сниженными бактерицидной активностью нейтрофилов и уровнями IgA. В результате применения ликопида в этой группе, по сравнению с 3-ей, повысилась фагоцитарная (ФИ  $74,7 \pm 3,2$  vs  $58,0 \pm 2,9\%$ ) и киллерная (КК  $42,8 \pm 5,4$  vs  $31,8 \pm 2,2\%$ ) способности нейтрофилов, что подтвердилось и возросшим уровнем восстановления НСТ ( $87,1 \pm 1,1$  vs  $48,9 \pm 5,4\%$ ). Уровни всех классов иммуноглобулинов, в том числе и IgA, не изменились. Все наблюдаемые отмечали улучшение самочувствия и работоспособности, снижение частоты простудных заболеваний. Однако в 1-ой группе клиническое улучшение было более существенным, особенно в отношении снижения эпизодов герпетической инфекции.

**Заключение.** Результаты исследования показывают полиморфность изменений иммунологических параметров при «иммунном старении», что требует дифференцированного подхода к профилактическому иммуномодулирующему вмешательству. Однако рациональность последнего не вызывает сомнений, что подтверждается улучшением не только иммунных показателей, но и клинического состояния наблюдаемых нами практически здоровых людей в возрасте 45-64 лет.

**КОНТРОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА НЕЙТРОФИЛОВ РЕПРОДУКТИВНЫМИ ГОРМОНАМИ ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ СТИМУЛЯЦИИ КЛЕТОК IN VITRO**

**Ширшев С.В., Куклина Е.М.**

*Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия*

Известно, что функции нейтрофилов и, в частности их окислительная активность, существенно изменяются в период беременности, причем выраженность изменений зависит от срока гестации. Исследование механизмов, ответственных за эти изменения – актуальная проблема, особенно принимая во внимание, что нейтрофилы, наряду с обеспечением неспецифической резистентности организма при беременности, активно участвуют в трансплантационном иммунитете и процессах ремоделирования тканей при цервикальной дилатации.

**Целью** настоящей работы было исследование влияния основных гормонов беременности – хорионического гонадотропина (ХГ), эстрадиола и прогестерона на окислительную активность нейтрофилов. Моделируя гормональный фон, характерный для разных периодов беременности, мы также оценили комбинированные эффекты указанных гормонов и сопоставили их с действием отдельных гормонов.

**Материалы и методы.** В работе использовали фракционированные нейтрофилы периферической крови небеременных женщин репродуктивного возраста. Окислительную активность нейтрофилов оценивали по интенсивности люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) клеточной культуры – спонтанной и стимулированной различными факторами.

**Основные результаты.** Анализ спонтанной ЛЗХЛ нейтрофилов не выявил самостоятельной модулирующей активности отдельных гормонов, однако гормональная комбинация, характерная для III триместра, достоверно повышала этот показатель. В стимулированном варианте интенсивность ЛЗХЛ на максимуме активации под действием опсонизированного зимозана была существенно (на порядок) выше по сравнению с таковой для полистирольного латекса. При этом в случае латексной стимуляции интенсивность ЛЗХЛ нейтрофилов достоверно усиливалась высокой дозой прогестерона (100 нг/мл) и соответствующей комбинацией его с эстрадиолом и ХГ, характерной для III триместра беременности. Продукция активных кислородных метаболитов, стимулированная опсонизированным зимозаном, регулировалась гормонами иначе – она угнеталась обеими дозами ХГ (10 и 100 МЕ/мл), но стимулировалась низкой дозой прогестерона (20 нг/мл). Комбинация гормонов, соответствующая I триместру беременности, не вызывала изменений, что объясняется, по-видимому, взаимным нивелированием разнонаправленных эффектов ХГ и прогестерона. В то же время, гормональная комбинация, характерная для III триместра, достоверно снижала интенсивность ЛЗХЛ нейтрофилов.

**Заключение.** Регуляция окислительной активности нейтрофилов гормонами беременности зависит от активационного статуса клетки: в спонтанном варианте и в случае слабой стимуляции (латексными частицами) гормоны усиливают продукцию активных форм кислорода, а при интенсивной стимуляции (опсонизированным зимозаном) – напротив, подавляют ее. Все эффекты исследованные гормоны проявляют в комбинации, характерной для III триместра беременности, и ингибирующее

действие данной комбинации обеспечивается, как правило, ХГ, а стимулирующее – женскими половыми стероидными гормонами.

**ВАРИАбельНОСТЬ ТЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА КАК СЛЕДСТВИЕ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА TNF**

**Шмарина Г.В., Петрова Н.В., Пухальская Д.А., Тимковская Е.Е., Пухальский А.Л.**

*Медико-генетический научный центр РАМН, Москва, Россия*

В последнее время появилось большое количество работ, как экспериментальных, так и выполненных на клиническом материале, посвященных роли клеток Treg в развитии различных видов патологии. Патогенетическая роль дефицита Treg установлена при при бронхиальной астме, ряде ревматических заболеваний, сахарном диабете, рассеянном склерозе, аутоиммунном миокардите. Разработаны методы, позволяющие выявить такой дефицит как в прямых экспериментах, так и по ряду косвенных признаков. Есть основания полагать, что у больных муковисцидозом (МВ) имеет место дефицит клеток Treg и как следствие – нарушение периферической толерантности. Такое предположение можно сделать на основании клинических данных (чрезмерный воспалительный ответ в легких, частое присоединение цирроза печени и сахарного диабета), а также результатов лабораторных исследований (высокие уровни Ig и IFN $\gamma$  в крови, повышенная активность Т-лимфоцитов у тяжелых больных, выраженная нейтрофильная инфильтрация в легких). Скорее всего, такая форма иммунной недостаточности непосредственно связана с первичным генетическим дефектом этих больных. Хорошо известно, что у больных МВ нарушена функция эпителия различных органов. Вполне возможно, что эпителий тимуса не является в этом отношении исключением. Учитывая фундаментальную роль тимического эпителия в процессе созревания Т-клеток, можно предположить, что у больных МВ имеет место частичное нарушение этого процесса, в том числе в форме недостаточного образования клеток Treg. Таким образом, есть основания полагать, что воспалительный процесс при МВ *a priori* имеет хронический характер, начало воспаления не связано с присоединением инфекции, а его признаки могут быть обнаружены не только в дыхательных путях, но также и в других органах (поджелудочная железа, печень, кишечник), где оно носит асептический характер. Несмотря на то, что МВ является моногенным аутосомно-рецессивным заболеванием, его клиническое течение отличается высокой степенью вариабельности, что указывает на наличие ряда дополнительных факторов, которыми могут быть т.н. «гены-модификаторы воспалительного ответа». В частности, известно, что существует аллельный полиморфизм генов TNF, продукты которых играют важную роль в иммунорегуляции. В настоящей работе изучали особенности течения воспалительного процесса у больных МВ в зависимости от наличия тех или иных аллельных вариантов генов TNF $\alpha$  (TNFA1 и TNFA2) и TNF $\beta$  (TNFB1 и TNFB2). В исследовании принимало участие 116 больных в возрасте от 1 года до 18 лет. Все пациенты страдали смешанной формой МВ с поражением бронхолегочной системы и желудочно-кишечного тракта.

Средние значения показателей функции внешнего дыхания, таких как функциональная жизненная емкость легких и объем форсированного выдоха за 1 минуту, составили, соответственно, 75.1% и 68.7% от должных величин возрастных норм. У 67 (58%) человек была выявлена хроническая синегнойная инфекция. У 41 (35%) больных были обнаружены признаки формирующегося цирроза или цирроз печени. Уровень цитокинов в мочре и периферической крови, а также концентрацию АКТГ в плазме определяли с помощью коммерческих иммуноферментных наборов. Анализ полиморфных локусов генов TNF $\alpha$  и TNF $\beta$  проводили методом полимеразой цепной реакции (ПЦР) в стандартных условиях. Среди обследованного пула больных нам удалось выявить только 5 пациентов, гомозиготных по TNF $\alpha$ 2. В результате, мы имели возможность анализировать две группы больных: гомозигот по TNF $\alpha$ 1 и гетерозигот TNF $\alpha$ 2/ $\alpha$ 1. Установлено, что у носителей аллеля TNF $\alpha$ 2 содержание IL-4 и АКТГ было существенно выше, а содержание IFN $\gamma$ , напротив, ниже (все различия статистически значимы). В то же время, больные обеих групп были сравнимы по содержанию TNF $\beta$  в плазме. Генотип TNF $\beta$ 1/ $\beta$ 1 встречался относительно редко (5 больных из 116 обследованных). В связи с этим сравнение уровней маркеров воспаления проводилось между группами больных с генотипами TNF $\beta$ 1/ $\beta$ 2 и TNF $\beta$ 2/ $\beta$ 2. Единственным значимым различием было более высокое содержание IL-4 в плазме носителей аллеля TNF $\beta$ 1. Кроме того, было обнаружено, что частота развития цирроза печени (наиболее частого осложнения при МВ) у носителей аллеля TNF $\beta$ 1 в 2 раза ниже, чем у больных с другими генотипами. Известно, что наличие аллеля TNF $\beta$ 1 ассоциировано с более высокой продукцией TNF $\beta$ . Этот цитокин является индуктором экспрессии аутоиммунного регулятора (AIRE) клетками эпителия тимуса. Таким образом, обнаруженное преимущество носителей аллеля TNF $\beta$ 1, возможно, связано с более широким репертуаром клеток Treg, что частично компенсирует нарушение периферической толерантности, обусловленное первичным генетическим дефектом.

### ЛИМФОТРОПНАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ПРОСТАТИТОВ

**Юдина С.М., Поповцева О.Н., Козлов С. П., Братчиков О.И.**

*Курский Государственный Медицинский Университет, Курск, Россия*

Хронический простатит занимает одно из первых мест среди воспалительных заболеваний мужской половой сферы. В России этим заболеванием страдает до 35% мужчин трудоспособного возраста. Проблема диагностики и лечения хронического простатита остается нерешенной до сих пор. В последние годы в патогенезе хронического простатита установлена важная роль иммунологических механизмов. В комплексе лечения заболевания все чаще стали применяться иммуноотропные препараты.

С учетом этого целью исследования явилась разработка метода лимфотропной иммунотерапии хронических простатитов и оценка ее влияния на клинико-иммунологические показатели больных.

Под наблюдением находилось 20 больных с хроническим неспецифическим простатитом в стадии обострения, в комплексном лечении которых применялась лимфот-

ропная иммунотерапия с препаратом Миелопид. Контрольную группу составили 20 больных, получавших традиционное лечение.

Миелопид вводили подкожно в дозе 0,003 г на 2 мл физиологического раствора подкожно на границе нижней и средней трети голени. Курс лечения состоял из 10 ежедневных инъекций.

Оценка иммунного статуса больных включала проведение иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови с определением уровня экспрессии маркеров CD4, CD8, CD20, CD25, HLA-DR иммуноферментным методом В секрете предстательной железы исследовали содержание цитокинов IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-4, IFN $\gamma$  с использованием набора реагентов (ТОО, «Протеиновый контур», С.-Петербург) методом ИФА. Проведенные исследования показали, что у всех больных до лечения снижено количество CD4+ клеток, содержание CD8+ лимфоцитов соответствовало норме. Уровень экспрессии маркеров активации (CD25 и HLA-DR) на лимфоцитах периферической крови был снижен в два раза, по сравнению со значениями доноров. В большинстве случаев установлено превышение в 2-3 раза уровня IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  в секрете простаты, а также снижение в 2 раза содержания IL-4. При анализе данных иммунологического обследования через 2 недели после проведенного лечения выявлена нормализация исследуемых показателей у 92% больных. У больных, находившихся на традиционной терапии восстановление нарушенных показателей клеточного иммунитета и локального содержания цитокинов отмечено лишь в 66% случаев. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности лимфотропной иммунотерапии в лечении простатитов. На фоне лимфотропной иммунотерапии с препаратом Миелопид у всех больных достигнута ремиссия заболевания, длительность которой будет прослежена в ходе дальнейшего наблюдения за пациентами.

### ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У БЕРЕМЕННЫХ С ОСТРОЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ (ОВП) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ

**Юсупова М.А.**

*НИИ Акушерства и гинекологии МЗ РУз; Институт иммунологии АН Республики Узбекистан*

В последние годы отмечается тенденция к росту заболеваемости острой пневмонией среди беременных женщин. Установлено, что в формировании органной и полиорганной недостаточности важное значение придается межклеточным медиаторам, которые в большей степени определяют кооперативные взаимодействия в иммунной системе. Ключевую роль в патогенезе органических расстройств отводят провоспалительным цитокинам – IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и др. В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение уровней провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в периферической крови у беременных женщин с ОВП в зависимости от тяжести течения.

Нами обследовано 18 беременных с ОВП. Из них 10 беременных с ОВП средней тяжести течения и 8 беременных женщин с ОВП тяжелого течения. Возраст беременных женщин колебался от 18 до 34 лет и в среднем составил 23,9 $\pm$ 0,7.

В связи с тяжестью состояния и нарастанием полиорганной недостаточности, в ближайшие часы от момента поступления в стационар 8 беременным по жизненным показаниям в экстренном порядке проводилась операция кесарева сечения по Джоэль Кохену.

Из них 5 беременных выздоровели после операции, а 3 беременных женщин с ОВП, несмотря на проводимую интенсивную терапию, погибли от острой дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности.

Уровень цитокинов определяли ИФА-методом с использованием тест-систем (ООО «Цитокин» СПб).

Результаты исследования показали, что у беременных женщин с ОВП средней тяжести течения уровень IL-1 $\beta$  до лечения и после консервативной терапии достоверно не различался и составил соответственно  $1,71 \pm 1,11$  и  $1,2 \pm 1,20$  пг/мл, а уровень TNF $\alpha$  характеризовался наличием достоверных различий. У беременных женщин с ОВП тяжелого течения уровень IL-1 $\beta$  на фоне проводимой оперативной и интенсивной терапии до лечения составил  $6,1 \pm 1,3$  пг/мл, у выздоровевших после операции –  $46,8 \pm 29,87$  пг/мл, а у умерших беременных с ОВП составил  $466,67 \pm 316,35$  пг/мл. Содержание TNF $\alpha$  в сыворотке периферической крови у беременных с ОВП тяжелого течения до лечения составил  $9,50 \pm 4,27$  пг/мл, у выздоровевших после оперативного лечения –  $14,0 \pm 7,31$  пг/мл, а у умерших составил  $18,0 \pm 11,68$  пг/мл.

Таким образом, провоспалительные цитокины IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  могут быть прогностическим критерием тяжести острой внебольничной пневмонии у беременных женщин.

#### ПРИМЕНЕНИЕ ВАКЦИНЫ КОДИВАК В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БАКТЕРИОВЫДЕЛИТЕЛЕЙ ТОКСИГЕННЫХ *C. DIPHTHERIAE*

Ющук Н.Д., Еремина О.Ф., Астафьева Н.В., Шмелева Е.А.\*, Ценева Г.Я.\*\*

Московский государственный медико-стоматологический университет;

\* НИИЭМ им. Н.Г. Габричевского, Москва,

\*\* НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Выявление причин бактериовыделения при дифтерийной инфекции остается предметом изучения даже вне эпидемических вспышек, так как бактериовыделители являются активными источниками инфекции, поддерживающими циркуляцию и сохранение возбудителя как вида.

**Цель и задачи:** изучить влияние бактериальной противодифтерийной субклеточной вакцины кодивак, разработанной и синтезированной профессором Е.А. Шмелевой, на санацию и иммунный статус бактериовыделителей, не освободившихся от возбудителя после стандартной терапии.

**Материалы и методы:** исследован иммунный статус 41-ого бактериовыделителя токсигенных штаммов *C. diphtheriae*, у которых возбудитель выделяли многократно в течение 1 мес в возрасте 16 – 52 лет. Из них мужчин 73,4%, женщин 26,6%. 23,3% пациентов являлись реконвалесцентными выделителями, у остальных (76,7%) возбудитель выделен на фоне отсутствия клинических симптомов. Наиболее частая сопутствующая патология – хронический тонзиллит (41,9%). У подавляющего большинства пациентов (84,1%) выделен биовар *gravis*. Группа контроля – 30 пациентов, сопостави-

мых по возрасту и полу. Изучен антигенный ландшафт мембраны лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии, функциональная активность фагоцитирующих клеток крови (спонтанная и индуцированная люминолзависимая ХЛ), содержание Ig в сыворотке и слюне, количество ЦИК, выявляемых путем седиментации на 4% ПЭГ 6000. Стандартное лечение бактериовыделителей было комплексным и включало применение антибиотиков широкого спектра действия, (эритромицин, доксициклин и другие тетрациклины, а также рифампицин); полоскание ротоглотки раствором фурациллина или перманганата калия, физиотерапевтические процедуры на область небных миндалин, симптоматическое и общеукрепляющее лечение. Двадцати бактериовыделителям, у которых санация ротоглотки не наступила после стандартного лечения, было проведено лечение вакциной кодивак. Кодивак вводили в/м, общая доза препарата составила 5,0 мл: 1-ый день – 2,0 мл, через день – 2,0 мл, еще через день – 1,0 мл.

**Результаты исследования.** До лечения выявлено статистически достоверное уменьшение содержания в крови CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, HLA DR<sup>+</sup> лимфоцитов, характеризующих активационные возможности иммунной системы, увеличение количества ЦИК, усиление функциональной активности фагоцитирующих клеток, многократное повышение IgA и sIgA и снижение IgG в слюне.

После стандартной терапии санация ротоглотки произошла лишь у 39,8% пациентов. У остальных 60,2% санация не наступила и показатели иммунного статуса не нормализовались. В связи с этим, 20-ти пациентам из этой группы был проведен курс лечения антибактериальной вакциной кодивак, после чего подавляющее число пациентов (89%) санировалось, а показатели иммунного статуса нормализовались. Исключение составляет содержание иммуноглобулинов в слюне, которое, хотя и снизилось существенно, но не до нормальных значений.

Установленный факт бактериовыделения является следствием недостаточности механизмов защиты организма от дифтерийной инфекции. Это подтверждается изменением иммунологических параметров в сравнении с контролем и свидетельствует о недостаточности функционирования иммунной системы. Низкое содержание естественных киллеров, а также недостаточная активация иммунной системы (низкое содержание CD25<sup>+</sup> и HLA DR<sup>+</sup> лимфоцитов) указывают на важную роль факторов неспецифической резистентности в формировании длительных форм носительства. Причиной ослабления естественной защиты может быть как длительная персистенция возбудителя, вызвавшая функциональную недостаточность иммунной системы, так и первоначально несовершенный местный ответ. Безусловно, существенное влияние на состояние иммунной системы пациентов оказывает сопутствующая ЛОР-патология, частые ОРВИ и нарушение микробиоценоза слизистой оболочки ротоглотки, часто выявляемые у пациентов, длительно выделяющих бактерии. Таким образом, в настоящем исследовании выявлены клинические и лабораторные признаки недостаточности функционирования иммунной системы при длительно существующем бактериовыделении, не поддающемся стандартной терапии. Кодивак, оказавший положительный клинический эффект и улучшивший иммунный статус, рекомендован в качестве эффективного средства к стандартной терапии длительных бактериовыделителей токсигенных *C. diphtheriae*.

**ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ БОЛЬНЫХ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ДО И ПОСЛЕ МАЛООБЪЕМНОЙ ГЕМОПЕРФУЗИИ**

**Яковлев С.В., Нохрин С.П., Буркова Н.В., Крецер И.В., Эйсмонт Ю.А., Зугаирова О.Н., Ларионов А.Ю., Сорока В.В., Джурко Б.И., Кузнецов С.И.**

*Гос НИИ скорой помощи им. И.И.Джанелидзе; ГОУ ДПО Медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург, Россия*

Критическая ишемия нижних конечностей любого генеза со временем приводит к развитию тяжелых гнойно-некротических процессов. Опасность такого состояния заключается в возможности развития генерализации хирургической инфекции в виде сепсиса. Характер течения и исход гнойно-септических заболеваний зависит от баланса внутри цитокинового каскада, который включает цитокины как провоспалительного толка (IL-1, IL-6, IL-12, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ), так и медиаторы с противовоспалительным эффектом (IL-10, IL-4, TNF $\alpha$ R, IL-1R и др.)

**Цель** настоящего исследования состояла в анализе цитокинового профиля у больных с критической ишемией нижних конечностей до и после проведения лечебных процедур, чтобы выяснить два момента: во-первых, существуют ли признаки генерализованного воспаления у больных с критической ишемией нижних конечностей по состоянию цитокинового каскада и, во-вторых, как влияет процедура малообъемной гемоперфузии пораженной конечности на состояние цитокиновой сети в системном кровотоке.

Обследовано 9 больных с критической ишемией нижних конечностей III-IV степени. Кровь для оценки цитокинового профиля забирали из локтевой вены за сутки перед началом курса лечения больных методом целевой малообъемной гемоперфузии (ЦМОГ). Курс состоял из 3 процедур, которые выполняли через 2-4 дня. Для проведения процедуры ЦМОГ пунктировали бедренную артерию на больной ноге. Кровь по коммуникационной системе забирали в специальную колонку, содержащую гемоконтактный препарат, активировали ее путем ротации и возвращали обратно в артериальный кровоток. Спустя сутки после завершения последней процедуры повторно

забирали кровь из локтевой вены для проведения аналогичных анализов. В пробах плазмы крови с использованием иммуноферментного анализа определяли: IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ . Также в цельной крови регистрировали спонтанную и индуцированную продукцию цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ .

Предварительный анализ полученных результатов показал, что в плазме крови больных концентрация провоспалительных цитокинов до и после курса ЦМОГ изменилась мало. Наметилась тенденция к повышению IL-1 и TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  остался на прежнем уровне, незначительно уменьшилась концентрация IL-8 (с  $3,93 \pm 0,887$  до  $3,33 \pm 1,306$  нг/мл. Однако, в 1,8 раза снизилась концентрация IL-10. Следует отметить, что количества цитокинов во всех пробах находились в диапазоне нормальных значений либо немного превышали их. Более выразительные изменения получены при культивировании крови. Спонтанная продукция цитокинов до курса лечения превышала нормальные значения в 6-8 раз, при этом индуцированные концентрации цитокинов были в пределах нормы, за исключением TNF $\alpha$  (индуцированная в 2 раза превышала верхний предел нормы). Если оценить соотношение индуцированной концентрации цитокинов к спонтанной, то получаются следующие коэффициенты: IL-1 $\beta$  – 8,5; TNF $\alpha$  – 6,1; IFN $\gamma$  – 7,3 и IL-10 – 0,95. После проведенного курса ЦМОГ спонтанная индукция цитокинов в культуре заметно снижается, приближаясь к норме, а по некоторым показателям (IFN $\gamma$ ) достигая ее. При этом индуцированная продукция по одним показателям (IL-1 $\beta$  и IL-10) остается без изменений, по другому (TNF $\alpha$ ) снижается в 5 раз, а по IFN $\gamma$  – повышается в 2,8 раза. Коэффициент соотношения (индуцированная/спонтанная продукция) после лечебного курса составил: IL-1 $\beta$  – 14,8; TNF $\alpha$  – 4,3; IFN $\gamma$  – 78,6 и IL-10 – 1,4.

Таким образом, предварительный анализ цитокинового профиля до и после лечения не позволяет с полной уверенностью говорить о наличии генерализованного воспаления у обследованных больных и требует дальнейших исследований. Курс лечения ЦМОГ больных с данной патологией стабилизирует цитокиновую сеть, снижая спонтанную продукцию цитокинов в культуре и повышая потенциальную возможность иммунокомпетентных клеток-продуцентов к синтезу и секреции регуляторных молекул.